

Summary

After injection of a high dose of 5-hydroxytryptamine into rats, the blood reveals a strong increase of the blood platelets and a definite decrease of the eosinophiles. The maxima of increase and decrease are in temporal accordance:

Does Thyro-Parathyroidectomy Abolish the Antiphlogistic Actions of Cortisone?

Extensive animal experiments, reported in this Journal a short time ago¹, led to the conclusion that the antiphlogistic effects of cortisone are abolished by thyro-parathyroidectomy. Such a complete dependence of antiphlogistic corticoid actions upon the thyroid apparatus would require a radical reorientation of our views on the role played by hormones in inflammatory disease. We had learned that the nephrosclerotic effect of desoxycorticosterone is abolished after hypophysectomy² or thyro-parathyroidectomy³ while it is aggravated by thyroxin⁴; yet we considered the actions of antiphlogistic corticoids upon inflammation to be more direct and neither relayed through other glands, nor strictly dependent upon "conditioning" by hypophyseal and thyroid hormones⁴. The present communication deals with experiments designed to verify this point, using three procedures for the objective assessment of inflammation: the "granuloma pouch", and the "topical irritation arthritis" technique, performed with formalin and with dextran.

Methods. Forty female Sprague-Dawley rats were subdivided into 4 groups of 10 animals—each with an initial mean body-weight of 130 g (range: 125–137 g)—as indicated in the Table. Thyro-parathyroidectomies were performed in Groups III and IV, under ether anesthesia, on the first day of the experiment. At the same time treatment with cortisone was initiated in Groups II and IV. This hormone was given in the form of microcrystals of its acetate, at the daily dose of 5 mg, in 0.2 ml aqueous suspending agent ("Cortone", Merck & Co., Inc.), subcutaneously in the groin, throughout the period of observation.

The "topical irritation arthritis" test with dextran was performed on the seventh day. The commercial (6%) dextran ["Intradex", Glaxo (Canada) Ltd.] was diluted

with 35 times its volume of water and 0.1 ml of the resulting solution was injected under the plantar aponeurosis of the right hind paw. On the ninth day, a similar topical irritation arthritis was produced by injecting 0.1 ml of a 3% aqueous formaldehyde solution under the plantar aponeurosis of the left hind paw. In both instances the degree of inflammation was assessed by determining the "index of swelling"⁵. First, the normal thickness of the hind paw is measured (with calipers) between the dorsum pedis and the planta, at the origin of the toes, in the metatarsal region; a second measurement establishes the greatest lateral thickness of the ankle. The figures so obtained are multiplied by each other. The product is a function of the general thickness of the paw, which we found to be extremely constant under normal conditions. These measurements are subtracted from the product of the corresponding two thicknesses, taken 2½ h after the injection; the difference gives the "index of swelling" which is listed in our Table.

The "granuloma pouch" was prepared on the 11th day, by injecting (under ether anesthesia) first 25 ml of air and then introducing 0.5 ml of a 1% croton-oil solution (in corn oil) into the air-sac thus created⁶. The amount of inflammatory exudate produced was measured by aspiration into a graduated syringe 7 days later.

All animals were maintained exclusively on "Purina Fox Chow" and tap water. Rats rarely develop manifest tetany during the first weeks after parathyroidectomy, unless their diet is extremely rich in phosphates or deficient in calcium. It was therefore considered best not to complicate the results by administering an excess of calcium-salts since these have an antiphlogistic effect of their own.

Results. All animals were killed on the 18th day, and the principal findings are summarized in our Table.

Perhaps thyroidectomy in itself had slightly diminished the phlogistic potential of our rats. (at least with respect to dextran and croton oil), but cortisone undoubtedly exerted a marked antiphlogistic effect, both in the normal and in the thyroidectomized animals.

It is difficult to understand why our results were so strikingly different from those of DOMENJOZ *et al.*¹. It is noteworthy, however, that the latter investigators used only formalin arthritis as an indicator. This is a much less sensitive test for antiphlogistic corticoids than the granuloma pouch. Furthermore, DOMENJOZ *et al.* administered ample calcium-supplements (100 mg/kg of calcium Sandoz subcutaneously daily, and 1% calcium-lactate as a drinking fluid); in the thyro-parathyroidectomized animals, whose phlogistic potential is low to start with, this may have brought inflammation down to a level at which cortisone could not induce further

⁵ H. SELYE and G. HEUSER, *Int. Arch. Allergy* 5, 52 (1954).
⁶ H. SELYE, *J. Amer. med. Assoc.* 152, 1207 (1953).

Effect of thyro-parathyroidectomy upon the antiphlogistic actions of cortisone

Group	Treatment	Topical irritation arthritis (Swelling index)		Granuloma Pouch (Exudate in ml)	Final bodyweight (g)
		Dextran	Formalin		
I	Intact control	34.1 ± 1.6	20.9 ± 2.8	8.3 ± 0.7	178 ± 1.5
II	Intact cortisone	5.3 ± 1.7	11.9 ± 1.7	0	121 ± 1.5
III	Thyro-parathyroidectomy control	17.2 ± 3.7	27.5 ± 2.9	6.7 ± 0.7	148 ± 2.9
IV	Thyro-parathyroidectomy + cortisone.	6.8 ± 1.8	11.0 ± 2.5	0	109 ± 2.0

inhibition. It is also noteworthy that the above mentioned workers injected cortisone only during the 2 h preceding the administration of formalin. In thyroidectomized animals this length of treatment may have been too short for the absorption of sufficient hormone and for its action upon the cells, because of the notoriously sluggish metabolism of animals deprived of thyroid hormone.

These experiments were performed with the aid of a grant from Warner-Chilcott Laboratories.

The authors are grateful to Merck & Co., Inc., for supplying cortisone ("Cortone"), and to Glaxo (Canada) Ltd., for dextran ("Intradex").

P. BOIS and H. SELYE

Institut de Médecine et de Chirurgie expérimentales, University of Montreal, Canada, December 5, 1955.

Zusammenfassung

Die angebliche Aufhebung der entzündungshemmenden Wirkung des Cortisons durch Thyreo-Parathyreoid-ektomie wurde experimentell nachgeprüft. Für die objektive Messung des Entzündungsgrades wurden drei Methoden benutzt: Die sogenannte «granuloma pouch» nach Krotonöl und die sogenannte «topical irritation arthritis» nach Formalin und Dextran.

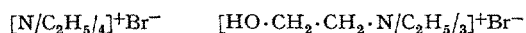
In allen drei Testen war es unmöglich, die entzündungshemmende Wirkung des Cortisons durch Thyreo-Parathyreoid-ektomie zu verhindern.

Versuche auf dem Gebiet der Lokalanästhesie mit protrahierter Wirkung. III

Über den Einfluss einfacher quaternärer Salze auf die Wirkungsdauer der Lokalanästhetika

Im Rahmen unseres Studiums der Lokalanästhesie mit protrahierter Wirkung¹ wurden wir auf eine Arbeit aufmerksam, die NÁDOR und Mitarbeiter² veröffentlichten. Die genannten Autoren stellen fest, dass einige quaternäre Ammoniumsalze, die durch Einwirkung von Methyl- oder Benzylhalogeniden auf bekannte Lokalanästhetika (Procain, Pantocain = Tetracain, Nupercain = Cinchocain) entstehen, eine Lokalanästhesie bewirken, deren Dauer im Vergleich mit der des Anästhetikums, aus dem das geprüfte quaternäre Salz dargestellt wurde, ein Vielfaches beträgt.

Wir stellten uns die Frage, ob eine ähnliche quaternäre Ammoniumfunktion die Wirksamkeit eines Lokalanästhetikums beeinflussen würde, wenn sie nicht direkt Teil seines Moleküls, sondern bloss einen Bestandteil der applizierten Lösung bilden würde. Zur praktischen Lösung dieser Frage untersuchten wir den Einfluss zweier einfacher quaternärer Salze (Tetraäthylammoniumbromid I und Oxyäthyltriäthylammoniumbromid II) auf die Wirkungsdauer von vier Lokalanästhetika (Procain, Tetracain = Pantocain, Cinchocain = Nupercain, Xylocain) bei Infiltrations- und Oberflächenanästhesie. Bei der letzteren wurde auch Cocain angewendet. Soweit uns bekannt ist, wurde dieser Einfluss bisher nicht geprüft.



I

II

¹ V. HACH und Z. HORÁKOVÁ, Českoslov. farm. (im Druck). – Z. HORÁKOVÁ und V. HACH, unveröffentlicht.

² K. NÁDOR, F. HERR, G. PATAKY und J. BORSY, Nature 171, 788 (1953).

Schon bei einer vorläufigen Prüfung der Infiltrationsanästhesie stellten wir eine mehrfache Verlängerung der Wirkungsdauer jener Lokalanästhetika fest, deren Lösungen mit Salz I oder II versetzt worden waren. Wir führten deshalb eine ausführliche Bestimmung der Infiltrations- und Oberflächenanästhesie und einiger weiterer pharmakologischer Eigenschaften dieser Lösungen durch.

Die Infiltrationsanästhesie prüften wir an Meer-schweinchen mittels üblicher Methodik nach BÜLBRING und WAJDA³ bei intradermaler Injizierung der zu prüfenden Lösungen. Es wurde jedem der Versuchstiere (in Gruppen zu je 5 Tieren) sowohl eine Lösung des Anästhetikums allein (Standard) als auch eine Lösung des Anästhetikums mit Zusatz des quaternären Salzes appliziert und der Verlauf der Anästhesie bis zum völligen Abklingen beobachtet. Es wurde die Dauer der vollkommenen Anästhesie, die Rückkehr zu 50% Empfindlichkeit und die Einstellung der völligen Empfindlichkeit bestimmt. Als Beispiel führen wir Abbildung 1 an. Die Rückkehr von vollkommener Anästhesie zu vollkommener Empfindlichkeit war nach Applizierung der Mischung immer gleich schnell wie die Rückkehr nach Abklingen der Wirkung des Lokalanästhetikums allein. Sie ist nur um die Zeit, um die die vollkommene Anästhesie verlängert ist, verspätet. Die Lösung des Anästhetikums wurde immer in derselben Konzentration angewendet, und die Menge des zugesetzten quaternären Salzes wurde so gewählt, dass seine Konzentration in der Lösung des Anästhetikums der gegebenen Konzentration sich in geometrischer Reihe von 0,125% bis zu 8,0% (für Salz I) und von 0,125% bis zu 2,0% (für Salz II) änderte. Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengestellt. Die Zeit ist in Minuten angeführt und bedeutet die Dauer der vollkommenen Anästhesie. Die für das blosse Anästhetikum angegebene Zeit stellt einen Durchschnittswert aus den Ergebnissen an 45 Meer-schweinchen dar. Die Ergebnisse für die einzelnen Gemische sind aus Versuchen mit je 5 Meer-schweinchen berechnet. In Abbildung 2 sind als Beispiele die Ergebnisse der Applikation von Procain und Procain im Gemisch mit quaternärem Salz I in einer Konzentrationsreihe von 0,125 bis 8,0% veranschaulicht. Der Umriss der schraffierten Fläche zeigt die Grenzen der statistischen Verlässlichkeit der einzelnen Verlängerungen für eine Wahrscheinlichkeit von $p = 0,95$ an. Sofern sich die schraffierte Fläche oberhalb der Geraden des Standards in der Höhe von 15 min befindet, ist der Unterschied in der Anästhesiedauer statistisch signifikant⁴.

Die Oberflächenanästhesie wurde auf der Hornhaut des Kaninchens mittels der modifizierten⁵ Regnierschen Methode⁶ geprüft. Der Verlauf der Anästhesie wurde bis zur vollkommenen Rückkehr der normalen Empfindlichkeit beobachtet. Im Gegensatz zur Wirkung, die die Salze I und II bei der Infiltrationsanästhesie ausüben, stellten wir fest, dass sich bei der Oberflächenanästhesie die Wirkungsdauer der Lokalanästhetika bei Zusatz der Salze I und II nicht verändert oder eher verkürzt.

Die Toxizität der Lokalanästhetika allein, der quaternären Salze und der Mischungen von Lokalanästhetika mit quaternären Salzen wurde bei subkutaner und intravenöser Applikation ermittelt. Die subkutane Toxizität der Mischungen entspricht entweder der Summe der toxischen Wirkungen beider Komponenten oder ist ge-

³ E. BÜLBRING und I. WAJDA, J. Pharmacol. exper. Therap. 85, 78 (1945).

⁴ Die statistische Bearbeitung führte Herr Ing. Z. ROTH aus unserem Institut durch.

⁵ Z. HORÁKOVÁ und V. HACH, Českoslov. farm. 4, 234 (1955).

⁶ J. REGNIER, C. r. Acad. Sci. Paris 177, 558 (1923).