

calcium concentration, of the anions described above, of epinephrine and of the cardiac active glycosides.

A possible explanation for the mode of action of fluoride would be the assumption that it interferes somehow with the activity of those intracellular structures which absorb calcium under the expenditure of energy¹¹. Such an intracellular inhibition of the absorption of free calcium ions should delay the onset of the relaxation phase and prolong the rising time of the contraction. The prolongation of the rising phase is not the consequence of an increased dura-

tion of membrane excitation since the action potential is shortened by an inotropically acting concentration of NaF¹². It is consistent with the view of an intracellular action of fluoride that its inotropic effect develops, in contrast to that of the other anions, in the course of 30-40 min to its maximal value. The inotropic action of F⁻ is not influenced by a change of the sodium concentration in the medium.

Zusammenfassung. Ersatz der Chlorionen des Suspensionsmediums durch NO₃⁻, Br⁻ oder J⁻ verstärkt die Kontraktionskraft des Herzmuskels im Gegensatz zu der des Skelettmuskels durch Vergrößerung der Anstiegssteilheit der Kontraktion. Dagegen wirkt F⁻ (5 mM) am Herzen positiv inotrop durch Verlängerung der Anstiegszeit der Kontraktion.

M. REITER

Pharmakologisches Institut der Universität München (West Germany), November 16, 1964.

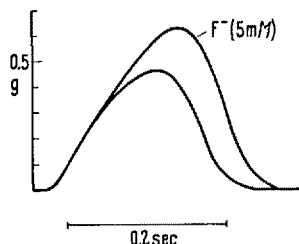


Fig. 4. The action of 5 mM fluoride on the contraction curve of the guinea-pig papillary muscle. 3.2 mM Ca⁺⁺; 140 mM Na⁺. 35°C; stimulation frequency 1 sec⁻¹. Upper curve: 27 min after adding fluoride.

¹¹ W. HASSELBACH und M. MAKINOSE, Biochem. Z. 333, 518 (1961).

¹² M. REITER und H. G. SCHÜBER, Arch. exp. Path. Pharmac., in press.

Réaction hypothermique conditionnelle liée à l'effet de la carbaminoylcholine

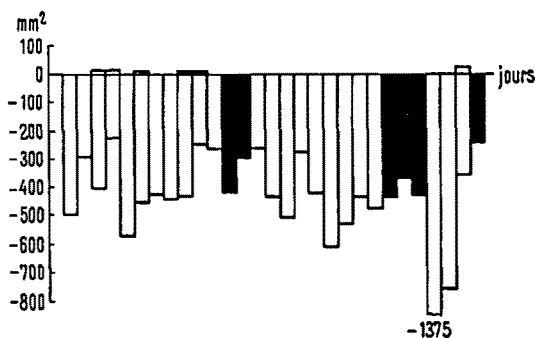
L'action hypothermique des substances cholinergiques est basée sur des mécanismes complexes, périphériques et centraux¹, dont les rapports ne sont pas encore complètement élucidés. Nous nous sommes proposé d'étudier ce problème par la méthode des réflexes conditionnels, appliquée avec succès dans la recherche des effets thermiques de certaines substances pharmacologiques².

Nous avons essayé d'élaborer un réflexe conditionnel chez 10 rats albinos adultes, en administrant par voie hypodermique 0,25 mg/kg de carbaminoylcholine (Carbo-colin) associée à un complexe d'excitants stéréotypes du milieu. A cet effet, pendant 34 jours, les animaux furent placés chaque matin à une heure fixe dans une chambre isolée et obscure, tempérée à 20-23°C; la température rectale fut mesurée à des intervalles de 30 min, pendant 3 h après l'injection; on a fait agir un dispositif donnant stimuli sonores et lumineux intermittants. On a déclenché le réflexe conditionnel en injectant une solution physiologique de NaCl seule au lieu de la solution de carbaminoylcholine.

La Figure présente les valeurs moyennes des réactions de température. Chaque jour d'expérience est représenté par une colonne, dont la longueur correspond à la surface comprise entre la courbe de température actuelle et l'abscisse (par planimétrie). On observe l'action hypothermizante de la carbaminoylcholine présentant des oscillations d'intensité et le réflexe conditionnel déclenché après 11-20-23 renforcements qui se manifestait régulièrement par des réactions hypothermiques marquées.

On sait que l'effet hypothermique des substances cholinergiques se produit principalement par l'augmentation

de la thermodispersion due à la vasodilatation cutanée et à la sécrétion sudorale. Mais le résultat de notre expérience indique que la mobilisation des processus thermolytiques peut avoir une autre origine que l'action parasympathicomimétique de la substance à la périphérie. L'effet également hypothermique de la carbaminoylcholine et du réflexe conditionnel démontre la participation de certains mécanismes centraux dans l'abaissement de la température, vu qu'en général on ne réussit pas à



Valeurs moyennes planimétriques des réactions thermiques. Colonnes blanches: l'effet de la carbaminoylcholine pendant les associations. Colonnes noires: les déclenchements du réflexe conditionnel.

¹ E. FROMMEL et F. VALETTE, Arch. int. Pharmacodyn. 104, 445 (1956).

² F. OBÁL, A. KELEMEN et G. FESZT, Acta physiol. hung. 7, 199 (1955).

reproduire par un réflexe conditionnel les actions pharmacologiques exercées sur les organes effecteurs³. Ainsi, OBÁL et al.² n'ont pas obtenu de l'hyperthermie conditionnelle en utilisant le 2,4-dinitrophénol, tandis qu'ils ont réussi à conditionner l'hyperthermie amphétaminique.

Cette interprétation concorde avec les données^{1,4} concernant les différentes actions centrales des drogues cholinergiques. Connaissant la relation fonctionnelle entre les centres thermiques et la formation réticulée⁵ et tenant compte de l'importance de cette formation dans la genèse des réflexes conditionnels⁶, nous admettons que c'est justement l'action de la carbaminoylcholine sur les cholino-récepteurs du système activateur ascendant réticulaire⁴ qui déterminerait son activité thermolytique et le résultat de la réponse conditionnelle fixée à elle.

Zusammenfassung. Ein auf die Wirkung von Carbaminoylcholin an Ratten aufgebauter bedingter Reflex

ruft eine Temperatursenkung hervor. Dieses Ergebnis weist auf eine auf den afferenten Teil der Formatio reticularis gerichtete Wirkung des Stoffes hin.

G. FESZT

Laboratoire de Pharmacologie de l'Institut de Médecine et Pharmacie de Tîrgu-Mureş (Roumanie) et Base de Recherches Scientifiques de Tîrgu-Mures de l'Académie de la R.P. Roumaine, le 17 août 1964.

³ Z. G. ANDROSOVA et al., J. Vysch. Nervn. Deiat. Pavlova 9, 388 (1959).

⁴ E. KING KILLAM, Pharmac. Rev. 14, 175 (1962).

⁵ C. VON EULER, Pharmac. Rev. 13, 361 (1961).

⁶ A. KREINDLER, in *Omăgiu lui Tr. Savulesco* (Edit. Academiei R.P.R., Bucuresti 1959), p. 993.

Stabilization of DNA Structure by Histones against Thermal Denaturation¹

Histones have been discussed in recent years as possible regulators of the function of genes, by blocking the surface of the desoxyribonucleic acid (DNA) to which they are attached^{2,3}. Although the details of the structure of the native nucleoprotein are not yet known, it has recently been suggested that the histone alpha-helix fits into the 'large groove' of the WATSON-CRICK DNA double helix, at an angle of 60° to the main DNA axis, and that thus histone molecules could form bridges between DNA helices, or stabilize a long DNA helix into a 'super-helix' of as yet unknown dimensions⁴. In the course of our own investigation into the structural ageing of DNA, we have been led to the idea that histone, firmly bound to the nucleic acid in preparations from thymus of aged bovines, stabilizes it against thermal denaturation⁵. The present communication reports on the behaviour of nucleoprotein and DNA preparations with different amounts of residual histone (prepared from individual bovine thymus) on thermal denaturation, and presents evidence for the stabilizing effect of histones on the DNA double helix.

Material and methods. Starting with individual bovine thymus, the nucleoprotein (method of CRAMPTON et al.⁶) and DNA in two degrees of purity (method of KAY et al.⁷, see also ⁵) were prepared each time. Histone content of the DNA preparations was calculated from the determination of arginine content (method of SAKAGUCHI⁸), and phosphate was determined by the method of JONES et al.⁹. Thermal denaturation was measured in 0.0025 M NaNO₃, pH 5.4, at a DNA concentration of about 20 µg/ml. For the nucleoproteins, which were prepared as gels in distilled water, dilution series were made with NaNO₃ solutions and a concentration giving an extinction at 260 mµ of about 0.300 chosen. The 'melting temperature' T_m was determined as usual from the plot of E_{260}/E_{250} (at 260 mµ) against temperature, T_m being the temperature of half-maximal denaturation. The atomic extinction coefficient with respect to phosphorus, $\epsilon(P)$, was calculated according to the formula given by CHARGAFF and ZAMENHOF¹⁰.

Results. Figure 1 shows an example of the denaturation curves obtained with the nucleoprotein, the 'crude' and the 'pure' DNA from consecutive purification steps of the same individual thymus material. The main distinctions in the behaviour of the different preparations are: (1) the higher the histone content, the higher the 'melting point' T_m , and (2) the higher the histone content, the smaller the increment of extinction at 260 mµ observed after heating to 95°C. This second characteristic is true for the comparison of the 'crude' and 'pure' DNA, but the intact nucleoproteins showed irregular behaviour, some preparations giving high values for E_{260}/E_{250} around 90°C (up to 1.5). The low electrolyte concentration chosen for these experiments (0.0025 M) gives sufficiently low T_m values for the 'pure' DNA preparations to demonstrate clearly the stabilizing effect of the additional histone retained in the 'crude' preparations. The Table shows these relationships in more detail for a number of experiments. In addition to the two points already mentioned, these figures demonstrate that the 'crude' preparations have greater $\epsilon(P)$ values than the 'pure', both in the native and in the denatured states. The increase in $\epsilon(P)$ during denaturation [$\Delta\epsilon(P)$] is significantly higher in the 'pure' DNA (+ 2278,

¹ With the aid of a grant from the Schweizerischer Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung and the aid of the Muscular Dystrophy Association of America to Prof. F. VERZAR.

² R. C. HUANG and J. BONNER, Proc. Nat. Acad. Sci., Wash. 48, 1216 (1962).

³ V. ALLFREY, V. C. LITTAU, and A. E. MIRSKY, Proc. Nat. Acad. Sci., Wash. 49, 414 (1963).

⁴ G. ZUBAY, in *The Nucleohistones* (Ed.: J. BONNER and P. T'so; Holden-Day Inc., San Francisco 1964), p. 95.

⁵ H. P. VON HAHN, Gerontologia 8, 123 (1963).

⁶ C. F. CRAMPTON, R. LIPSHITZ, and E. CHARGAFF, J. biol. Chem. 206, 499 (1954).

⁷ E. R. M. KAY, N. S. SIMMONS, and A. L. DOUNCE, J. Am. chem. Soc. 74, 1724 (1952).

⁸ S. SAKAGUCHI, J. Biochem., Tokyo 37, 231 (1950).

⁹ A. S. JONES, W. A. LEE, and A. R. PEACOCKE, J. chem. Soc. 1951, 623.

¹⁰ E. CHARGAFF and S. ZAMENHOF, J. biol. Chem. 173, 327 (1948).