

extracts were stable to heat, acid and alkali, and could not be separated completely from protein by these and other precipitants, or by dialysis.

To test the hypothesis that the amine-releasing activity of the extracts might be mediated by damage to the membrane of the neoplastic mast cell, experiments were carried out in a variety of media ranging from simple isotonic salt solution to Hanks' solution (a complex salt solution containing glucose, used as the basal salt medium in the culture of neoplastic mast cells *in vitro*¹¹). Table III summarizes the results of these experiments.

In those solutions containing glucose, Hanks' and Locke-Lewis', the potency of the brain extract was markedly inhibited, as was destruction of the cells. In fact, the degree of amine-release which occurred in Tullis-Toh's or Ringer-Locke's solutions could be accounted for in part by destruction of the cells. By contrast, the entire release of 5-HT produced in isotonic salt solution was directly related to cell destruction. Further experiments have served to show that the most of the antagonism to amine-release seen in Hanks' solution is attributable to the presence of glucose in this medium. Such an effect of glucose might be expected if the extracts had a non-specific damaging action on the cell membrane which could be opposed by increased metabolic activity.

The activity of these tissue extracts may be compared most closely to the action of certain monoamines and surface-active agents (e.g., saponin)^{12,13}. The extracts caused some apparent damage to the cells, but lysis of the cells was not sufficient to explain the activity observed. These extracts probably did exert a surface action, but it is unlikely that purely toxic, surface-active principles would have had all the characteristics of temperature dependence, variation in tissue source, relatively low lytic activity and «dosage»-effect relationships which were observed. It is generally concluded that degradation products (probably polypeptides or simpler amines) derived from injured tissues can cause the release of 5-HT and histamine from certain storage sites.

N. J. GIARMAN, L. T. POTTER¹⁴,
and MARGARET DAY¹⁵

Department of Pharmacology, Yale University, School of Medicine, New Haven (Connecticut), July 21, 1960.

Zusammenfassung

Alkalische Extrakte diverser Rattengewebe setzen 5-Hydroxytryptamin (Serotonin) und Histamin aus Suspensionen neoplastischer Mastzellen der Maus frei. Gehirn- und Nierenextrakte zeigen die grösste Aktivität. Zugabe von Glukose in die Nährösung verhindert das Freiwerden der Amine. Eine vorläufige Charakterisierung des aktiven Materials ist unternommen worden.

Histamine et métaux cancérogènes

Un travail précédent a établi la fixation de l'histamine par les substances cancérogènes organiques de structure différente^{1,2}. Il a paru intéressant d'élargir le champ et d'observer le comportement de l'amine avec les métaux actifs (argent, nickel, cobalt, chrome, glucinium).

En effet, lorsque histamine est au contact de divers sels de ces métaux, une base complexe prend naissance en phase aqueuse. Dans certains cas le complexe apparaît sous une forme cristallisée qui entraîne une étude minéralogique, dans d'autres cas le complexe est hydrosoluble et la méthode des variations continues de Job s'applique à l'absorption lumineuse dans l'ultra-violet³.

L'argent s'est révélé cancérogène à divers auteurs qui implantèrent des fragments métalliques dans la paroi abdominale de rats. Les tumeurs se sont développées *in situ*⁴. L'étude physico-chimique comporte le fluorure, le nitrate, le sulfate, l'acétate et le butyrate d'Argent. Le complexe $[Ag Hi_2]^{+}$ est caractérisé quelle que soit la nature de l'anion. La constante de stabilité $K = 3 \cdot 10^{-10}$ à 20°C (Fig. 1).

Le nickel a fait l'objet d'études biologiques très poussées. Les applications de métal divisé produisent le cancer au lieu même du dépôt chez les rats et les lapins avec un certain caractère de spécificité quand le véhicule utilisé pour la poudre métallique s'est révélé strictement inactif. De plus, les cancers des voies respiratoires se sont développés nombreux, provoqués par la poussière de nickel dans l'industrie du métal^{5,6}. La complexion du nickel par l'histamine a déjà été entrevue dans une étude électrochimique des solutions diluées par divers auteurs (voir réf. ⁷). L'étude présente permet de caractériser les complexes $[Ni Hi_2]^{++}$ et $[Ni Hi_3]^{++}$ en solution et à l'état cristallisé⁷.

Le cobalt métallique divisé, administré par injections intramusculaires dans la cuisse de rats, provoque l'apparition de tumeurs *in situ*. Les injections intra-fémorales pratiquées chez le lapin produisent des tumeurs *in situ* et au loin⁸. Les sels cobalteux forment avec histamine le complexe soluble $[Co Hi_2]^{++}$ déjà mis en évidence par un important travail électrochimique (voir réf. ⁷). La méthode de Job confirme et complète cette étude. L'examen spectral s'étend au nitrate, au chlorure et au sulfate cobalteux.

Les particules de chrome implantées dans le fémur ou introduites dans le poumon de divers animaux (lapins, chiens) font naître des tumeurs au lieu du dépôt et à distance. La fréquence des cancers observés chez les ouvriers de l'industrie vient à l'appui de l'expérimentation^{9,10}. L'étude physico-chimique donne les résultats suivant: 1^o Si l'on met au contact de solutions d'histamine ($M/100$) des solutions de Cl_3Cr de même titre, on observe dans les mélanges de Job une précipitation lorsque le milieu devient alcalin. L'étude spectrale des mélanges restés clairs, donne après 10 jours de contact, une courbe où la complexion de Cr par histamine apparaît déjà (Fig. 2). 2^o Dans les mélanges faits à force ionique constante $\mu = 1$, le pH reste compris entre 2,75 et 4,60 où Cr^{+++} existe soluble. On caractérise le complexe $[Cr Hi_2]^{+++}$ la constante de stabilité $k = 5 \cdot 10^{-6}$ (Fig. 3).

Le glucinium est hautement cancérogène¹¹. De nombreux cas de carcinisation chez les ouvriers en contact avec les poussières ou les vapeurs de métal ont été relevés¹²⁻¹⁴. Le glucinium introduit dans la peau de jeunes verrats, administré par voie respiratoire, injecté par voie sous-cutanée ou intraveineuse à des souris, à des rats et à des lapins, est retrouvé *in situ* et même trois mois après

¹ S. HATEM, Exper. 15, 219 (1959).

² S. HATEM, Exper. 16, 158 (1960).

³ P. JÓB, Ann. Chim. 9, 113 (1928).

⁴ B. S. OPPENHEIMER, R. OPPENHEIMER, I. DANISHEWSKI et A. P. STOUT, Cancer Res. 16, 435 (1956).

⁵ W. C. HUEPER, J. nat. Cancer Inst. 16, 55 (1955).

⁶ G. MORGAN, Brit. J. ind. Med. 15, 224 (1958).

⁷ S. HATEM, Chimia 14, 130 (1960).

⁸ J. C. HEATH, Brit. J. Cancer 10, 668 (1956).

⁹ H. R. SCHINZ et E. UEHLINGER, Z. Krebsforsch. 52, 425 (1942).

¹⁰ CH. GROGAN, Cancer Philad. 4, 625 (1957).

¹¹ S. HATEM, C. R. Soc. Biol., Paris 153, 574 (1959).

¹² A. J. WORWALL, Occup. Med. 5, 684 (1948).

¹³ J. M. BARNES, F. A. DENZ et H. A. SISONS, Brit. J. Cancer 4, 212 (1950).

¹⁴ R. FRANK et M. D. DUTRA, Arch. ind. Hyg. 3, 81 (1951).

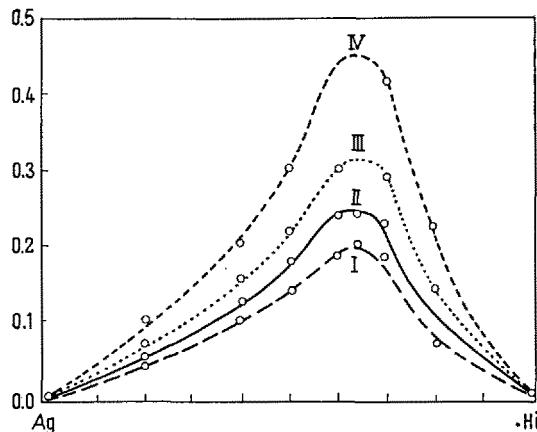


Fig. 1. Densité optique observée sous 1 cm d'épaisseur pour les mélanges de solutions équimoléculaires $M/500$ de nitrate d'argent et d'histamine.

Courbes I: $\lambda = 2650 \text{ \AA}$, II: $\lambda = 2600 \text{ \AA}$, III: $\lambda = 2550 \text{ \AA}$, IV: $\lambda = 2500 \text{ \AA}$.

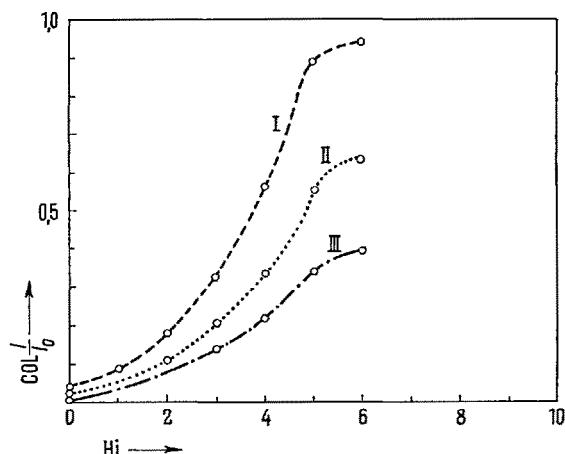


Fig. 2. Densité optique observée sous 1 cm d'épaisseur pour les mélanges des solutions équimoléculaires $M/100$ de CrCl_3 et de histamine.

Courbes I: $\lambda = 2700 \text{ \AA}$, II: $\lambda = 2800 \text{ \AA}$, III: $\lambda = 2900 \text{ \AA}$.

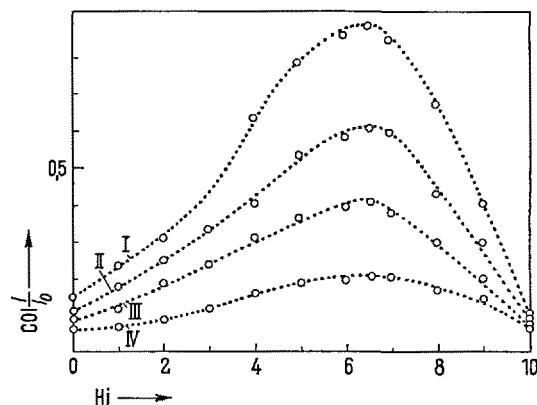


Fig. 3. Densité optique observée sous 0,5 cm d'épaisseur pour les mélanges de solutions équimoléculaires $M/100$ de CrCl_3 et de Histamine à force ionique constante $\mu = 1$.

Courbes I: $\lambda = 2500 \text{ \AA}$, II: $\lambda = 2600 \text{ \AA}$, III: $\lambda = 2900 \text{ \AA}$.

une seule injection. A la suite d'un contact prolongé et sous l'action de fortes doses il apparaît dans différents organes et tout particulièrement dans les os. L'étude physico-chimique du glucinium (Be) s'apparente à celle du chrome. Si l'on fait des mélanges de solutions équimoléculaires ($M/100$) de Cl_2Be et de histamine un précipité gélatineux de $\text{Be}(\text{OH})_2 \cdot n \text{ H}_2\text{O}$ se forme dans les milieux alcalins. Après 24 h de contact, les mélanges hétérogènes une fois dévantés, l'étude spectrale accuse une particularité. A force ionique constante, $\mu = 0,4$ et dans la zone des pH inférieurs à 5 zone où Be^{++} existe soluble, aucun précipité n'apparaît et les écarts à la loi d'additivité atteignent un maximum net correspondant à l'ion complexe $[\text{BeHi}_2]^{++}$.

Il est vraisemblable qu'en solution, un chélate prend naissance avec certains métaux, engageant à la fois la chaîne et le noyau imidazole de l'amine (Fig. 4).

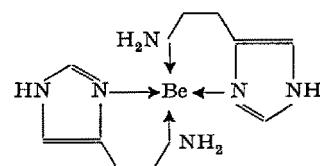


Fig. 4

In vivo, la vérification du blocage de l'histamine des nerfs a été faite avec le concours de C. CHAMPY suivant la méthode décrite¹. La poussière métallique mise au contact d'une sous-maxillaire de rat fait disparaître la réaction de histamine sur les terminaisons nerveuses renfermant l'amine, quand le témoin donne une coloration parfaite.

La fixation de l'histamine par les substances cancérogènes semble bien présenter un caractère de généralité.

SIMONE HATEM

Laboratoire du C.N.R.S., Faculté de Médecine de Paris, le 21 avril 1960.

Summary

In the case of mineral carcinogenic substances, the relation already established for organic carcinogenic substances with histamine is apparent. Silver, nickel, cobalt, chromium, and beryllium form well-characterized complexes with histamine.

Action des enzymes sur la gonadotropine urinaire de ménopause

De nombreux travaux rapportent l'action d'enzymes sur les hormones gonadotropes chorionique, sérique ou hypophysaire. Seule, la gonadotropine urinaire de ménopause semble ne pas avoir été l'objet d'une telle étude. Il est vrai que cette hormone est la moins bien caractérisée des gonadotropines. Cependant, ayant obtenu, à partir de l'urine de femme ménopausée, par une méthode de préparation originale^{1, 2} une gonadotropine très purifiée, il nous a paru intéressant de suivre les effets que pourraient avoir les principaux enzymes sur son activité biologique.

¹ R. BOURRILLON, R. GOT et R. MARCY, *Nature* 184, 983 (1959).

² R. BOURRILLON, R. GOT et R. MARCY, *Acta Endocrinol* 35, 225 (1960).