

Avec les traitements temporaires, la végétativisation est observée. A cet effet, les œufs fécondés sont mis dans une solution de phénazone 0,0275 *M* à 0,0225 *M* et après un séjour de 18 à 20 h, les embryons sont transférés, après lavage, dans l'eau de mer normale où ils se développent en présentant les aspects caractéristiques de la végétativisation. La vésicule entodermique volumineuse à parois épaisses est entièrement évaginée, de forme simple ou différenciée en trois segments. La vésicule ectodermique très petite, à parois minces, est le plus souvent sphérique et dépourvue de spicules. L'épaississement apical est réduit à une aire minuscule. La vésicule ectodermique porte quelquefois des ébauches de bras soutenues par de grands spicules. On observe également des embryons moins végétativisés à forme plutôt caractéristique avec leur archentéron volumineux à parois épaisses, partiellement ou complètement invaginé. Ils sont dépourvus de bouche. Les embryons provenant d'une même femelle et traités dans les mêmes conditions présentent le plus souvent des degrés variés de végétativisation. Ces différences s'observent tout particulièrement lorsque la concentration en phénazone et la durée du traitement sont diminuées. Toutes conditions étant égales par ailleurs, les effets du chlorure de lithium sont plus homogènes que ceux de la phénazone. Les marges de concentrations efficaces étant 0,0275 *M* à 0,0225 *M* pour la phénazone et 0,0260 *M* à 0,0130 *M* pour le chlorure de lithium, sont donc plus larges pour ce dernier. La phénazone apparaît ainsi légèrement moins active que le chlorure de lithium. Des modifications portant sur la structure de la molécule de phénazone peuvent entraîner des changements d'activité. Il est ainsi possible de concevoir l'existence de dérivés plus actifs que la phénazone elle-même. Des recherches préliminaires nous ont déjà montré des modifications de l'activité chez certains dérivés de la phénazone tels que l'amino-4 phénazone et la diméthylamino-4 phénazone.

La phénazone, comme le lithium, modifie les propriétés des surfaces des cellules embryonnaires. Les embryons traités adhèrent en effet facilement entre eux. Cette adhérence peut être superficielle. Des remaniements intervenant au niveau des zones de contact entraînent fréquemment le fusionnement des parois et la coalescence des blastocèles. A l'origine, des contacts accidentels entre embryons permettent d'observer ce phénomène. Mais la fréquence des contacts peut être augmentée par une légère centrifugation et l'on peut ainsi obtenir des agrégats constitués d'une dizaine d'embryons. Les zones d'adhérence intéressent toujours les régions végétativisées. Ce phénomène est d'autant plus accentué que la végétativisation est plus forte. Ces faits constituent une utile indication sur les relations déjà maintes fois signalées entre la différenciation cellulaire et les changements structuraux des surfaces cellulaires. La phénazone et le lithium peuvent constituer d'intéressants agents pour analyser ces relations.

Examinons maintenant les hypothèses relatives au mode d'action de la phénazone. Cette substance peut agir soit directement, soit après transformation sous l'influence du métabolisme de l'embryon. Le fait que la phénazone agisse à concentrations relativement élevées plaide toutefois en faveur d'une action directe. Le rôle des produits de transformation de la phénazone ne peut toutefois être complètement écarté avant que ceux-ci aient été identifiés et leur activité étudiée séparément. Dans le cas le plus probable d'une action directe de la phénazone, on peut concevoir que la formation de combinaisons plus ou moins stables entre la phénazone et les protéines clefs en voie d'élaboration, en altérant leur configuration, dé-

tourne la détermination embryonnaire de son cours normal.

R. LALLIER

Centre National de la Recherche Scientifique, Villefranche-sur-Mer, le 4 mars 1959.

Summary

Phenazone employed in various concentrations on the eggs of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*, has a powerful vegetalizing effect on their development. The role of the interference between phenazone and synthetic process of specific proteins is considered.

Pyridoxine and Pyridoxal Phosphate Concentrations in the Liver and Heart of Thyroxinized Animals

It has recently been ascertained^{1,2} that an inhibiting action can be exerted, both *in vitro* and *in vivo*, by thyroxine upon certain enzymatic systems requiring pyridoxal-5-phosphate as a coenzyme. The synthesis of this coenzyme is performed by a kinase and calls for a normal availability of pyridoxal and adenosintriphosphate³. It may therefore be assumed that thyroxine might act both by lowering the availability of adenosintriphosphate^{4,5} and by stepping up the consumption, and therefore the requirements, of vitamin B₆ by the animal organism⁶.

As no data are found in the existing literature on the concentrations of pyridoxal phosphate in hyperthyreotic animal tissues, a research program was undertaken to assess the effects of thyroxin treatment on the pyridoxal-5-phosphate content of the liver and heart of rats.

Our experiments were performed on a total of 120 rats (average weight: 100 to 120 g), from our own breeding stock and kept, beginning one week before the test and until its completion, on a special diet, administered *ad libitum* and consisting of 16% casein, 6% maize oil, 4% salt mixture IV, 5% vitamins in lactose, and 67% sucrose. The lactose included adequate amounts of all vitamins, among which were choline and inositol. Vitamin B₆ (pyridoxine hydrochloride) was incorporated in the amount of 10 mg/100 g lactose, equal to 0.5 mg vitamin per 100 g of feed.

Thyroxinization was induced by intramuscular injection of sodium D,L-Thyroxine in an aqueous solution at the daily rate of either 0.1 or 0.2 mg/kg body weight. Two other lots of animals treated with this hormone dosage also received daily intramuscular injections of sodium adenosintriphosphate (5 mg/kg) or pyridoxine hydrochloride (8 mg/kg body weight) respectively.

At the end of a 10-day treatment, all the animals were killed by decapitation. Their liver and heart were removed aseptically, weighed, and tested for their pyridoxal phosphate and pyridoxine content by the methods de-

¹ G. LITWACK, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 93, 13 (1956).

² A. HORVATH, Nature 179, 968 (1957).

³ W. K. MAAS and D. G. NOVELLI, Arch. Biochem. Biophys. 43, 236 (1953).

⁴ E. MASCITELLI-CORIANDOLI and R. BOLDRINI, Nature 179, 1196 (1957).

⁵ L. ANGELUCCI, R. BOLDRINI, and E. MASCITELLI-CORIANDOLI, Nature 181, 419 (1958).

⁶ V. A. DRILL and R. OVERMAN, Amer. J. Physiol. 135, 474 (1942).

Pyridoxine (Vitamin B₆) and Pyridoxal Phosphate in the Liver and Heart of thyroxinized Rats treated with Vitamin B₆ and ATP
(means alues $\pm$ S.E.)

Treatment	D, L-Thyroxine mg/kg	Organ	Pyridoxine		Pyridoxal Phosphate	
			Concentration	Total Content	Concentration	Total Content
			$\mu\text{g/g}$	μg	$\mu\text{g/g}$	μg
—	—	Liver	8.13 ± 0.41	44.23 ± 1.98	1.55 ± 0.08	7.23 ± 0.39
—	0.1	Liver	4.98 ± 0.26	27.93 ± 1.31	0.79 ± 0.03	4.43 ± 0.16
—	0.2	Liver	3.66 ± 0.20	20.86 ± 1.04	0.56 ± 0.02	3.19 ± 0.11
Vitamin B ₆	0.2	Liver	6.71 ± 0.32	37.04 ± 1.43	0.65 ± 0.02	3.58 ± 0.14
ATP	0.2	Liver	3.80 ± 0.19	21.09 ± 0.87	1.09 ± 0.06	4.14 ± 0.22
—	—	Heart	4.92 ± 0.27	2.21 ± 0.16	1.08 ± 0.04	0.48 ± 0.02
—	0.1	Heart	4.06 ± 0.22	2.15 ± 0.12	0.55 ± 0.01	0.29 ± 0
—	0.2	Heart	3.13 ± 0.18	2.06 ± 0.07	0.28 ± 0	0.18 ± 0
Vitamin B ₆	0.2	Heart	4.75 ± 0.25	3.04 ± 0.09	0.31 ± 0.01	0.19 ± 0
ATP	0.2	Heart	3.22 ± 0.15	1.96 ± 0.08	0.66 ± 0.02	0.40 ± 0.02

veloped by BOXER *et al.*⁷ and PARRISH *et al.*⁸ respectively.

The results tabulated are referred to 12 subjects from each lot.

It will be observed that, percentage-wise, the decrease in tissue concentrations of pyridoxal-5-phosphate is greater in the liver than in the heart, and that slighter changes have occurred in the pyridoxine rates.

This seems to lead to the obvious conclusion that the drop in the tissue contents of pyridoxal phosphate is the result of two separate causes: a reduction in vitamin availability and a reduction in the amounts of adenosintri-phosphate, as determined by the dissociation, induced by thyroxine, of the oxydative phosphorylation processes.

This view was confirmed by the results of such tests as were performed on those animals which had been treated with either pyridoxine or sodium adenosintri-phosphate. As a matter of fact, the pyridoxine treatment was found to promote a fairly marked increase in vitamin concentrations in both the heart and liver tissues, without however inducing any significant increase in pyridoxal-5-phosphate concentrations. Conversely, no changes are induced by adenosintri-phosphate in the pyridoxine contents, while the pyridoxal phosphate concentrations are increased to a significant extent.

Since the availability of high-energy phosphoric esters in thyroxinized rats can be enhanced by adenosintri-phosphate⁴, the conclusion may be drawn that the results observed should be attributed to an improvement in phosphorylation processes.

The fact is well known that the coenzymatic functions of vitamins may be reduced by any of the following four main factors: (a) low vitamin availability resulting from either stepped-up consumption or low-vitamin diets, (b) changes in the vitamin-absorption capacity of either the stomach or intestine, (c) reduced conversion of free vitamins into the corresponding coenzymes, or (d) inhibition of the coenzymatic activity. Factors (a) and (c) appear to be the ones most likely to come into play in the case of thyroxine.

Such an inhibiting action as would, according to HORVATH², be exerted by thyroxine on cysteine-desulph-hydase, pyruvic-glutamic transaminase, serine, and threonine-dehydrogenase would therefore appear to be confirmed by the results of our research, the only discrepancy being that HORVATH found no appreciable changes in the

glutamic-oxalacetic-transaminase activity, which also required pyridoxal-5-phosphate as a coenzyme and, lacking this, should have been found to be depressed to a fairly considerable extent. This might however be explained by the possible 'adaptive' properties of the enzymes, meaning that if thyroxine lowers the tissue concentration of pyridoxal phosphate, it is no less true that it increases the amount of transaminable ketoacids in the organism, i.e. the substratum on which the glutamic-oxalacetic transaminase exerts its action.

E. MASCITELLI-CORIANDOLI and R. BOLDRINI

Farmavigor S.p.A., Research Department, Milan (Italy), February 24, 1959.

Riassunto

Negli animali trattati con tiroxina si rileva una considerevole diminuzione del contenuto in piridossale fosfato del fegato e del cuore. Tale diminuzione sembra principalmente connessa ad un difetto dei processi di fosforilazione piuttosto che ad una carenza di piridossina.

Der Serotoningehalt im Blut bei Magenresezierten

Bekanntlich ist die Bildung von Serotonin (5-Hydroxytryptamin) beim Carcinoidsyndrom gesteigert. Die Konzentrationen im Tumorgewebe und im Blut sowie die Ausscheidung des Abbauproduktes 5-Oxyindoleessigsäure im Harn sind erhöht¹. An klinischen Symptomen stehen hierbei Durchfälle und Darmkoliken im Vordergrund. Exogen zugeführtes Serotonin und 5-Hydroxytryptophan stimulieren beim Menschen die Dünndarmmotilität² und hemmen gleichzeitig die Magen- und Dickdarmbewegungen (SCHMID und KINZELMEIER³).

Der Nachweis einer *verminderten* Serotoninbildung gelang bisher lediglich in einem einzigen Fall mit ausge-

¹ F. LEMBECK, *Nature* 172, 910 (1953). – A. SJOERDSEMA, H. WEISSBACH und S. UDENFRIEND, *Amer. J. Med.* 20, 520 (1956). – P. J. D. SNOW, J. E. LENNARD-JONES, C. CURZON und R. S. STACEY, *Lancet* ii, 1955, 1004. – J. WALDENSTRÖM, *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 62, 652 (1956).

² B. J. HAVERBACK, C. A. M. HOGGEN, N. C. MORAN und L. L. TERRY, *Gastroenterology* 32, 1058 (1957). – B. J. HAVERBACK und P. J. D. DAVIDSON, *Gastroenterology* 35, 570 (1958). – T. R. HENDRIX, M. ATKINSON, J. A. CLIFTON und F. J. INGELFINGER, *Amer. J. Med.* 23, 886 (1957). – E. SCHMID und H. KINZELMEIER, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 236, 51 (1959); *Gastroenterologia* (im Druck).

⁷ G. E. BOXER, M. P. PRUSS, and R. S. GOODHART, *J. Nutr.* 63, 623 (1957).

⁸ W. P. PARRISH, H. W. LOY, and O. L. KLINE, *J. Ass. off. agric. Chem., Wash.* 39, 157 (1956).