

mius) and vegetative ganglia were successfully investigated by means of this immersion technique.

Three photomicrographs illustrate our results. Figure 1 shows some subneural apparatus from the intercostal muscle of the rat. Note characteristic lining of the subneural apparatus and the slight background reaction of muscle fibres. Figure 2 (high power) demonstrates the double-contoured arborisations of the apparatus; here and there also the palisade-like organisation of the 'organites' appear. Figure 3 illustrates three ganglionic cells from the ciliary ganglion of the hen. SZENTÁGOTHAJ *et al.*¹¹ demonstrated that the goblet-like synaptical structures of these ganglionic cells exhibit cholinesterase activity. Our method reveals a very strong reaction in these goblets, while cell bodies react only faintly.

Discussion. The native condition of the tissues seems to be indispensable for a histological demonstration of lead-reactive synaptical substances. It was found that neither fixed tissues, nor fresh frozen sections exhibited any reaction with lead salts. Destructive action of fixation and/or freezing on fine cytochemical structures had been observed also in our previous investigations concerning the microscopical localisation of potassium in nerve fibres¹².

With regard to the formalin and urea content of the lead-solution employed, it should be noted that these substances are not essential for the reaction. Formalin, however, renders possible a better histological localisation, in so far as thinner sections may be obtained. On the other hand, urea liberates buried -SH groups¹⁰ which seem to be necessary for a complete reaction. Employing a lead-solution without urea, the results are less satisfactory.

As demonstrated by the photomicrographs, morphological localisation of lead-reactive synaptical structures is identical with that of cholinesterase activity. The question may arise whether lead-reaction is not due to cholinesterase¹³. Although the lead nitrate solution employed contains no substrate to be hydrolysed by the enzyme, lead ions possibly combine with some part of the cholinesterase molecule, e.g. with the supposed -SH groups of this enzyme (NACHMANSOHN and LEDERER¹⁴). There are some observations, however, which oppose such an explanation. Cholinesterase activity is not affected by freezing, while lead-reaction is abolished by it. On the other hand, a pre-incubation in eserine (10^{-3} M, for 10 min) inhibits cholinesterase activity, while lead-reaction is not influenced by it. An isotonic solution of cadmium chloride, applied prior to the lead-reaction, abolishes it, while the cholinesterase activity remains unchanged. Finally, cholinesterase activity of motor endplates may be demonstrated histochemically by means of indoxylacetate or thiolacetic acid in sections previously treated with a lead solution. It does not seem plausible, therefore, that lead reaction should be due to cholinesterase, but rather to another compound having the same histochemical localisation. Further investigations on this subject are in progress.

GY. SÁVAY and B. CSILLIK

Department of Anatomy and Histology, Medical University, Szeged (Hungary), January 10, 1959.

Zusammenfassung

Durch vitale bzw. supravitale Behandlung mit $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ werden die subneuralen Apparate der quergestreiften Muskeln sowie die synaptischen Strukturen der vegetativen Ganglien dargestellt. Die Frage wird diskutiert, ob das bleireaktive Material mit den Sulfhydrylsubstanzen bzw. mit der Cholinesterase identisch sei.

Veränderungen der elektrischen Hirntätigkeit bei Katzen nach Röntgentotalbestrahlung¹

Signifikante EEG-Veränderungen wurden bisher erst nach massiven Strahlendosen (4000–6000 r) gefunden^{2–4}, die ohnehin histologische Dauerschäden verursachen. Bei schwächeren Dosen konnten jedoch keine sicheren EEG-Veränderungen beobachtet werden⁵. Demgegenüber wird berichtet, dass die Strahlenempfindlichkeit bedingter Reflexvorgänge – insbesondere in komplexeren Testsituationen – auch bei schwachen Strahlendosen nachweisbar sei⁶. Es wurde deshalb untersucht, ob Veränderungen der elektrischen Hirntätigkeit nach Bestrahlung mit schwächeren Dosen erkennbar sind, wenn empfindlichere elektrophysiologische Messmethoden angewandt werden.

Methodik. Bei 5 frei beweglichen Katzen wurde die elektrische Hirntätigkeit mittels konzentrischer, stereotaktisch implantierter, chronischer Elektroden kortikal (sensomotorische und parietale Rinde) und subkortikal abgeleitet (mesenceph. subst. reticularis; thalamus: nucl. ventr. ant. (VA), centr. med. (CM) und centr. lat. (CL); hippocampus und nucl. amygdalae). Zugleich wurden nachfolgende Reizantworten auf elektrische Reizung untersucht und deren Schwellen bestimmt: 1. «Arousal reaction»⁶ nach Reizung (150 Imp./sec, 1 msec) der mesencephalen subst. reticularis; 2. «Recruiting response»⁷ nach Reizung (7 Imp./sec, 1 msec) des diffusen thalamischen Projektionssystems (VA, CM, CL); 3. Rhinencephale elektrische Nachentladung nach Reizung (150 Imp./sec, 1 msec) des Hippocampus oder des Mandelkerns. Alle Messungen wurden in einem schalldichten Käfig vorgenommen, wobei das Verhalten der Tiere durch eine Glasscheibe beobachtet werden konnte. Die Ableitung der elektrischen Hirntätigkeit erfolgte mit einem 8-Kanal-Offner-Tintenschreiber.

Gereizt wurde mit einem Grass-Impulsgenerator. Jeder Bestrahlung ging eine Kontrollperiode von 4 bis 6 Wochen voraus. Die Bestrahlung erfolgte mit zwei Picker-Einheiten simultan von oben und unten. Fokusabstand: 60 cm; Spannung: 250 KV, 15 mA; Dosisleistung: 43 r/min; Filterung: 0,5 mm Cu parabolisch und 1 mm Al; HWS: 1,7 mm; Gesamtdosis: 400 r Ganzkörperbestrahlung. Die Messungen setzten unmittelbar nach der Bestrahlung ein und wurden am gleichen Tag über 9 Stunden und weiterhin täglich zweimal fortgesetzt.

¹ This article is based on work performed under Contract No. AT-(40-1)-GEN-12 between the Atomic Energy Commission and the University of California at Los Angeles.

² E. ELDRED and W. V. TROWBRIDGE, EEG Clin. Neurophysiol. 5, 259 (1953).

³ J. A. T. ROSS, S. R. LEAVITT, E. A. HOLST, and C. D. CLEMENTE, A.M.A. Arch. Neurol. and Psychiat. 71, 238 (1954).

⁴ J. C. HELGASON und R. S. SNIDER, Rad. Res. 3, 267 (1955).

⁵ M. I. NEMENOV, Vestn. Rentgenol. Radiol. 26, 43 (1944).

⁶ G. MORUZZI und H. W. MAGOUN, EEG Clin. Neurophysiol. 1, 455 (1949).

⁷ R. S. MORISON und E. W. DEMPSEY, Amer. J. Physiol. 135, 281 (1942).

¹¹ J. SZENTÁGOTHAJ, Á. DONHOFFER, and K. RAJKOVITS, Acta histochem. 1, 272 (1955).

¹² B. CSILLIK and GY. SÁVAY, Acta morph. Acad. Sci. hung. 8, 3 (1958).

¹³ GY. SÁVAY and B. CSILLIK, Nature 181, 1137 (1958).

¹⁴ D. NACHMANSOHN and E. LEDERER, C. R. Soc. Biol., Paris 130, 321 (1939).

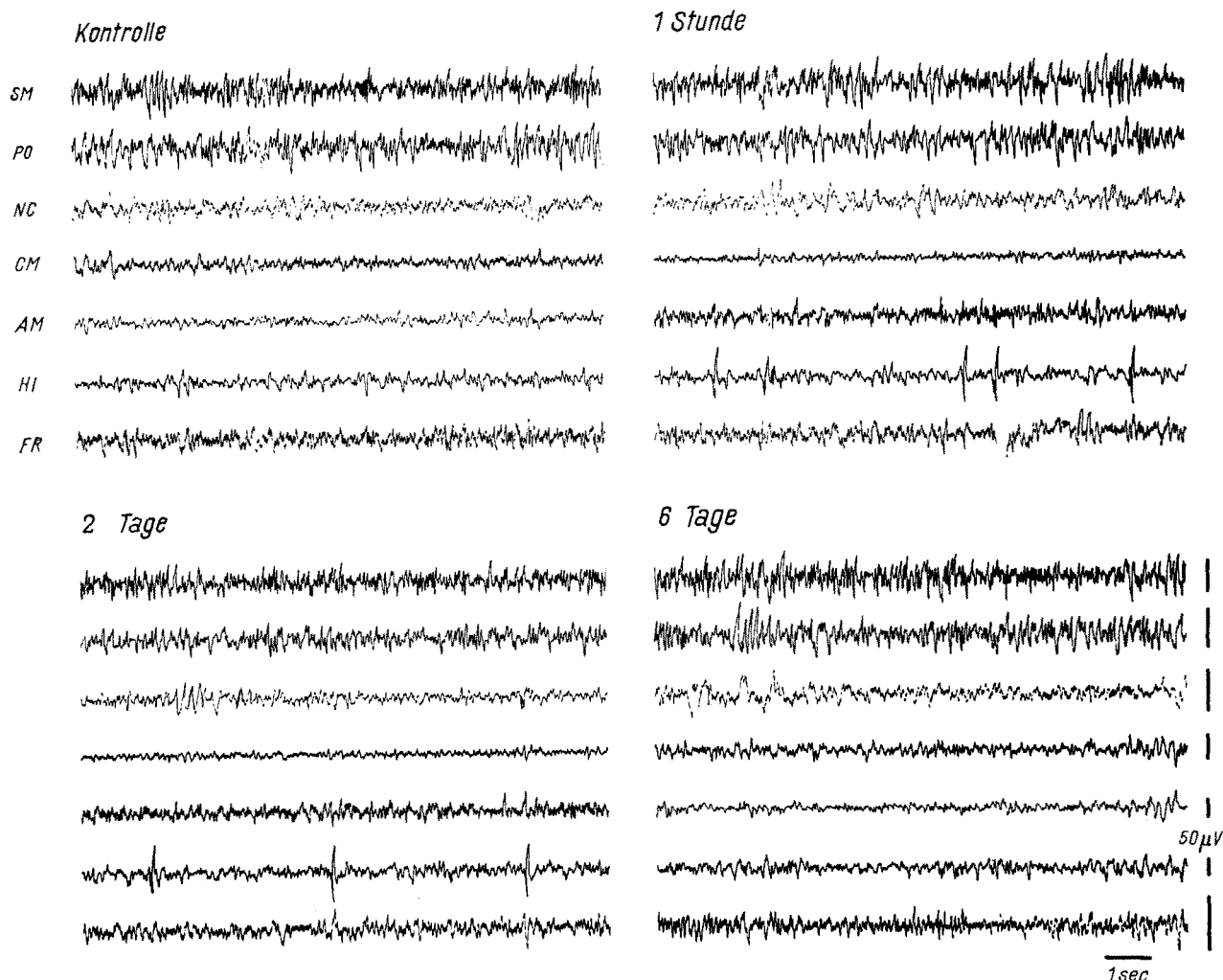


Abb. 1. Spontane EEG-Tätigkeit nach 400 r Ganzkörperbestrahlung. Lebhaftes Spitzenentladungen im Hippocampus (HI) und im Mandelkern (AM) 1 h nach der Bestrahlung, die 2 Tage später im Hippocampus noch deutlich erkennbar sind. Normalisierung nach 6 Tagen. SM = sensomot. Rinde, PO = parietale Rinde, NC = Nucl. caudatus, CM = Nucl. centr. med. thalami, AM = Nucl. amygdalae, HI = dors. Hippocampus, FR = mesenceph. subst. reticularis

Ergebnisse

1. *Spontane, elektrische Hirntätigkeit*: Sofort nach der Bestrahlung zeigen die Tiere zunehmend frequente Spitzenentladungen im Hippocampus und im Nucleus amygdalae, die im Cortex nicht sichtbar sind (Abb. 1). Die Entladungsfrequenz dieser rhinencephalen Spitzen nimmt innerhalb der ersten zwei Stunden rasch zu, erreicht ein Maximum zwischen 3 und 7 h und nimmt nach 8 bis 9 h wieder rapid ab. Nach 3 Tagen ist dieser Effekt meistens völlig erloschen. Innerhalb der ersten 4 h ist ferner eine vorübergehende Zunahme der Wachrhythmen (low voltage fast waves) im EEG zu beobachten. Ansonsten zeigt das spontane EEG selbst nach Tagen und prä mortal keinerlei signifikante, pathologische Veränderungen.

2. *Wechselwelle nach Reizung der Subst. reticularis*: Unmittelbar nach der Bestrahlung sinken die retikulären Wechselwellen rasch ab. Nach etwa 4 h kehren sie zur Ausgangslage zurück (Abb. 2). Während dieser ersten Stunden zeichnet sich das Tier durch gesteigerte Wachheit und durch das Vorherrschen von Wachrhythmen im spontanen EEG aus (s. o.). Während der nachfolgenden 2 bis 3 Tage entsprechen die Wechselwellen wie auch das Allgemeinverhalten der Tiere wieder etwa der Norm. Der Appetit ist noch ungestört und neurologische Ausfälle sind nicht erkennbar. Erst nach 4 bis 6 Tagen stellen sich Antriebsverarmung, Anorexie und ataktische Störungen ein.

Alle Tiere gehen nach 5 bis 10 Tagen zugrunde. Nur selten wird jedoch ein Anstieg der Wechselwellen beobachtet.

3. *«Recruiting response» nach Thalamusreizung (VA, CM, CL)*: Sicher verwertbare Veränderungen treten unmittelbar nach der Bestrahlung nicht auf. Allenfalls ist ein geringer Anstieg der Schwellenwerte am Ende des ersten Tages bemerkbar. Nach 2 bis 4 Tagen steigen jedoch alle Thalamusschwellen für Rekrutierung signifikant um 2–4 Volt an.

4. *Die Hippocampus-Nachentladung*: Signifikante Schwellenwertveränderungen haben sich bislang nicht nachweisen lassen.

Besprechung: Bei Ganzkörperbestrahlung mit relativ schwachen Röntgendosen treten eindeutige Veränderungen der elektrischen Hirntätigkeit vorwiegend subkortikal auf, die sich im spontanen kortikalen EEG nicht widerspiegeln. Wir unterscheiden: 1. Rückbildungsfähige, vorübergehende Frühveränderungen (rhinencephale Spitzenentladungen, Absinken der retikulären Wechselwelle), die dann auftreten, wenn das Allgemeinbefinden noch nicht gestört ist. Die Rückbildungsfähigkeit dieser Veränderungen lässt vermuten, dass es sich um funktionelle Vorgänge handelt, die möglicherweise mit vorübergehenden Veränderungen im Chemismus der betroffenen Hirnstrukturen verknüpft sind. Über die Natur dieser Prozesse lässt sich heute noch nichts Sicheres sagen. – 2. Spätveränderungen (Anstieg

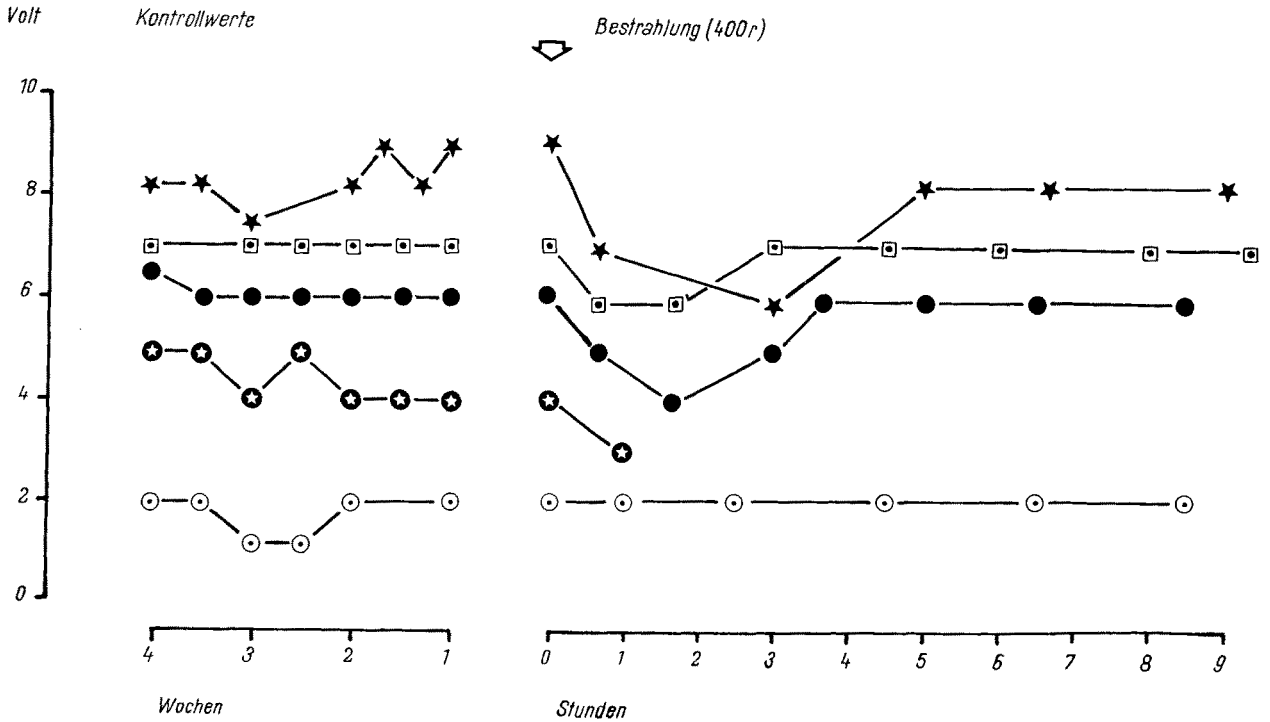


Abb. 2. Vorübergehendes Absinken der retikulären Weckschwellen unmittelbar nach 400 r Ganzkörperbestrahlung. Nur eine der 5 Katzen zeigt keinerlei Veränderung der Schwellenwerte. Man beachte jedoch die schon primär niedrigen Kontrollschwellenwerte (1 und 2 Volt) bei diesem Tier.

der Thalamusschwelle für Rekrutierung, gelegentlicher Anstieg der retikulären Weckschwelle), die zeitlich teilweise mit Störungen des Allgemeinbefindens, des Appetits, des Antriebs und der Koordination zusammenfallen und Folge einer organischen Gewebsschädigung sein könnten. Die diesbezüglichen, histologischen Ergebnisse sollen gesondert mitgeteilt werden. – Inwieweit die beschriebenen Veränderungen peripher ausgelöst oder direkt zentrale Vorgänge sind, werden weitere Untersuchungen klären. Zur Zeit sind Untersuchungen mit noch schwächeren Dosen im Gang.

H. GANGLOFF und T. J. HALEY

Abteilung für Anatomie und Abteilung für nukleare Medizin der Universität Kalifornien, Los Angeles, 20. April 1959.

Summary

In cats with chronically implanted electrodes, hippocampus and amygdala consistently showed spike discharges immediately after relatively low doses of total body x-irradiation (400 r) and reticular arousal thresholds were transiently decreased. Thalamic recruiting thresholds increased later, while hippocampal seizure thresholds remained practically unaltered. Experiments with lower doses are in progress.

Optically Aimed Ear Movements in the Rabbit

It is well known that rabbits have mobile auricles. Early investigators laid emphasis on the reflex-like character of the observed movements. HÖGYES¹ described the 'Preyer-reflex' for the rabbit, a stereotype ear movement

caused by tones of high frequency. HORSLEY² described such a movement, evoked by mechanical stimulation (pressure on infra-orbital region). Several authors (MANGOLD³) pointed to another type of ear movement, a directioning of the auricle to the sound-source. Such directed ear movements are encountered frequently when observing rabbits. They may even appear when an object that probably has no acoustical value for the rabbit, is passing through its visual field.

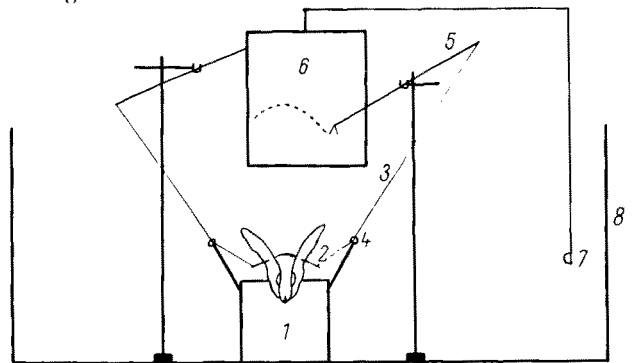


Fig. 1. – Experimental Set

1 fixed rabbit; 2 piece of straw attached to auricle; 3 thread that connects straw with recorder; 4 ring through which thread is conducted; 5 recorder; 6 kymograph-drum; 7 light-source; 8 enclosing black wall

This observation led to a series of experiments in which the possibility of an optical causation of the ear movements was examined. In a darkened room, a 2 V, 0.05 A light-source circled at constant speed around a fixed rabbit⁴. Ear movements were recorded on a kymograph

² V. HORSLEY, Brain 28, 65 (1905).

³ E. MANGOLD, Wintersteins Handbuch der vergleichenden Physiologie (Jena 1913).

⁴ Three rabbits were each individually subjected to as many experiments.

¹ A. HÖGYES, Zbl Nervenheilk. 9, 268 (1886).