

5HT degradation cannot be excluded because of the relatively large amount of Ro 4-6861 present in the platelet suspension (approximately $0.4 \mu\text{M}/\text{ml}$ Ro 4-6861 compared with $0.05\text{--}0.08 \mu\text{M}/\text{ml}$ 5HT). It is, however, also conceivable that Ro 4-6861 releases 5HT by a different mechanism than reserpine, whereby the metabolizing enzymes of the platelets are, for instance, by-passed.

In preliminary experiments, other phenylalkylamines like tyramine and amphetamine as well as chlorpromazine caused 5HT liberation similar to Ro 4-6861, whereas the benzoquinolizine derivative Ro 4-1284¹⁰ behaved like reserpine¹¹.

Zusammenfassung. Nach Einwirkung von Reserpin auf gewaschene, isolierte Thrombocyten werden neben 5-Hydroxytryptamin, 5-Hydroxyindolessigsäure und eine Substanz mit den Charakteristika von N-Acetyl-5-hydroxytryptamin im Inkubationsmedium (modifizierte Tyrode-

lösung) gefunden. Das Phenyläthylaminderivat Ro 4-6861 setzt 5-Hydroxytryptamin ohne Bildung dieser Metabolite frei.

G. BARTHOLINI and A. PLETSCHER

Medizinische Forschungsabteilung, F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel (Switzerland), April 17, 1964.

¹⁰ 2-Hydroxy-2-ethyl-3-isobutyl-9, 10-dimethoxy-1, 2, 3, 4, 6, 7-hexahydro-11bH-benzo[a]quinolizine.

¹¹ *Addendum.* While this paper was in print, it could be shown that the second metabolite (indicated as possible N-acetyl-5HT) is probably 5-hydroxytryptophol (5-hydroxy-3-(β -hydroxyethyl)-indole). N-Acetyl-5HT and 5-hydroxytryptophol have the same Rf values in all the chromatographic systems used in this investigation. The two compounds can, however, be separated by thin layer chromatography on silica gel using ethylacetate as solvent system.

The Effect of Aggregated γ -Globulins on Immune Cytolysis: the Role of Complement¹

Earlier experiments² have shown that heat-aggregated human γ -globulin completely inhibits the immune reaction in an *in vitro* system consisting of isolated rat peritoneal mast cells, rabbit anti-rat γ -globulin serum (ARGG) and heat-labile serum factors (C'). From the observation that after washing away the aggregated HGG, the addition of ARGG and C' allows cytolysis to proceed, the assumption was made that this reaction cannot take place in the presence of aggregated human γ -globulin because the available complement is exhausted. The present experiments were performed to test this assumption.

Rat peritoneal mast cells were isolated and incubated with ARGG and 20% fresh guinea-pig serum (C') as described earlier³. Under these conditions 80% of the total histamine contained in the mast cells is released. Standard human γ -globulin SRK (16%; i.m.) was aggregated by heating for 20 min to 62°C . Bovine γ -globulin (BGG) was obtained by washing bovine serum with DEAE-cellulose⁴; part of this globulin was further purified on a DEAE column; the γ -globulin fractions obtained in this manner were freeze-dried and dissolved in the physiological buffer solution used for suspending the mast cells and part of it was aggregated by heating for 20 min to 62°C . Complement activity ($\text{C}'\text{H}_{50}$) was determined by the classical methods⁵.

First, the effect of aggregated human γ -globulin on the anaphylactic release of histamine from isolated mast cells in the above *in vitro* system and on complement activity was compared. In earlier experiments it was found that aggregated human γ -globulin (HGG) in final concentrations of 0.1–1.0%, irrespective of whether or not heat-labile serum components are present, neither changes the appearance of the mast cells nor releases their histamine². The results, which are graphically represented in Figure 1, show the close parallelism that exists between the effects of different concentrations of aggregated HGG on complement activity and on the anaphylactic release of histamine.

It is known from ISHIZAKA's experiments⁶ that aggregated BGG has no complement-fixing properties. There-

fore the effect of normal and aggregated bovine γ -globulin on the anaphylactic release of histamine from mast cells and on complement consumption in the immune reaction was examined. The results (Figure 2) show that neither untreated nor aggregated BGG are effective. Untreated BGG *per se* has no histamine-releasing effect on mast cells and, in its presence, the histamine-releasing effect

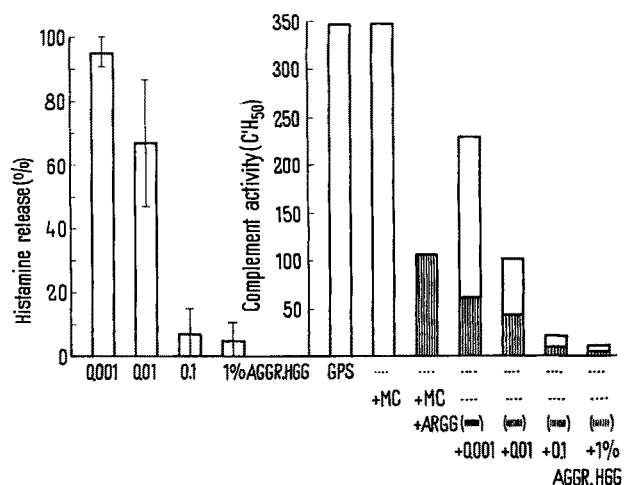


Fig. 1. The effect of heat-aggregated human γ -globulin (HGG) on histamine release from isolated rat mast cells (MC) by anti-rat γ -globulin serum (ARGG) and on complement activity ($\text{C}'\text{H}_{50}$). GPS = fresh guinea-pig serum.

¹ Supported by the Schweizerische Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

² R. KELLER, *Int. Arch. Allergy*, in press.

³ R. KELLER and I. BEEGER, *Int. Arch. Allergy* 22, 31 (1963).

⁴ D. R. STANWORTH, *Nature* 188, 156 (1960).

⁵ E. A. KABAT and M. M. MAYER, *Experimental Immunochimistry* (Ch. C. Thomas, 1961).

⁶ K. ISHIZAKA, *Progr. Allergy* 7, 32 (1963).

of ARGG is hardly influenced; complement activity ($C'H_{50}$) is somewhat diminished in the presence of 1% normal BGG but the complement consumption occurring in the course of the immune reaction is not impaired. Aggre-

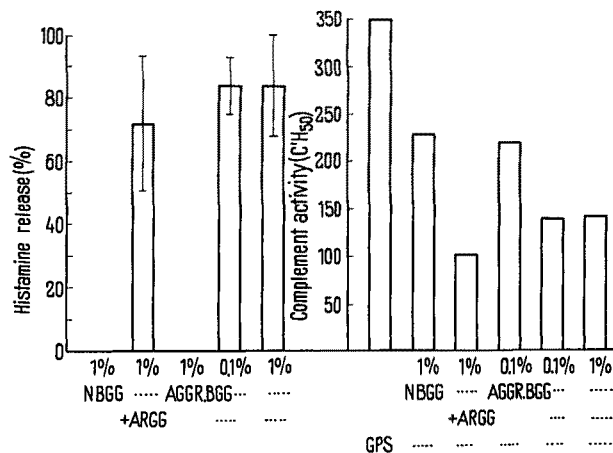


Fig. 2. The effect of normal and heat-aggregated bovine γ -globulin (BGG) on histamine release from isolated rat mast cells by anti-rat γ -globulin (ARGG) and on complement activity ($C'H_{50}$).

gated BGG (0.1–1.0%) causes no spontaneous histamine release from isolated rat mast cells and the anaphylactic reaction is not hindered in its presence; complement activity is somewhat diminished, as by untreated BGG, but, irrespective of the presence of aggregated BGG, complement consumption takes place during the immune reaction.

These results thus demonstrate that immune cytotoxicity in the *in vitro* system under discussion requires complement. If, as results from experiments with aggregated HGG suggest, complement is exhausted, the release of histamine from isolated mast cells by ARGG is prevented; conversely, aggregated BGG, which has no complement-fixing activity, does not influence the course of the immune reaction in this system. The present data therefore support earlier conclusions.

Zusammenfassung. In einem aus Peritonealmastzellen, Antikörper und hitzelablen Serumfaktoren bestehenden *in vitro*-System wird die Immunreaktion in Gegenwart von aggregiertem Human- γ -Globulin gehemmt; aggregiertes bovines γ -Globulin hat dagegen keine derartige Wirkung.

R. KELLER

Dermatologische Universitätsklinik, Kantonsspital Zürich (Switzerland), April 3, 1964.

Autoradiographische Befunde an den «direkten» Kerneinschlüssen im Hauptstückepithel der Rattenniere nach experimenteller Bleivergiftung¹

Durch chronische Bleivergiftung lassen sich in den Hauptstückepithelien der Rattenniere Kerneinschlüsse (KE) erzeugen, die Beispiele für zwei morphologisch und morphogenetisch grundsätzlich verschiedenartige Formen darstellen^{2,3}. Bei den erst in späteren Versuchsstadien und fast ausschliesslich im distalen Hauptstück auftretenden *indirekten* KE handelt es sich um Cytoplasmportionen, die – ebenso wie in vielen Tumorzellen und nach Einwirkung bestimmter Mitosegifte^{4,5} – bei der postmitotischen Rekonstruktion in den sich bildenden Ruhekern eingelagert und von Anteilen der Kernmembran umschlossen werden. Zahlreicher jedoch und für diese Schwermetallvergiftung schon in früheren Stadien charakteristisch sind *direkte* KE, die – je nach Alter und Grösse – als flockige, tropfige oder korpuskuläre Gebilde von vornherein frei und unmittelbar im Kernbinnenraum liegen und darin den durch eine Virusinfektion hervorgerufenen intranukleären Einschlusskörperchen gleichen.

Mit Hilfe autoradiographischer Methoden sollte festgestellt werden, wie sich diese direkten KE im Rahmen der nukleären Ribonukleinsäure- (RNS-) und Eiweiss-(EW-)Synthese verhalten.

Versuchsbedingungen. Weibliche Albinoratten, Tränkung mit 1%iger Bleiacetatlösung *ad libitum*; i.p. Injektion von H^3 -Cytidin (2 mC/Tier, spez. Akt. 1,93 C/mMol, Schwarz Bio Research New York, 170 Tage nach Fütte-

rungsbeginn, Tötung 20 min nach Aktivitätsgabe) bzw. H^3 -l-Phenylalanin⁶ (2 mC/Tier, spez. Akt. 39,4 C/mMol. 142 Tage nach Fütterungsbeginn, Tötung 1 h nach Aktivitätsgabe). Fixation der Nieren für 48 h in neutralem, 10%igem Formalin. Zum Austausch nur an die Gewebsstruktur adsorbierter, also nicht inkorporierter Vorläufer Angebot hochkonzentrierter Lösungen von inaktivem Cytidin und Phenylalanin sowohl im Fixativum als auch in einer Waschlösung am entparaffinierten Schnitt. Autoradiographie mit «stripping film» (Kodak, AR 10). Exposition der Autoradiogramme 2–24 Tage bei +4°C; Nachfärbungen.

Die Ergebnisse lassen erkennen, dass ungefähr äquatorial angeschnittene korpuskuläre KE sowohl nach Applikation von H^3 -Cytidin (Figur, a) als auch von H^3 -Phenylalanin (Figur, b) praktisch völlig ungeschwärzt, also frei von Radioaktivität sind. Sehr ähnlich liegen die Verhältnisse aber auch schon bei den Frühformen der KE, nämlich den flockig-tropfigen Niederschlägen (Figur, c und d). Das bedeutet, dass in den direkten KE nach

¹ Mit Unterstützung des Bundesministeriums für Wissenschaftliche Forschung.

² H.-A. MÜLLER und D. VON RAMIN, Beitr. path. Anat. 128, 445 (1963).

³ V. TOTOVIC, Verh. Dtsch. Ges. Path. 48, im Druck.

⁴ H.-W. ALTMANN und J. HAUBRICH, Exper., im Druck (1964).

⁵ P. BANNASCH und H.-A. MÜLLER, Arzneimittelforsch., im Druck (1964).

⁶ Die Synthese verdanken wir Herrn Dr. Dr. K. HEMPEL, Institut für Med. Isotopenforschung der Universität Köln.