

determined by electrometric titration. In the Figure the intracellular pH is plotted versus the extracellular pH at 3 levels of rectal temperature. The following regression equations were obtained:  $pH_i = 0.777 pH_e + 1.395$ ,  $r = 0.65$  at  $27.1^\circ\text{C}$  (39 determinations in 8 dogs);  $pH_i = 0.954 pH_e - 0.045$ ,  $r = 0.81$  at  $36.9^\circ\text{C}$  (34 deter-

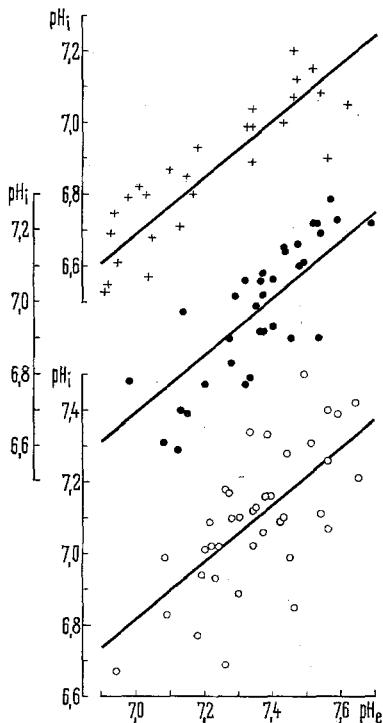
minations in 7 dogs) and  $pH_i = 0.728 pH_e + 1.61$ ,  $r = 0.87$  at  $41.6^\circ\text{C}$  (27 determinations in 7 dogs).

Since the differences between the regression coefficients were not significant, the mean slope of 0.804 obtained by a regression analysis was used for the 3 regression lines in the Figure. At  $pH_e = 7.40$  the mean  $pH_i$  read from the Figure is 7.14 at  $27.1^\circ\text{C}$  and 7.01 at  $36.9$  and  $41.6^\circ\text{C}$ . The standard deviation around the regression line is  $\pm 0.124$ . The results at normal body temperature compare well with other data reported in dogs<sup>1,3</sup> and with compiled data on  $pH_i$  of isolated rat diaphragm<sup>4</sup>. Since the regression coefficient of  $pH_i$  on  $pH_e$  is an estimate of the buffering capacity<sup>4</sup>, our results indicate that the body temperature though affecting the  $pH_i$  with respect to  $pH_e$ , does not, however, alter the buffer capacity of the intracellular space. These results bear some importance for the adjustment of the acid-base status in patients with abnormal body temperature.

**Zusammenfassung.** Zwischen dem extrazellulären pH und dem pH des gesamten Intrazellulärraumes besteht eine annähernd lineare Beziehung. Senkung der Körpertemperatur führt zu einer Erhöhung des  $pH_i$ , hat aber keinen Einfluss auf den Regressionskoeffizienten und damit auf die intrazelluläre Pufferkapazität.

C. ALBERS, W. USINGER  
and P. SPAICH

Universität Regensburg, Fachbereich Biologie, und  
William G. Kerckhoff-Herzforschungsinstitut  
der Max-Planck-Gesellschaft,  
D-635 Bad Nauheim (Germany), 16 July 1969.



Whole-body intracellular pH ( $pH_i$ ) in relation to extracellular pH ( $pH_e$ ) at a mean rectal temperature of  $27.1^\circ\text{C}$  (open circles),  $36.9^\circ\text{C}$  (closed circles) and  $41.6^\circ\text{C}$  (crosses).

<sup>3</sup> E. D. ROBIN, in *The Regulation of Human Respiration* (Ed. D. J. C. CUNNINGHAM and B. B. LLOYD; Blackwell, Oxford 1963), p. 223.

<sup>4</sup> W. C. WADDELL and R. G. BATES, Physiol. Rev. 49, 285 (1969).

## Nachweis einer nichtlinearen Komponente im globalen ERG der Katze bei Zuwachsreizen

Es ist eine wohlbekannte Tatsache, dass das Elektroretinogramm (ERG) nichtlineare Komponenten enthält: Bei rein linearem Verhalten wäre zu erwarten, dass die elektrischen Antworten auf Erhöhung beziehungsweise Erniedrigung der retinalen Belichtung zwar ähnlichen Verlauf zeigen müssten, jedoch entgegengesetzte Polarität. Dies ist aber höchstens bei schwachen Reizintensitäten der Fall, wie POPPELE und MAFFEI<sup>1</sup> bei der Katze mit sinusförmiger Reizung sowie BRINDLEY und WESTHEIMER<sup>2</sup> beim Pavian mit stufenförmigen Reizen feststellen konnten. RODIECK und FORD<sup>3</sup> haben kürzlich bei der Katze das Auftreten nichtlinearer Komponenten unter verschiedenen starker Helladaptation der Versuchstiere näher untersucht, wobei sie statt des gewöhnlichen ERG das «lokale» ERG (LERG) registrierten, bei dem sich die aktive Elektrode entsprechend der von BROWN und WIESSEL<sup>4</sup> entwickelten Methode knapp vor der vitrealen Seite der R-Membran der Retina<sup>5</sup> befand, während die Bezugselektrode im Glaskörper lag. Mit hohen Adaptationsintensitäten, bei denen eine Sättigung des Stäbchenmechanismus angenommen wurde, kam es zu den stärksten Abweichungen von der Linearität, wobei das

Ein- und Ausschalten eines Zuwachsreizes  $AI$  (incremental stimulus) Potentialschwankungen gleicher Polarität erzeugte. Bei mittleren Adaptationsintensitäten ergaben sich Antworten auf Zuwachsreize, die lineare und nichtlineare Komponenten erkennen ließen, bis endlich bei schwacher Grundintensität der Zuwachsreiz eine einfache monophasische Potentialänderung für seine gesamte Dauer verursachte. Die vorliegende kurze Mitteilung beschäftigt sich mit der prinzipiellen Frage, ob die von RODIECK und FORD<sup>3</sup> mittels LERG nachgewiesene nichtlineare Komponente unter analogen Reizbedingungen auch im «globalen» ERG (ERG bei klassischer Ableitung) nachgewiesen werden kann.

<sup>1</sup> R. E. POPPELE und L. MAFFEI, J. Neurophysiol. 30, 982 (1967); L. MAFFEI und R. E. POPPELE, J. Neurophysiol. 30, 993 (1967).

<sup>2</sup> G. S. BRINDLEY und G. WESTHEIMER, J. Physiol. 196, 78P (1968).

<sup>3</sup> R. W. RODIECK und R. W. FORD, Vision Res. 9, 1 (1969).

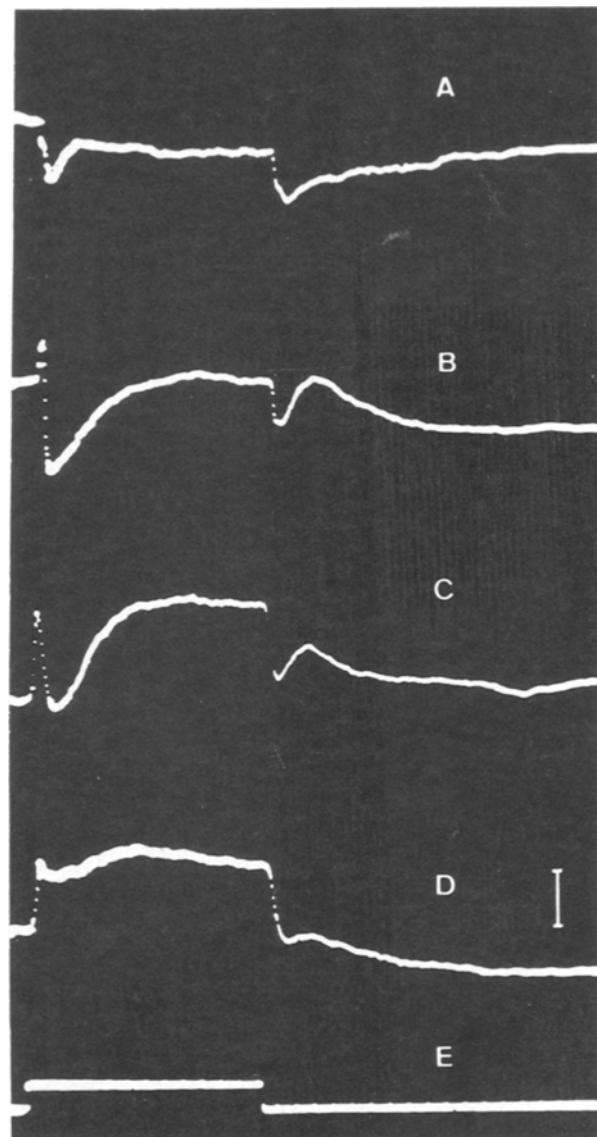
<sup>4</sup> K. T. BROWN und T. N. WIESSEL, J. Physiol. 158, 229 (1961).

<sup>5</sup> G. S. BRINDLEY, J. Physiol. 134, 339 (1956).

Bei 6 Katzen in Äthermarkose, die mittels Flaxedil immobilisiert und künstlich beatmet waren, wurde ein chlorierter Ag-Draht ( $0,1 \text{ mm } \varnothing$ ) ohne Eröffnung der Vorderkammer so durch die Cornea gezogen, dass ein dauernder guter Kontakt gewährleistet war. Bezugselektrode war eine retrobulbär eingestochene Stahlnadel. Die Iris war durch Instillation von Atropin und Neo-Synephrine in maximaler Mydriasis fixiert (Pupillen- $\varnothing$  11–12 mm). Die abgeleiteten Potentiale wurden DC-verstärkt, wobei in Anbetracht des Ruhe- beziehungsweise Elektrodenpotentials ein Verstärker mit besonders grosser Kompensationsmöglichkeit benutzt werden musste (Tektronix Einschub 3A9 im Oszilloskop 565). Da die abgeleiteten Potentiale infolge mehr oder minder starker Helladaptation des Auges relativ niedrig waren, wurden sie mit einer elektronischen Datenverarbeitungsanlage (CAT 1000) summiert. Die Lichtreizeinrichtung bestand im wesentlichen aus einem Pendel, über welches weisses Licht von abstuferbarer Intensität (Xenonhochdrucklampe Philips CSX 150 mit Optik und abstufbaren Neutralfiltern) auf einen 10 cm vor dem Auge befindlichen Diffusor fiel, wo es einen kreisrunden Leuchtfleck von  $23^\circ \varnothing$  erzeugte. Durch Auslösen des Pendels wurde ein Filter aus dem Strahlengang gezogen, wodurch sich die auf das Auge fallende Lichtintensität um 60% erhöhte ( $\Delta I = 0,6 \text{ I}$ ). Nach einer Periode wurde das Pendel wieder arretiert. Kurz nach Beginn der Pendelbewegung wurde durch Vorbeigleiten eines Magneten an einer Induktionsspule ein Triggerimpuls erzeugt, welcher eine synchronisierte Summation der Reize und der Reizantworten ermöglichte. Es wurden unter jeder Bedingung je 50 Reize dargeboten und summiert. Die Intensität I wurde als retinale Beleuchtungsstärke (in  $\text{lm/mm}^2$ ) ausgedrückt, wobei die Reizezeichnung am Schluss jedes Versuches so erfolgte, dass die effektive Beleuchtungsstärke in einem Skleralfenster mit Hilfe eines SEI-Photometers gemessen wurde. Die Grundintensitäten lagen in der Größenordnung von  $I = 10^{-8}$  bis  $10^{-4} \text{ lm/mm}^2$  und damit im gleichen Bereich wie die von RODIECK und FORD<sup>3</sup> verwendeten Lichter. Der Vorteil des Pendels liegt in der hohen Konstanz der Perioden und damit in einer strengen Reproduzierbarkeit der Reizdauer, die in allen Versuchen 1,75 sec betrug.

Die in der Figur dargestellten Ergebnisse waren bei allen Versuchstieren weitgehend identisch und entsprachen den Erwartungen, die man aus den Untersuchungen von RODIECK und FORD<sup>3</sup> hatte ziehen können. Dies gilt vor allem für die extrem nichtlineare Antwort bei photopischer Grundintensität. Wenn man die Kurve A der vorliegenden Untersuchung mit der Figur 1A der Arbeit von RODIECK und FORD vergleicht, so sieht man, dass in beiden Fällen der Beginn und das Ende des Zuwachsreizes  $\Delta I$  je eine kurzdauernde Schwankung erzeugt, welche gleiche Polarität aufweisen. Die Tatsache, dass die Polaritäten in den beiden Untersuchungen verkehrt erscheinen, ist den Erwartungen entsprechend darauf zurückzuführen, dass RODIECK und FORD die Positivität ihrer differenten, knapp vitreal vor der R-Membran liegenden Elektrode durch eine Schwankung nach oben anzeigen, wodurch sich ein LERG ergibt, dessen Polarität im allgemeinen jener des üblichen globalen ERG (wie es in der vorliegenden Untersuchung registriert wurde) entgegengesetzt ist<sup>4</sup>. Diese rein methodisch bedingte Umkehr der Polarität gilt auch für die lineare DC-Antwort bei schwacher Grundintensität, wie sie in der Kurve D der vorliegenden Untersuchung dominiert und in Figur 1E von RODIECK und FORD offenbar rein vorliegt. Die grössten Abweichungen ergeben sich beim Vergleich der Kurven C der beiden Figuren hinsichtlich Komponenten von *scheinbar* gleicher Polarität. Das

*rezeptorenwärts* positive langsame Potential des LERG entspricht dem sogenannten späten Rezeptorpotential, das langsame Potential der eigenen Kurven C ist *corneapositiv* und dürfte mit der c-Welle identisch sein. Die Unterschiede zwischen dem Verhalten des LERG und des globalen ERG bei Zuwachsreizen sind daher möglicherweise durch die c-Welle verursacht, deren unterschiedliche Ausprägung auch für die Differenz zwischen den ERG in der Figur 11 von RODIECK und FORD<sup>3</sup> und den eigenen ERG bestimmt sein könnten. Diese Vermutung wird durch pharmakologische Ausschaltung der c-Welle zu prüfen sein.



Aus je 50 Einzelantworten summierte ERG der Katze auf Zuwachsreize:  $\Delta I = 0,6 \text{ I}$ . Grundintensitäten (I): A)  $5,6 \cdot 10^{-4} \text{ lm/mm}^2$ ; B)  $1,5 \cdot 10^{-5} \text{ lm/mm}^2$ ; C)  $9,0 \cdot 10^{-7} \text{ lm/mm}^2$ ; D)  $2,2 \cdot 10^{-8} \text{ lm/mm}^2$ ; E) Lichtreizmarkierung (Dauer des Reizes 1,75 sec). Die Marke über dem rechten Teil der Kurve D ist die Spannungseichung und entspricht für alle durchschnittlichen Einzelaufnahmen (A–D)  $20 \mu\text{V}$ . Schwankungen nach oben: Kornealelektrode positiv. DC-Verstärkung.

Das Vorhandensein einer nichtlinearen Komponente in dem durch Zuwachsreize ausgelösten ERG, die offensichtlich nur unter photopischen Bedingungen demaskiert erscheint, ist für die weitere Interpretation des ERG, dessen Zustandekommen noch keineswegs als völlig geklärt betrachtet werden darf, von grossem Interesse. In laufenden Untersuchungen wird daher die Grösse und Steilheit des Zuwachsreizes und das Verhalten bei relativen Lichtlücken («decremental stimuli») näher untersucht, worüber nach Abschluss dieser Studien ausführlich berichtet werden wird. Bei dieser Gelegenheit soll auch versucht werden, die Ursachen gewisser Diskrepanzen zwischen der Arbeit von RODIECK und FORD<sup>3</sup> und den beim Pavian durchgeführten Untersuchungen von BRINDLEY und WESTHEIMER<sup>2</sup> zu finden<sup>6</sup>.

**Summary.** Nonlinear responses may be produced by incremental stimuli in the 'global' electroretinogram of strongly light-adapted cat.

H. BORNSCHEIN, J. HOYER  
und A. THALER

*Institut für allgemeine und vergleichende Physiologie  
der Universität Wien IX (Österreich), 7. Juli 1969.*

<sup>6</sup> Herrn P. HEILIG sei für tatkräftige Hilfe an dieser Stelle der Dank der Verfasser abgestattet. Die benützte Datenverarbeitungsanlage wurde vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung zur Verfügung gestellt.

## Passage of Pituitary Hormones Through the Nephrotic Rat Kidney and Its Possible Biological Significance

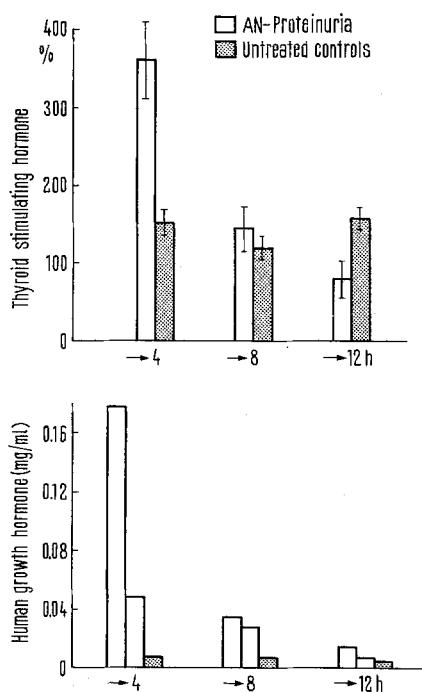
Puzzling endocrine disorders are frequently observed in a variety of diseases accompanied by hypoproteinemia. Several hypotheses have been put forward in an attempt to explain the many facets of this association, but none of them seems to be acceptable. We have recently reviewed the issue in order to provide a basis for discussing a new hypothesis<sup>1</sup>: it implies the loss of high molecular weight pituitary hormones along with the small hormone molecules of 'peripheral' glands in all those cases where the hypoproteinemia is caused by loss of serum proteins in the urine or into the intestinal lumen.

It was decided to tackle the problem experimentally by studying the passage of the high molecular weight pituitary hormone Thyrotrophin from the blood into the urine of rats rendered nephrotic according to 2 different procedures.

In a first experiment 6 rats were injected with Aminonucleoside (Puromycin, Nutr. Bioch. Corp.) according to a procedure described by FIEGELSON<sup>2</sup>. With the appearance of the proteinuria (approximately 25 mg proteins/ml) the animals were given 1 U of bovine thyroid stimulating hormone (TSH) (Thyropar, Armour) per 100 g body weight. After the hormone injection the animals were kept in a plastic container specially constructed to drain the urine into an ice-cooled flask. For TSH assays the urines of all rats collected 4, 8 and 12 h after TSH injection were pooled and 8–12 aliquots were assayed from each pool.

The TSH content was measured according to MCKENZIE's method<sup>3</sup> which takes advantage of the TSH-dose dependent secretion of radioactivity from prelabelled, thyroxine blocked mice thyroids. With this procedure the serum radioactivity before TSH injection is set as 100%. Any increase above 140% was considered to indicate the presence of significant amounts of TSH. A value of 350% corresponds in our hands to 0.5–1.0 mU TSH<sup>4</sup>.

The results are given in the Figure. TSH is clearly demonstrable in the urine samples from nephrotic rats voided within 4 h after injection while no hormone was present at later intervals. In the urine of rats without nephrosis there was also no evidence for the presence of significant amounts of TSH. A control experiment was carried out using human growth hormone (HGH) instead of TSH (Figure, below). Although only 4 rats survived the i.v. HGH injection, the hormone excretion in the urine was certainly similar to that of TSH. HGH was measured by the hemagglutination inhibition method of GELLER and LOH<sup>5</sup>.



Above: Thyroid stimulating hormone content in the urine collected during the time period indicated on the abscissa in nephrotic (aminonucleoside-proteinuria) and untreated controls. TSH was injected i.v. at 0 time.

Below: Human growth hormone (NIH, HS 455 A) excretion in the urine of the same animals as used for the TSH assays after the i.v. injection of 1.5 mg/100 g body weight. Each white bar indicates the value obtained with the pooled urine of 2 rats.

<sup>1</sup> H. STUDER, H. W. IFF, F. WYSS and R. GUBLER, Schweiz. med. Wschr. 98, 180 (1968).

<sup>2</sup> E. B. FIEGELSON, I. W. DRAKE and L. RECANT, J. Lab. clin. Med. 50, 437 (1957).

<sup>3</sup> J. M. MCKENZIE, Endocrinology 63, 372 (1958).

<sup>4</sup> H. W. IFF, A. BURGER, H. STUDER and F. WYSS, Am. J. Physiol. 213, 250 (1967).

<sup>5</sup> J. GELLER and A. LOH, J. clin. Endocrin. 23, 1107 (1963).