

meets the requirements of using normal rats with presumably a physiological pituitary FSH-content as test animals, and, for the measurement of FSH, of using a recognized and highly specific method.

Known amounts of crude hypothalamic extracts (pooled or individual) or of purified hypothalamic fractions are injected into the exposed carotid artery of normal, sexually mature male rats (body weight 180 ± 10 g) anaesthetized with pentobarbital (2.5 mg/100 g body weight). Control animals are injected with comparable amounts of cerebral cortex extracts. Female animals are as suitable as males as recipients of the hypothalamus; male rats are however preferred in order to avoid cyclic variations of pituitary FSH stores; in addition they have much higher pituitary concentrations of FSH than female animals⁶. The intracarotid (i.c.) mode of administration is used because previous work in this laboratory on ACTH^{7,8} and GH⁹ releasing factors had shown that, when compared to the intravenous mode of administration, it permits the use of much smaller quantities of releasing principles. The animals receiving hypothalamic or cerebral cortex preparations are decapitated with a guillotine 20 min after treatment. The pituitary is taken out, cleaned and homogenized in cold saline solution. The FSH content of the pituitary homogenates so obtained is measured by using the ovarian augmentation test of STEELMAN and

POHLEY¹⁰ as modified by PARLOW¹¹, with a 4 point design (4 animals per dose) and a purified FSH preparation (NIH) as reference standard.

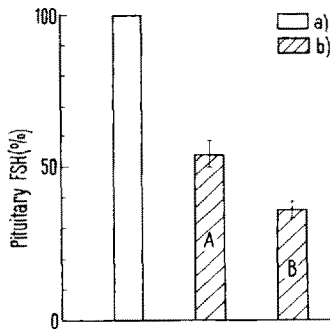
The i.c. injection of cerebral cortex preparations does not modify pituitary FSH stores; the content in FSH of the pituitaries of animals injected with cerebral cortex extracts may then be taken as the control level.

Significant depletions of pituitary FSH stores are induced by the i.c. injection of hypothalamic extracts containing FSH-RF. The depletion of pituitary FSH stores induced by hypothalamic extracts is strictly related to the dose of the FSH-RF activity which has been administered. An example of the results which are obtained with this method is given in the Figure. It is clear that a significant depletion of FSH is obtained with an i.c. injection of half a hypothalamus; a greater reduction is obtained when 3/4 of a hypothalamus is injected. This method is more sensitive than the one proposed by IGARASHI and McCANN² in which the injection of 2 hypothalami is needed to induce a clear-cut response.

Résumé. L'injection intracarotidienne d'extraits hypothalamiques est suivie chez le rat d'une chute significative des taux de FSH à niveau hypophysaire. Ce phénomène se vérifie déjà 20 min après l'injection et est proportionnel à la dose d'hypothalamus injecté.

M. A. DAVID, F. FRASCHINI,
and L. MARTINI

*Istituto di Farmacologia e di Terapia,
Università degli Studi, Milano (Italy), March 19, 1965.*



- a) Animals injected with cerebral cortex extracts.
b) Animals injected with 0.5 (A) and 0.75 (B) of a hypothalamus obtained from castrated male rats.

⁶ M. J. HOOGSTRA and F. J. A. PAESI, *Acta endocr. Copenh.* 24, 353 (1957).

⁷ S. CASENTINI, A. DE POLI, S. HUKOVIC, and L. MARTINI, *Endocrinology* 64, 483 (1959).

⁸ S. GAVAZZI, G. MANGILI, L. MARTINI, and M. MOTTA, *Major Problems in Neuroendocrinology* (E. BAJUSZ and G. JASMIN, Ed.; 1964), p. 196.

⁹ A. PECILE, E. MÜLLER, G. FALCONI, and L. MARTINI, *Program of the 46th Meeting of the Endocrine Society* (1964), p. 132.

¹⁰ S. L. STEELMAN and F. M. POHLEY, *Endocrinology* 53, 604 (1953).

¹¹ A. F. PARLOW and L. E. REICHERT, *Endocrinology* 73, 740 (1963).

Spezielle Überlebensbedingungen für isolierte Netzhäute verschiedener Warmblüter

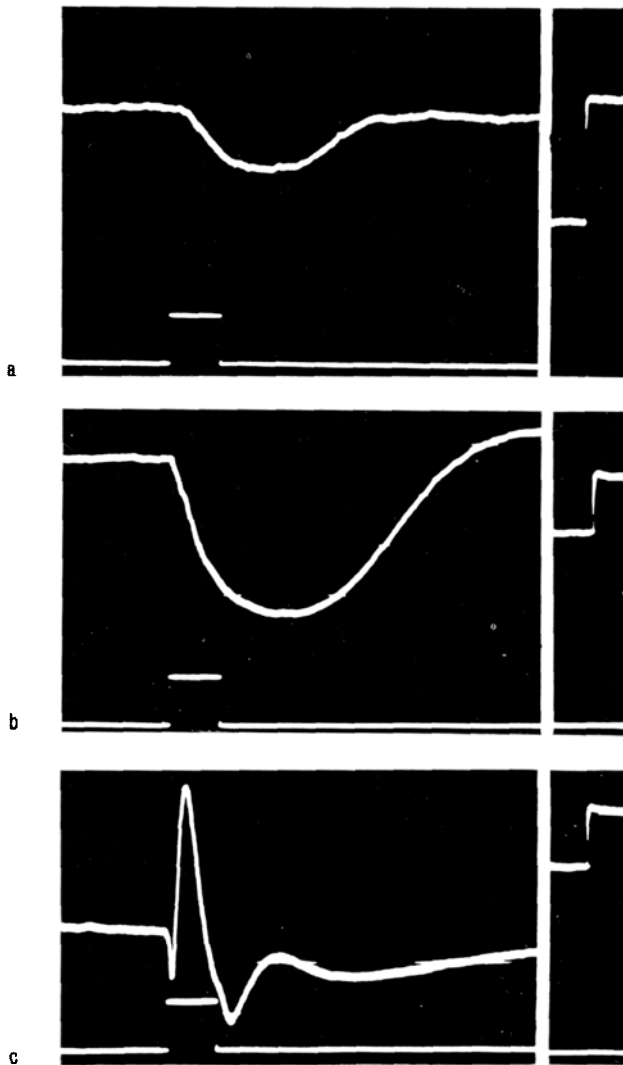
Um eine isolierte menschliche Netzhaut überlebend zu halten und von diesem Präparat ein normales Elektroretinogramm (ERG) wie in situ bei Gleichspannungsverstärkung¹ abzuleiten, müssen mehrere Bedingungen eingehalten werden². Dem mit grosser Geschwindigkeit an der Netzhaut vorbeiströmenden Gemisch aus Plasma und modifizierter Tyrode-Lösung kommt für die normale Konfiguration und die Stabilität des ERG eine besondere Bedeutung zu. Da die Blutgruppeneigenschaften des Plasma unberücksichtigt bleiben können³, erhebt sich die Frage, ob der im Plasma enthaltene wirksame Faktor überhaupt artspezifisch ist. So kann das ERG isolierter Froschnetzhaute auf das Doppelte vergrössert werden, wenn der Umströmungsflüssigkeit Schweineplasma zugesetzt wird.

Wird eine isolierte Kaninchennetzhaut in entsprechender Weise wie die menschliche Netzhaut präpariert und in der gleichen Apparatur bei Raumtemperatur (ca. 20°C) mit modifizierter Tyrode-Lösung umströmt, so antwortet sie auf Lichtreize mit einem abnormen ERG: Belichtung verursacht eine negative Potentialschwankung, die der Komponente P III von *Granit* entspricht (Figur a). Durch Zusatz von menschlichem Plasma wird diese Komponente

¹ RENATE HANITZSCH, K. HOMMER und H. BORNSCHNEIN, *Vision Res.*, im Druck.

² W. SICKEL, H. G. LIPPMANN, W. HASCHKE und CH. BAUMANN, *Dt. Ophthal. Ges.* 63, 316 (1961); RENATE HANITZSCH und A. L. BYSOV, *Vision Res.* 3, 207 (1963).

³ RENATE HANITZSCH und P. DETTMAR, II. Congr. Soc. Ophthal. Europ. Vienna (1964).



ERG der isolierten umströmten Kaninchennetzhaut. Umströmung mit a, modifizierter Tyrode-Lösung (20°C), b, Plasma-Lösungsgemisch (20°C), c, wie b, aber bei 30°C. Reizintensität 0,2 lx, Reizdauer 1 sec. Eichung (rechts): 130 μ V.

stark vergrößert und erreicht eine hohe Stabilität (Figur b). Die für ein normales ERG charakteristische positive b-Welle ist dagegen erst dann voll ausgebildet, wenn Präparat und Plasma-Tyrodelösung auf 30°C gehalten werden (Figur c). Wurde die Umströmung bei 30°C ohne Plasma-Zusatz durchgeführt (ähnlich der Methode von AMES und GURIAN⁴), so konnte nur in einzelnen Fällen mit hohen Reizintensitäten eine kleine und überdies instabile b-Welle registriert werden, ebenso bei 20°C und Plasmazusatz. Aus der erfolgreichen Verwendung art-unspezifischen Plasmas ergibt sich die praktische Konsequenz, stabile ERG auch von isolierten Netzhäuten kleiner Warmblüter zu erhalten, deren Plasmavolumen sehr gering ist.

Durch Variation der Milieubedingungen können verschiedene Komponenten des ERG getrennt untersucht werden. So ist von der isolierten, mit Plasma-Tyrodelösung umströmten Kaninchenretina bei Raumtemperatur eine stabile negative Komponente abzuleiten, während bei Thermostasierung auf 30°C die positiven ERG-Komponenten vorherrschen. Andererseits muss mit differentem Verhalten der einzelnen Warmblüternetzhäute gerechnet werden, da das ERG der menschlichen Netzhaut unter gleichen Umströmungsbedingungen schon bei Raumtemperatur eine positive b-Welle aufweist⁵.

Summary. The isolated perfused retina of the rabbit produces a normal electroretinogram only if the perfusion fluid contains blood plasma and is kept at 30°C. At a temperature of 20°C, the electroretinogram consists mainly of a negative component (P III) which is greatly diminished in absence of plasma in the perfusion fluid.

RENATE HANITZSCH und H. BORNSCHEIN

Physiologische Institute der Karl-Marx-Universität Leipzig (Deutschland) und der Universität Wien (Österreich), 24. Mai 1965.

⁴ A. AMES III und B. S. GURIAN, Arch. Ophthalm. 70, 837 (1963).

⁵ Mit Unterstützung des Österreichischen Forschungsrates.

STUDIORUM PROGRESSUS

In vitro and in vivo Interaction of Nuclear Antibodies with Corresponding Antigens¹

One of the interesting problems in the study of diseases characterized by the presence of circulating auto-antibodies is concerned with the direct demonstration of antibody and its effects in the diseased or target tissues²⁻⁶. If successful, this approach might aid in the search for knowledge of the role of these antibodies in autoimmune disease.

In the course of efforts to characterize tissues of patients with systemic *Lupus erythematosus* (SLE) by direct immunofluorescent staining methods^{7,8} for tissue-fixed

γ -globulin, we observed that freshly prepared smears of buccal mucosal cells of such patients exhibited no specific nuclear reaction; nor did sections of needle biopsy of liver which had been immediately frozen⁴. In contrast, it was found that films of leucocytes from the same cases gave definite nuclear staining. The leucocyte films were prepared from the buffy coat of oxalated venous blood – a procedure requiring a minimum time interval of approximately 15 min from withdrawal of blood to finished (dried) preparations. The obvious disadvantage of the latter procedure was that the leucocyte preparations could be tested only after in vitro exposure of the cells to plasma proteins and oxalates.