

the effect produced by nor-adrenaline but also as regards its formation or release.

The endotoxin has no clear-cut influence on the effect caused by histamine on the blood pressure, and its influence on that of serotonin is only erratic, insofar as it diminishes or reverses the pressor effect of serotonin, the latter can be restored by administering aldosterone. We were unable to determine whether prednisolone also has some influence on the alterations provoked by endotoxin in the pressor action of adrenaline and nor-adrenaline, because the animals – despite large doses of prednisolone – died too soon (Table II).

The results obtained by HALBERG, SPINK, and BITTNER⁸ in experiments on adrenalectomised mice are corroborated and extended by our finding that, in rats adrenalectomised 20–24 h prior to the administration of endotoxin, aldosterone not only prolongs the survival time but affords protection from death even when given in only one single dose (Table III). Here, once again, aldosterone proves far more effective than other corticosteroids, although the difference is not so pronounced as in the cat.

In guinea-pigs, on the other hand, all the corticosteroids exert a protective action, though one that is less clear-cut; here, however, in comparison with other animal species (cat, rat, mouse), larger doses of endotoxin have to be given and death also ensues more slowly, so that a single injection of steroid can hardly be expected to afford prolonged protection. It is therefore all the more surprising that animals pretreated with BCG can be protected by an intravenous dose of aldosterone (1 mg/kg) given 10 min before PPS, whereas doses of prednisone or prednisolone 10 to 30 times larger are required to achieve a comparable protective effect.

Prophylactic treatment with aldosterone in doses of 1–3 mg/kg also protects mice against the lethal action of *E. coli* or *S. typhimurium* toxin as well as against that of hemorrhagic snake venoms (*Vipera aspis*, *Crotalus adamanteus*), but not against the neurotoxic venom of *Naja tripudians*. Prednisolone, which is effective to roughly the same degree in the mouse as in the rat, has to be administered in doses some 10–30 times larger, whereas hydrocortisone and cortexone display no protective action, even in high dosage.

In cats anaesthetised with Dial-urethane, aldosterone – in a dose of 1 mg/kg – also affords protection against acute 'shock' produced by a lethal intravenous dose (4–6 mg/kg) of trypsin. In this case, too, other protective corticosteroids, such as prednisone and prednisolone, display no action unless given in much larger doses (30 mg/kg). The protective activity of aldosterone thus includes an ability to antagonise 'shock states' induced by various means.

In anaesthetised cats, aldosterone – like the other corticosteroids – is ineffective against the typical depressor action exerted on the blood pressure by the histamine liberator Compound 48/80.

In addition to the reasons of a pharmacodynamic character which have been suggested to account for the protection afforded by aldosterone against endotoxin shock, the antitoxic action of certain steroids may also possibly be partly due to some form of direct interference. This would seem to be borne out by our observation that, in guinea-pigs, mixtures of aldosterone or prednisolone and PPS produced *in vitro* have an appreciably less toxic and pyrogenic effect than untreated PPS.

H. J. BEIN and R. JAKES

Research Laboratories of the Pharmaceutical Department of CIBA Limited, Basle, October 14, 1959.

⁸ F. HALBERG, W. W. SPINK, and J. J. BITTNER, *Endocrinol.* 59, 380 (1956).

Zusammenfassung

Aldosteron schützt bei verschiedenen Tierarten – als wirksamstes aller untersuchten Corticosteroide – gegenüber verschiedenartig ausgelösten «Schockzuständen». Bei der Katze normalisiert es die durch Endotoxine veränderte vaskuläre Reaktivität gegenüber Adrenalin und Nor-Adrenalin. Es ist möglich, dass im Endotoxin-Schock die Konzentration von Nor-Adrenalin unterschwellig wird, und dass seine Wirkung, eventl. auch Freisetzung, von Aldosteron abhängt.

Adsorption de protéines par les plaquettes sanguines

On sait que les plaquettes sont entourées d'une couche de plasma, appelée «atmosphère plasmatique périplaquettaire» par ROSKAM¹. BOUNAMEAUX² a pu y doser divers facteurs de la coagulation. Utilisant des techniques immunochimiques³, il nous a été possible de mettre en évidence de nombreuses protéines plasmatiques dans les lysats de plaquettes abondamment lavées. Ces protéines plasmatiques paraissent bien adsorbées à la surface des plaquettes: c'est dans le but de confirmer cette hypothèse que nous avons réalisé le présent travail, tout en utilisant une protéine marquée d'un élément radioactif.

Techniques. Les réactifs suivants ont été utilisés: plaquettes humaines lavées 7 fois en solution aqueuse de NaCl à 0,9%, additionné de 0,1% d'éthylène-diamine tétra-acétate. Ces plaquettes parfaitement isolées sont finalement suspendues en NaCl aq. à 0,9% au pH 7,4, et leur concentration ajustée à 2 000 000 d'éléments par mm³. Ces plaquettes sont utilisées dès leur isolement.

Solution d'albumine marquée à l'iode radio-actif, renfermant 0,3 mg de protéine par ml.

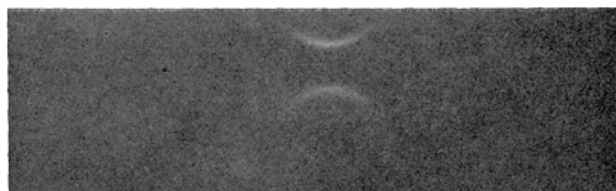


Fig. 1. Autoradiographie d'une immunoélectrophorèse obtenue avec un lysat de plaquettes incubées en albumine radio-active et révélée au moyen de sérum anti-sérum humain.

La suspension plaquettaire a été divisée en 3 lots: le premier est immédiatement congelé; les plaquettes du second sont incubées dans la solution d'albumine marquée, pendant 2 h à 37°C, puis pendant une nuit en glacière; le troisième lot servant de témoin subit le même traitement que le second, mais en NaCl aq. à 0,9%. Après incubation, les plaquettes des 2^e et 3^e lots sont à nouveau lavées 7 fois dans le liquide de lavage décrit ci-dessus, et leur concentration amenée à 2 000 000 d'éléments par mm³. Le temps suivant consiste en la lyse des 3 suspensions plaquettaires par congélation et décongélation successives dans la neige carbonique. Les lysats ainsi obtenus sont ensuite concentrés 10 fois par évaporation.

¹ J. ROSKAM, *Arch. int. Physiol.* 20, 241 (1923).

² Y. BOUNAMEAUX, *Rev. franç. Études clin. biol.* 2, 52 (1957).

³ J. SALMON, *Schweiz. med. Wschr.* 88, 1047 (1958).

Ces produits ont été soumis à l'immunoélectrophorèse selon la méthode de SCHEIDEGGER⁴, la révélation étant effectuée par le sérum de cheval anti-sérum humain (ch. 491) de l'Institut Pasteur. La précipitation immuno-chimique terminée, les plaques sont aussitôt séchées, colorées et mises au contact d'un film radiographique pendant 10 jours. A titre de contrôle, la solution d'albumine marquée a subi le même examen immunoélectrophorétique.

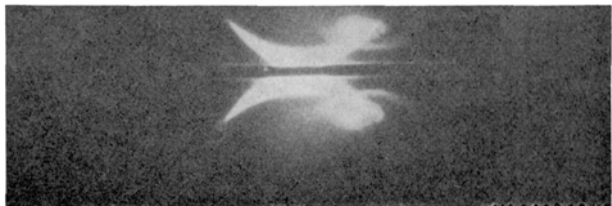


Fig. 2. Autoradiographie d'une immunoélectrophorèse obtenue avec la solution d'albumine radio-active et révélée au moyen de sérum anti-sérum-humain. (On note la présence de deux traits, l'intense correspondant à l'albumine, le second à une protéine contaminante.)

Résultats. A l'examen des diagrammes immunoélectrophorétiques obtenus avec les 3 lots de plaquettes, on n'observe pas de différence appréciable, si ce n'est une légère diminution d'intensité du trait correspondant à l'albumine lorsque les plaquettes lavées 7 fois ont à nouveau subi 7 lavages. Mais, ainsi que le prouve la Figure 1, le trait albumine induit par le lysat de plaquettes incubées dans la solution radio-active impressionne le film radiographique comme le fait la solution d'albumine marquée (Fig. 2). Les liquides des 6^e et 7^e lavages de ces plaquettes ne contiennent pas d'albumine décelable immuno-chimiquement. Soumis à l'immunoélectrophorèse, même après concentration, ils ne donnent naissance à aucune ligne de précipitation et sont incapables d'impressionner le film radiographique. Enfin, mis au contact d'immunoélectrophorèses obtenues avec les 2 lots de plaquettes témoins, ce film reste vierge. Le lysat de plaquettes incubées en albumine marquée renferme donc de cette protéine.

Ces résultats permettent d'affirmer que les plaquettes humaines sont capables d'adsorber de façon tenace une protéine en présence de laquelle elles sont incubées, puisque, dans le cas présent, grâce à sa radio-activité, cette protéine est encore décelable après 7 lavages. Ils apportent une nouvelle preuve en faveur de la notion selon laquelle l'atmosphère plasmatique périplaquettaire serait constituée de protéines adsorbées à la surface de thrombocytes.

J. SALMON

Institut de Clinique et de Pathologie médicales, Université de Liège (Belgique), le 27 juillet 1959.

Summary

When brought into contact with radioactive albumin, the blood platelets adsorb this protein firmly, thus proving the existence of intensive surface phenomenon at the level of these elements.

⁴ J. J. SCHEIDEGGER, *Int. Arch. Allergy* 7, 103 (1955).

Transfer of the Antigenicity of Guinea Pig Bone Marrow Implants to the Graft Tissue in Explantation Experiments

Observations, indicating that differentiating interaction between embryonal tissues is caused by diffusible agents, have been made with regard to primary^{1,2} and late^{3,4} induction. ROUNDS *et al.*⁵ and FLICKINGER *et al.*⁶ reported serological evidence for the transfer of the antigenicity between embryonic tissues in chimeric frog-salamander explants, and showed the movement of proteins from the frog embryo chorda mesoderm or larval brain to the salamander gastrula ectoderm. Because the passing of macromolecules in primary induction might be the principal cause of antigenic movement, we found it important to determine whether such a transfer of antigenicity occurs when using an alcohol-treated heterogenous inductor.

Methods.—The presumptive epidermis of the common newt (*Triturus vulgaris*) was used in sandwich experiments with the bone marrow of guinea pig as inductor. The bone marrow was fixed in 70% alcohol 2–4 h at 4°C. Each series consisted of 21–27 explants. After 1 or 3 h, the explants were opened and the inductor tissue was removed. The explants were thoroughly washed and homogenized in a conical glass grinder in 0.5 cm³ suitably buffered saline. The prepared suspension was centrifuged at 3000 g and 25000 g and the clear supernatant was used for titrations in ring precipitation tests. Antiserum prepared against fresh guinea pig bone marrow homogenate was used throughout the experiments. Several series of intravenous and intramuscular injections with Freund complete adjuvants were administered for immunisation. Ring precipitation tests were carried out, using titrations of antigen solutions, and the results were read after half an hour at room temperature. A few experiments were also made with anti-guinea pig bone marrow serum coupled to Lissamine Rhodamine (RB-200)⁷. After two absorptions with charcoal and one absorption with acetone-dried rabbit liver, the cells of explants were stained in small tubes, after having been separated from each other by suction through a narrow Pasteur pipette. After careful washings, the cells were put on a glass plate and result was read using a fluorescence-microscope. The usual indirect control was made, and also staining with a normal rabbit serum pool coupled to RB-200.

Results.—As seen in Fig. 1, normal rabbit serum pool tends to precipitate an antigen solution made from ectodermal cells of newt gastrula. Anti-guinea pig bone marrow serum, again, seems to precipitate the antigen solution of explants from which the inductor has been removed after 1 h. In experiment I the antigen titer is on the level of the controls, but in experiment II the corresponding titer is higher. When the inductor was removed after 3 h, it was possible to show a higher degree of guinea pig bone marrow antigenicity in solution made from explants especially in experiment II. In both experiments, the transferred antigenicity seemed to in-

¹ M. C. NIU and V. C. TWITTY, *Proc. nat. Acad. Sci., Wash.* 39, 985 (1953).

² M. C. NIU, *Proc. nat. Acad. Sci., Wash.* 44, 1264 (1958).

³ C. GROBSTEIN, *Exp. Cell Res.* 13, 575 (1957).

⁴ C. GROBSTEIN and J. DALTON, *J. exp. Zool.* 135, 479 (1957).

⁵ D. E. ROUNDS and R. A. FLICKINGER, *J. exp. Zool.* 137, 479 (1958).

⁶ R. A. FLICKINGER, E. HATTON, and R. E. ROUNDS, *Exp. Cell Res.* 17, 30 (1959).

⁷ C. S. CHADWICK, M. G. MCENTEGART, and R. C. NAIRN, *Lancet* 1, 412 (1958).