

min per g tissue (cpm/g). With the ^{14}C -histidine used, $1\text{ }\mu\text{g}$ ^{14}C -histamine formed corresponded to about 5000 cpm.

For comparison with the values for bone marrow, the histamine-forming capacities of several adult rat tissues, as determined in this laboratory, are given in approximate figures (cpm/g): liver (embryonic) 150000; liver 50; skin 50; stomach 30000; granulation tissue 2000; wound tissue 1500; lung 1000.

Because of the very high rate of histamine formation and the great combined mass of the bone marrow, a substantial proportion of the total-body histamine formation resides in this tissue. The present study, which so far has not included a cytological examination of the number and type of cells actually in mitosis, supports previous evidence from this laboratory of a possible relationship between histamine-forming capacity and certain types of rapid tissue growth. It remains to be seen to what extent

the activity is confined to basophil granulocytes, as these cells have been shown to contain histidine decarboxylase in man^{4,5}.

Zusammenfassung. Das Knochenmark der Ratte hat ein hohes Vermögen zur Histaminbildung durch Dekarboxylierung von Histidin.

G. KAHLSON and ELSA ROSENGREN

Institute of Physiology, University of Lund (Sweden), January 24, 1963.

⁴ S. E. LINDELL, H. RORSMAN, and H. WESTLING, *Acta allergologica* 16, 216 (1961).

⁵ W. J. HARTMAN, W. G. CLARK, and S. D. CYR, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 107, 123 (1961).

Drug Induced Skeletal Malformations in the Rat

Various animal experiments¹⁻¹¹ on the teratogenic action of thalidomide have been reported. To date, gross malformations have only been observed in the rabbit^{1,2,5,8,9} and in the mouse^{6,10}. No positive findings, other than increased mortality and reabsorption sites^{4,6}, or comparative studies of other hypnotic agents, have been reported in the rat.

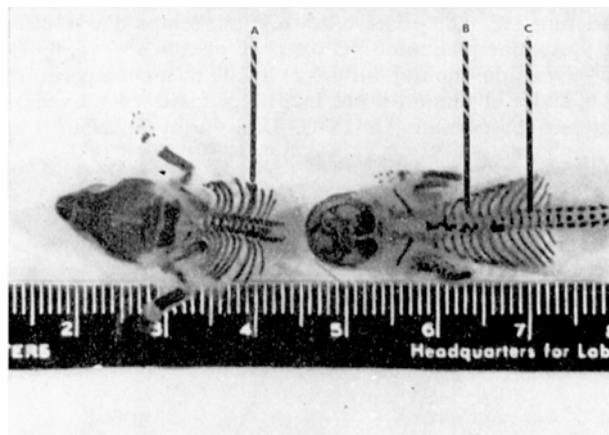
Groups of 15 and 20 Sprague-Dawley rats (Charles River Breeding Laboratories) were placed on a diet (Purina Laboratory Chow) containing thalidomide (1% and 2%), phenobarbital (0.16%), methaqualone (0.8%), and glutethimide (0.4%) for three days prior to mating. Both male and female animals received the test agent. When about two weeks pregnant, the female animals were removed and permitted to deliver. They received the treatments for the full gestation period. Stillborn and animals dying up to seven days were carefully examined for defects and preserved. The survivors were weaned.

One hundred and three pregnant animals were studied and of 233 dead offspring, 137 were examined for skeletal malformations.

Offspring mortality was highest in the phenobarbital (78%) and thalidomide groups (29% and 42% respectively) as compared to the controls (6%). Mortality was less with methaqualone (23%) and glutethimide (18%). Litter size was decreased in the phenobarbital and thalidomide treated groups suggesting uterine reabsorption.

Examination of the alizarin red stained skeletons¹² revealed abnormalities of a kind observed with other teratogens¹³. These included multiple occurrence of double vertebral centra (Figure). This was highest with methaqualone (9/9), thalidomide 2% (30/48) and phenobarbital (20/25) and lowest with glutethimide (4/17). Extra ribs were observed on the first lumbar vertebrae (L 1) in eight animals on methaqualone and in two animals each on phenobarbital and thalidomide 1%. In the thalidomide 2% group three animals showed a marked branching and fusion of the ribs (Figure). Another common finding in the thalidomide treated animals was 'scrambled' sternabrae in 22 instances (Figure). With phenobarbital, 5 similar malformations were observed. In the skull, inhibition of ossification, manifest by abnormally wide sutures between the cranial bones, was observed. This was common to all the phenobarbital-treated animals but only occurred in 2 animals each on

thalidomide 2% and glutethimide. Control animals showed minor deviations—one offspring had a single vertebral malformation and an extra ossification centre on L 1. Further indication of the drug effect was obtained by examination of a second litter from the same mothers on a drug-free diet. Mortality in the second litter was not different from controls and skeletal malformations were either absent (e.g. phenobarbital) or markedly reduced both in incidence and severity. These results confirm the induction of malformations produced by the agents tested.



Alizarin red stained skeleton of 1 day old Sprague-Dawley rats. (a) branched and fused ribs, (b) 'scrambled' sternabrae and (c) double vertebral centra. Scale in cm.

¹ G. F. SOMERS, *Lancet* I, 912 (1962).

² G. PLIESS, *Lancet* I, 1128 (1962).

³ K. E. V. SPENSER, *Lancet* I, 100 (1962).

⁴ G. A. CHRISTIE, *Lancet* II, 249 (1962).

⁵ M. J. SELLER, *Lancet* II, 249 (1962).

⁶ A. GIROUD, H. TUCHMAN-DUPLESSIS, and L. MERCIER-PAROT, *Lancet* II, 298 (1962).

⁷ F. KEMPER, *Arzneimittelforsch.* 12, 640 (1962).

⁸ D. FELISATI, *Lancet* II, 725 (1962).

⁹ C. LUTWAK-MANN and M. F. HAY, *Brit. Med. J.* II, 944 (1962).

¹⁰ D. H. M. WOOLLAM, *Brit. Med. J.* II, 920 (1962).

¹¹ W. HEINE and H. KIRCHMAIR, *Dtsch. Ges. Wesen* 34, 1429 (1962).

¹² A. B. DAWSON, *Stain Techn.* 1, 123 (1926).

¹³ L. MURPHY, C. P. DAGG, and D. A. KARNOFSKY, *Pediatrics* 19, 701 (1957).

Other experiments have confirmed the observation of malformations produced in the rabbit by thalidomide^{1,3,5,6,8}. We have not demonstrated any gross defects following glutethimide treatment in this species.

While our findings are concerned with skeletal malformations, it does not seem likely that the defects observed were the sole cause of the increased mortality. It must be further emphasized that these results do not necessarily suggest that the same compounds are teratogenic in the human.

Résumé. Des malformations squelettiques: dyssymphyses sternales, des anomalies vertébrales, crâniennes et costales ont été observées, chez des rejetons de rates de souche Sprague-Dawley, traitées avec de la thalidomide, du phénobarbital, de la méthqualone et du glutéthimide pendant toute la période de gestation.

J. D. McCOLL, M. GLOBUS, and S. ROBINSON

Research Laboratories, Frank W. Horner Limited, Montreal (Canada), November 26, 1962.

L'effet de la basse température sur l'incorporation de précurseurs des acides nucléiques et des protéines dans les cellules du méristème racinaire de *Vicia faba*

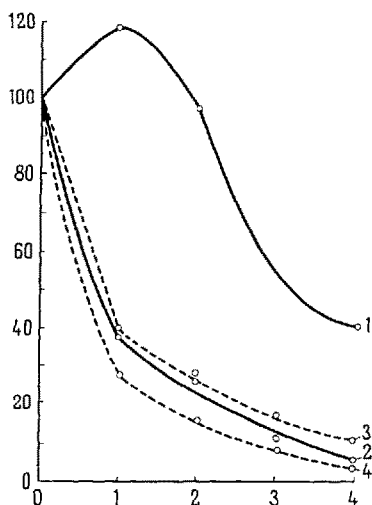
Nous avons comparé, par autoradiographie, l'incorporation de la thymidine-³H dans l'ADN, de l'adénine-8-¹⁴C dans l'ARN et l'ADN (digestion à la ribonucléase) et de la phénylalanine-2-¹⁴C dans les protéines des cellules du méristème racinaire de *Vicia faba*. Les racines ont été fixées dans un mélange alcool absolu-acide acétique glacial (3:1). Les coupes à la paraffine ou les frottis ont été recouverts d'émulsion Ilford G 5 «in gel form» d'après FICQ¹.

Les plantes soumises à l'action de la basse température (4°C) pendant 1, 2, 3 et 4 jours ont été incubées avec des solutions aqueuses de précurseurs radioactifs (thymidine-³H 0,66 µC et 0,013 µM/ml, temps d'exposition 5 jours, adénine-¹⁴C 0,13 µC et 0,024 µM/ml, temps d'exposition 2 jours, phénylalanine-¹⁴C 0,155 µC et 0,06 µM/ml, temps d'exposition 4 jours) durant 24 h, à la même température. Le matériel témoin a été incubé pendant 24 h avec les mêmes précurseurs, à 18°C. Dans le cytoplasme, l'in-

corporation diminue à mesure qu'on prolonge le traitement à 4° (Figure). Après 4 jours à cette température, l'incorporation de l'adénine est réduite 15 fois, celle de la phénylalanine 22 fois. Dans les noyaux, l'incorporation de la thymidine et de l'adénine dans l'ADN devient presque nulle, l'incorporation de la phénylalanine diminue 10 fois, mais l'incorporation de l'adénine dans l'ARN nucléaire n'est réduite que 3 fois.

Dans les noyaux des plantes prétraitées 1 et 2 jours à 4°, l'incorporation de la thymidine et de la phénylalanine diminue considérablement, tandis que l'incorporation de l'adénine est plus intense (Figure). Le rapport de radioactivité entre le noyau et le cytoplasme augmente en faveur du noyau; il rappelle celui du matériel témoin incubé seulement 15 min avec l'adénine-¹⁴C².

Le marquage intense de l'ARN nucléaire est caractéristique des incubations courtes avec les précurseurs radioactifs de l'ARN et précède le transfert de l'ARN radioactif au cytoplasme²⁻¹⁰; il paraît que l'accumulation de l'ARN dans les noyaux des plantes soumises à l'action de la basse température puisse être liée à l'inhibition du transfert de «messenger RNA». Afin de constater le comportement de l'ARN nucléaire à la température normale, nous avons déterminé la localisation des traces dans les racines des plantes marquées par un séjour dans l'adénine-¹⁴C à 4°, puis placées dans un milieu non radioactif à 18°. Nous n'avons obtenu de résultats satisfaisants (pas d'augmentation considérable de la radioactivité totale) que dans l'expérience suivante: les plantes prétraitées 3 jours à 4° ont été incubées pendant 2 h avec l'adénine-¹⁴C (1,3 µC et 0,25 µM/ml) à la même température et ensuite placées au milieu non radioactif, à 4°. Au bout du 4e jour à 4°, quelques racines ont été fixées (temps 0, Tableau), les autres ont été transférées à 18° et fixées après 1, 3 et 5 h; les autoradiogrammes ont été développés après 24 h d'exposition. Au cours de la première heure à 18°, la réserve d'adénine-¹⁴C est épuisée et la radioactivité totale demeure au niveau constant pendant plusieurs heures. La répartition du matériel radioactif



Influence de la basse température sur l'incorporation d'adénine-¹⁴C et de phénylalanine-¹⁴C dans les cellules du méristème racinaire de *Vicia faba*. Ordonnée: le changement de la radioactivité; le nombre de traces dans le matériel témoin est pris comme 100. Abscisse: la durée de traitement à 4°. (1) l'incorporation de l'adénine-¹⁴C dans le nucléole et dans le noyau. (2) l'incorporation de l'adénine-¹⁴C dans le cytoplasme. (3) l'incorporation de la phénylalanine-¹⁴C dans le nucléole et dans le noyau. (4) l'incorporation de la phénylalanine-¹⁴C dans le cytoplasme.

¹ A. FICQ, Arch. Biol. 66, 286 (1955).

² M. J. OLSZEWSKA et B. RODKIEWICZ, Acta Soc. Bot. Pol., sous presse.

³ M. AMANO et C. P. LEBLOND, Exp. Cell Res. 20, 250 (1960).

⁴ L. E. FEINENDEGEN, V. P. BOND, W. W. SHREEVE et R. B. PAINTER, Exp. Cell Res. 19, 443 (1960).

⁵ L. GOLDSTEIN et J. MICOU, J. biophys. biochem. Cytology 6, 301 (1959).

⁶ M. J. OLSZEWSKA, F. DE VITRY et J. BRACHET, Exp. Cell Res. 24, 58 (1961).

⁷ R. P. PERRY, Exp. Cell Res. 20, 216 (1960).

⁸ J. L. SIRLIN et T. R. ELSDALE, Exp. Cell Res. 18, 268 (1959).

⁹ P. S. WOODS, Brook. Symp. Biol. 12, 153 (1959).

¹⁰ M. ZALOKAR, Exp. Cell Res. 19, 559 (1960).