

that of adrenaline or noradrenaline. The most likely reason for such results is that adrenaline and noradrenaline, released following an injection of metaraminol, are unable to act on the blocked adrenergic receptors.

Zusammenfassung. Bretylium und Guanethidin potenzieren den Pressoreffekt von Metaraminol, Adrenalin und Noradrenalin, während Dibenzylin die Wirkung dieser Amine auf den Blutdruck der Ratten hemmt. Dies be-

stätigt die Vorstellung, dass Metaraminol eine Hypertension überwiegend indirekt durch Befreiung von endogenen Katecholamindepots auslöst.

D. STOJANOVA, E. GLAVAŠ,
T. TRAJKOV, and B. NIKODIJEVIČ

*Department of Pharmacology, Medical Faculty,
University of Skopje (Yugoslavia), July 24, 1964.*

Protection contre l'épilation par la cystamine après irradiation locale chez le rat

SMOLIAR¹ a étudié l'effet radioprotecteur de la cystéamine chez le rat en fonction du temps séparant l'injection du protecteur du début de l'irradiation totale aux rayons X; son test était la mortalité. Il a montré que l'effet de la cystéamine faible après 2 min, atteint un maximum 45 min après l'injection en passant par un plateau entre 10 et 30 min, pour retomber ensuite fortement après 60 min. LELIÈVRE et BETZ² dosant les groupements thiols et disulfures libres et fixés sur des protéines dans le sang et les tissus après injection de cystamine, ont trouvé que ces groupements se fixent rapidement sur les protéines mais que la quantité fixée diminue rapidement, tandis que les groupements thiols et disulfures libres augmentent progressivement jusqu'à atteindre un maximum dans le sang entre 30 et 45 min. Cette réapparition de groupements soufrés libres dans le sang pourrait peut-être être mise en corrélation avec l'évolution du pouvoir protecteur après injection de cystéamine trouvée par SMOLIAR¹. Etant donné l'importance de ces observations au point de vue de l'étude de la protection par la cystéamine et la cystéamine nous avons recherché l'action protectrice de la cystamine en fonction du temps en utilisant comme test l'effet épilatoire des rayons X après irradiation locale; ceci d'autant plus que BACQ et HERVE³ ainsi que GRAYEVSKY et al.⁴ n'ont pas trouvé chez la souris les mêmes modifications du degré de protection lorsqu'on fait varier le temps entre l'injection et l'irradiation, de même que BETZ et al.⁵ après injection de cystamine chez le rat, ces différents auteurs ayant tous utilisé la mortalité comme critère.

Techniques. Les expériences ont été faites sur des rats albinos Wistar pesant environ 300 g. Les rats sont épilés sur leur face ventrale au moyen d'une pâte épilatoire contenant de thioglycolate de calcium. On obtient ainsi une surface glabre. Si les poils étaient en phase de croissance au moment de l'épilation, ils repoussent dans les 8 jours. Ces animaux sont éliminés.

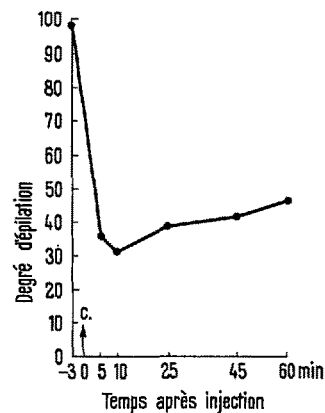
Seuls sont gardés pour les expériences des animaux chez lesquels les poils repoussent en même temps sur toute la plage dénudée après une période de latence. On peut être alors certain que tous les poils se trouvent exactement dans la même phase de croissance à savoir au début de la phase anagène VI selon la terminologie de CHASE⁶. Par l'épilation on a éliminé les poils en phase de repos qui restent implantés dans les follicules pileux durant plusieurs cycles pileux successifs.

Les rats sont attachés en décubitus dorsal et irradiés à 6 endroits différents sur des champs de 1 cm de diamètre situés sur la ligne ventrale médiane. Une irradiation est

faite immédiatement avant l'injection intrapéritonéale de 146 mg/kg⁷ de cystamine (2HCl). Les cinq autres champs sont irradiés respectivement 5, 10, 25, 45 et 60 min après l'injection de cystamine.

L'ordre des champs irradiés est tiré au sort. Après les irradiations, les poils sont colorés en noir au moyen d'une teinture capillaire suivant la technique de BORUM⁸. Ceci permet de mieux apprécier le moment et le degré d'épilation et de repousse des poils par contraste avec les zones non irradiées. L'irradiation de six champs différents chez un même animal a l'avantage que celui-ci fournit son propre contrôle.

L'expérience a porté sur 50 rats, elle comportait donc 300 irradiations. Les rats ont reçu des doses variant entre 600 et 1000 R, la dose d'irradiation étant naturellement



Degré d'épilation (ordonnée) exprimée en unités arbitraires en fonction du délai entre l'injection i.p. de cystamine et l'irradiation locale (abscisse). Le temps est compté à partir de l'injection de cystamine (temps 0).

¹ V. SMOLIAR, C.R. Soc. Biol. 156, 1202 (1962).

² P. LELIÈVRE et E. BETZ, C.R. Soc. Biol. 153, 181 (1959).

³ Z. BACQ et A. HERVE, Bull. Acad. Méd. Belg. VI série 17, 13 (1952).

⁴ E. GRAYEVSKY, I. SHAPIRO, M. KONSTANTINOVA et N. BARAKINA, in *The Initial Effects of Ionizing Radiations on Cells* (Ed. R. HARRIS; Academic Press, London 1961).

⁵ E. BETZ, J. MEWISSEN et P. LELIÈVRE, Int. J. Rad. Biol. 4, 231 (1961-62).

⁶ H. CHASE, Physiol. Rev. 34, 113 (1954).

⁷ 146 mg de cystamine (2HCl) Labaz correspondent à 100 mg de cystamine base.

⁸ K. BORUM, Acta path. microbiol. scand. 34, 521 (1954).

la même sur tous les champs d'un même animal. Le fait d'employer plusieurs doses permet de mieux graduer les résultats.

Les conditions d'irradiations ont été les suivantes: 50 kV – filtre 1 mm Al – C.D.A. 0,8 mm Al – 20 mA – D.F. 10 cm – champ 1 cm de diamètre – débit 852 R/min.

Résultats. Les résultats sont représentés dans la Figure. Chaque point est une moyenne de 50 observations. Les unités sont arbitraires; 100 est considéré comme épilation totale et 0 comme absence d'épilation. Sur chaque animal l'intensité de l'épilation a été estimée à plusieurs reprises en comparant les champs entre eux à partir de 8 jours après l'irradiation. Comme on peut le voir sur la Figure, la protection atteint un maximum 10 min après l'irradiation pour diminuer ensuite lentement. Après 60 min il persiste encore une protection appréciable. Les résultats correspondent plus à ceux de BACQ⁹, de GRAYEVSKY et al.⁴ étudiant la mortalité chez la souris et à ceux de BETZ et al.⁵ chez le rat, qu'à ceux de SMOLIAR¹ avec la cystéamine chez le rat. Les résultats ne sont naturellement pas tout à fait comparables, Smoliar ayant utilisé

la cystéamine comme protecteur et le taux de mortalité comme critère de protection¹⁰.

Zusammenfassung. An Cystamin-injizierten Ratten (i.p.) wurde das Ausmass der Schutzwirkung, in zeitlicher Abhängigkeit, bei lokaler Röntgenbestrahlung, auf das Haarwachstum untersucht. Eine maximale Schutzwirkung wurde nach 10 min gefunden. Sie nimmt von da an langsam ab und ist selbst 60 min nach der Cystamininjektion noch nachweisbar.

P. VAN CANEGHEM

Laboratoire de Pathologie et Thérapeutique générale, de Radiobiologie, de Recherches pour la Protection des Populations Civiles, Université de Liège (Belgique), le 7 juillet 1964.

⁹ Z. BACQ, Bull. Acad. Méd. Belg. VI sér. 18, 426 (1953).

¹⁰ Ce travail a été réalisé partiellement grâce au Contrat Euratom no. 006-61-12-BIOB.

Antibody Production in Rabbits Following Immunization *via* the Lateral Ventricle of the Brain

In a previous paper¹ we have shown that repeated injections of heterologous erythrocytes into the lateral ventricle of the rabbit brain induce significant haemolysin production in the blood, whereas very weak or no antibody activity could be detected in the cerebrospinal fluid. It has been assumed that slow clearance of antigen from the cerebrospinal fluid to blood may act as a prolonged stimulus to antibody-forming cells. In the following study, small amounts of foreign protein were introduced into the lateral ventricle of the rabbit brain; antibody formation was estimated and compared with that produced by conventional routes of immunization.

Young adult chinchilla rabbits weighing 2.6 to 3 kg were used, and assigned to three groups. Group I consisted of 18 rabbits; each animal had a cannula permanently inserted into the lateral ventricle of the brain². The rabbits of this group were injected through the cannula with 0.1, 1.0 and 10 mg of human γ -globulin. Groups II and III were immunized intravenously and subcutaneously respectively; an immunization schedule identical to that of Group I was used. Twenty days after primary immunization, each rabbit received a single intraventricular, intravenous or subcutaneous booster injection of 1.0 or 10 mg of human γ -globulin. Blood samples were obtained 5, 8 and 11 days after both primary and secondary immunization. Anti-human γ -globulin activity of the sera was estimated by passive haemagglutination, using formalinized and tanned sheep erythrocytes as described elsewhere³. All antibody estimations were performed in duplicate. Control sera obtained from all rabbits prior to immunization were also tested for the presence of anti-human γ -globulin antibody. On the eleventh day after booster injection, cerebrospinal fluid was withdrawn from the cisterna magna with special precautions not to contaminate the cerebrospinal fluid with blood. Passive haemagglutination tests were also done on the cerebrospinal fluids. The brains in which cannulae were inserted were carefully inspected at autopsy in order to

ascertain whether infection occurred at the site of implantation.

The results of the passive haemagglutination studies are summarized in the Table. The primary immune response to intraventricular administration of the lower doses of human γ -globulin (0.1 and 1.0 mg) was more consistently detected than that noted in Groups II and III. Thus, eight of eleven rabbits of Group I produced antibody earlier and in significantly higher titer when compared with Group II (four of eleven) and Group III (one of thirteen). The primary responses were comparable in rabbits immunized intravenously and intraventricularly when a 10 mg dose of antigen was employed. Cerebrospinal fluid from rabbits of all experimental groups did not exhibit passive haemagglutination activity, either by the method described or by reaction of the fluid with human Rh(D) red blood cells coated with incomplete anti-D (indirect Coombs reaction).

It is well known that various routes of protein antigen administration may lead to quantitative differences in antibody formation. Although the low antibody titers were obtained in the present study, nevertheless the results show that the injection of antigen into the lateral ventricle of the rabbit brain represents an effective mode of stimulating the antibody-forming apparatus without using adjuvant materials, particularly when small doses of antigen are employed. These findings confirm those reported previously¹ on haemolysin production in cannulated animals. In addition, others have shown⁴ that smaller quantities of antigen may be required to induce

¹ B. D. JANKOVIČ, M. DRAŠKOCI, and K. ISAKOVIČ, Nature 191, 288 (1961).

² W. FELDBERG and S. L. SHERWOOD, J. Physiol. 120, 3P (1953).

³ B. D. JANKOVIČ, B. H. WAKSMAN, and B. G. ARNASON, J. exp. Med. 116, 159 (1962).

⁴ K. WESSELY, Münch. med. Wschr. 58, 1713 (1911). – R. THOMPSON and H. OLSON, J. Immunol. 65, 633 (1950). – A. C. BREBAART and J. JAMES-WITTE, Am. J. Ophthal. 48, 37 (1959). – J. J. PARKS, H. M. LEIBOWITZ, and A. E. MAUMENEY, J. Immunol. 87, 199 (1961).