

genase to the total amount of -SH groups is greater in the cells of HENLE's loops than in the convoluted tubules. Consequently, the -SH groups of succinic dehydrogenase in the cells of HENLE's loops are more apt to be blocked by mercurial compounds resulting in the pronounced inhibition of this enzyme in the corresponding segments of the nephrons where the concentrative reabsorption of water is believed to begin.

This investigation has been supported by a grant from the Sigrid Jusélius Foundation.

A. TELKKÄ and K. K. MUSTAKALLIO

Department of Anatomy, University of Helsinki,
December 11, 1953.

Zusammenfassung

Es wurde das histochemische Vorkommen und die Verbreitung der Sulfhydrylgruppen sowie die Aktivität der Bernsteinsäuredehydrogenase in den Nieren von Ratten nach Administration von Novurit bestimmt. Die Sulfhydrylgruppen zeigten keine Veränderungen, die Aktivität der Bernsteinsäuredehydrogenase wurde jedoch herabgesetzt, besonders in den Zellen der Henle-schen Schleifen.

Prolongation of Clotting Time in the Dormant Bat (*Myotis lucifugus*)

The bat is unique among mammals in that it is essentially poikilothermic when at rest¹. The rates of the heart beat², blood flow³ and oxygen consumption⁴ in the resting bat also vary with the environmental temperature. At low external temperature the red blood cells pass through the vessels either in clumps or rouleaux, but thrombi and stoppage of flow are not seen⁵. At ordinary room temperature (23°C) blood flow is similar to that seen in other mammals. We sought to determine whether changes in the coagulation time of the blood accompany the markedly different physiological states induced by altering the environmental temperature.

Brown bats (*Myotis lucifugus*) were taken from a summer colony in the attic of a farm house in Indiana during the 2nd week of September. The minimum (night) and maximum (day) environmental temperatures during this period were 10°C and 30°C, respectively. Blood clotting times were determined by the capillary tube technic on samples obtained from puncture of a large vein in the web between the tail and hind legs and from the cut carotid artery. Some bats were studied at the time of collection. Other bats were brought to the laboratory and placed in a refrigerator at 5°C. After 16 and 50 days blood samples were taken from some of these immediately upon removal from the refrigerator and from others several days after removal from the cold and maintenance in a room at 23°C.

The results (see Table) clearly show that clotting time is markedly prolonged as a result of exposure of the bat to low temperature and that it becomes short once again when the animal is returned to a warm environment. (There were no significant differences between the clotting times of samples from the tail vein and those from the carotid artery in the same animal.)

¹ M. HALL, *The Cyclopedia of Anatomy and Physiology* (Edit. R. B. TODD, London, 1836). – R. J. HOCK, *Biol. Bull.* 101, 289 (1951).

² M. HALL, *The Cyclopedia of Anatomy and Physiology* (Edit. R. B. TODD, London, 1836).

³ D. E. SMITH, Unpublished observations.

⁴ R. J. HOCK, *Biol. Bull.* 101, 289 (1951). – D. E. SMITH, Unpublished observations.

Table.—Blood Clotting Time

Time of test	No. of bats	Minimum	Maximum	Average
On collection	10	1.5'*	24'*	7.4'*
On 16 th day at 5°C	4	72'	275'	149'
On 50 th day at 5°C	2	170'	210'	190'
On 3 rd day at 23°C after removal from 5°C on 16 th day	3	8'	40'	26'
On 2 nd day at 23°C after removal from 5°C on 50 th day	4	10'	30'	19'

* Combination of clotting times from carotid artery and tail vein samples.

We interpret these findings as indicating an adaptive mechanism which prevents thrombus formation during dormancy. Similar results in the hibernating hedgehog¹ and hamster² and in the estivating ground squirrel³ have been interpreted in the same fashion. The present results and those of the experiments just cited indicate that this mechanism is common to all types of mammals that can enter a state of dormancy.

D. E. SMITH, YVETTE S. LEWIS,
and G. SVIHILA

Argonne National Laboratory, Lemont, Ill., U.S.A.,
January 18, 1954.

Résumé

En été, la durée de coagulation du sang augmente notablement si l'on soumet la chauve-souris à une basse température (5°C); elle diminue dès qu'on replace l'animal dans un milieu chaud (23°C). Ceci indique l'existence d'un mécanisme adaptif qui prévient la formation du thrombus.

¹ P. SUOMALAINEN and E. LEHTO, *Exper.* 8, 65 (1952).
² A. SVIHILA, H. BOWMAN, and R. PEARSON, *Science* 115, 272 (1952).
³ A. SVIHILA, H. R. BOWMAN, and R. RITENOUR, *Science* 114, 298 (1951).

Etude de la consommation d'oxygène et de la teneur en acide désoxyribonucléique du foie à divers âges chez le rat

La diminution de la consommation d'oxygène des tissus et des organes avec l'âge a été constatée par divers auteurs parmi lesquels nous citerons HAWKINS¹, PEARCE², KAGANOVSKAYA³, CARROLL⁴, ROSENTHAL, BOWIE et GONER⁵, SCHULER⁶, LAZOVSKAYA⁷, CHEYMOL et PELOU⁸. Il convient cependant de rappeler que dans tous ces cas la quantité d'oxygène consommé a été rapportée soit au poids frais, soit au poids sec. Or la constitution des tissus elle-même varie avec l'âge et on

¹ J. A. HAWKINS, *J. Gen. Physiol.* 11, 645 (1928).
² J. M. PEARCE, *Amer. J. Physiol.* 114, 255 (1936).
³ S. N. KAGANOVSKAYA et I. L. KAN, *Biokhimiya* 2, 494 (1937).
⁴ M. J. CARROLL, *Arch. F. exp. Zellforsch.* 22, 592 (1939).
⁵ O. ROSENTHAL, M. A. BOWIE et W. G. GONER, *J. Cell. e Comp. Physiol.* 17, 221 (1941).
⁶ W. SCHULER, *Helv. physiol. Acta* 1, 105 (1943).
⁷ L. N. LAZOVSKAYA, *Biokhimiya* 8, 171 (1943).
⁸ J. CHEYMOL et A. PELOU, *C. r. Soc. Biol.* 138, 91 (1944).

ne saurait admettre que le même poids correspond aux mêmes constituants chez un sujet jeune, adulte ou âgé. Partant de ces considérations, il nous a paru intéressant d'examiner la consommation d'oxygène du foie en fonction de l'âge, en rapportant les valeurs à l'acide désoxyribonucléique (A.D.N.). Nous avons montré en effet que si l'on rapporte les quantités d'oxygène consommé par divers tissus à l'A.D.N., on peut saisir des phénomènes qui passent inaperçus lorsqu'on exprime les résultats par rapport au poids frais ou au poids sec selon le mode classique¹. De plus, connaissant la quantité d'A.D.N. correspondant à un groupement diploïde de chromosomes qui est très approximativement celle des leucocytes facile à déterminer, on peut suivre une caractéristique métabolique dont l'évolution à travers l'âge ne manque pas d'intérêt, comme nous allons le voir.

Il nous a paru également indiqué de rechercher la quantité moyenne d'oxygène consommé par cellule chez des sujets jeunes d'une part, chez des sujets âgés d'autre part. Or nous avons constaté que la polyploïdie des

cellules hépatiques augmente avec l'âge¹. Il convenait donc de rapporter l'oxygène consommé à la quantité moyenne d'A.D.N. des noyaux à divers âges pour saisir les échanges à l'échelle cellulaire.

Nos essais ont porté sur 85 rats dont l'âge s'étend entre 8 jours et 2 ans. Les coupes de foie ont été effectuées à l'aide du microtome de HERBAIN² dans une chambre froide. La consommation d'oxygène a été déterminée à l'appareil de WARBURG en atmosphère d'oxygène en milieu de KREBS³ en présence de citrate. L'A.D.N. a été déterminé selon la technique de SCHMIDT et THANNHAUSER modifiée, utilisée dans notre laboratoire⁴. Nous avons évalué parallèlement au poids du foie et à la quantité d'oxygène consommé la quantité moyenne d'A.D.N. par noyau cellulaire isolé selon DOUNCE⁵ et la quantité absolue d'A.D.N. du foie aux divers âges.

¹ P. MANDEL, M. JACOB et L. MANDEL, 2^e Congr. intern. Biochim. Paris, 1952.

¹ P. MANDEL, Exp. annuels Biochim. Méd. 13, 255 (1951).
² M. HERBAIN, Bull. Soc. Chim. Biol. 32, 1062 (1950).
³ H. A. KREBS, Biochim. et Biophys. Acta 4, 249 (1950).
⁴ Nous en publierons prochainement une description détaillée.
⁵ A. L. DOUNCE, J. Biol. Chem. 1943, 235.

Tableau I

1		2	3	4	5	6				9
Age	Nb.	Poids d'un rat	Poids d'un foie	P. A.D.N pour un foie	P. A.D.N pour un noyau	Consommation d'oxygène pour				un noyau
		g	g	mg	× 10 ⁻⁶ γ	un foie	un mg de poids frais	un mg de P. A.D.N		
						cm ³ /h	mm ³ /h	mm ³ /h		mm ³ /h
8j.	26	14,3	0,473	0,071	0,725	0,626	1,32	8,8		6,4
		± 4,7	± 0,103			± 0,248	± 0,25	± 1,7		
14j.	17	26,4	0,703	0,127	0,687	0,825	1,17	6,5		4,5
		± 3,2	± 0,240			± 0,190	± 0,18	± 1,1		
30j.	11	66,0	2,794	0,578	0,832	5,11	1,82	8,8		7,4
		± 6,5	± 0,248			± 1,11	± 0,31	± 1,1		
60j.	8	129	5,599	0,855	0,940	7,82	1,40	9,2		8,5
		± 14	± 0,390			± 2,45	± 0,30	± 2,0		
Ad.	16	219	8,069	1,130	1,196	9,85	1,22	8,7		10,4
		± 51	± 2,291			± 1,35	± 0,25	± 1,4		
2 ans	7	243	9,418	1,540	1,218	7,57	0,80	4,9		6,0
		± 45	± 1,826			± 2,49	± 0,22	± 1,5		

En-dessous de chaque valeur, nous avons indiqué la déviation standard

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$$

Abréviations utilisées: j. = jours; Ad. = adultes; Nb. = nombre d'animaux.

Tableau II. Valeurs exprimées en pour-cent de celles des adultes.

1	2	3	4	5	6				9
Age	Poids d'un rat	Poids d'un foie	P. A.D.N d'un foie	P. A.D.N moyen d'un noyau	Consommation d'oxygène rapportée				au noyau
					au foie total	au poids frais	au groupement diploïde de chromosomes		
8j.	6,5	5,8	6,3	60	6,4	108	101		61
14j.	12	8,6	11,4	57	8,4	96	75		42
30j.	30	35	51	69	52	149	101		71
60j.	59	69	76	78	80	115	106		82
Ad.	100	100	100	100	100	100	100		100
2 ans	111	117	136	102	78	65	56		57

Les résultats de nos essais ont été consignés dans les tableaux (p. 219).

Nous retrouvons le fait classique: la diminution de la quantité d'oxygène consommé par unité de poids avec le vieillissement (col. 7). Mais si dans ce cas la réduction est de 35%, la quantité globale d'oxygène consommé pour un foie baisse seulement de 22% (col. 6). Ceci s'explique par l'accroissement du poids du foie, lequel ne correspond pas simplement à une augmentation de masse cytoplasmique (col. 3) puisque la quantité absolue d'A.D.N. qui représente la masse chromosomique augmente également (col. 4). De plus, même en tenant compte de la quantité moyenne d'A.D.N. par noyau (col. 5) on peut affirmer que le nombre de noyaux, par conséquent de cellules, continue à s'accroître jusqu'à un âge très avancé. Il paraît donc vraisemblable qu'il existe une compensation fonctionnelle consécutive à l'hyperplasie.

Un nouvel aspect des échanges apparaît si l'on considère la consommation d'oxygène moyenne correspondant soit à un groupement diploïde de chromosomes (unité standard), soit à un noyau. On constate alors que la consommation d'oxygène correspondant à un équipement diploïde de chromosomes qui déjà à huit jours a la même valeur que chez l'adulte, se trouve chez le sujet âgé réduite de 44%, c'est-à-dire presque de moitié. Ce fait prend une importance capitale si l'on admet que le noyau par son groupement chromosomique contrôle le métabolisme cellulaire. D'autre part, si compte tenu de la polyploïdie et de la quantité moyenne d'A.D.N. par noyau (col. 5), on considère la quantité d'oxygène consommé en moyenne pour une cellule (col. 9) il apparaît que la cellule jeune utilise entre 7 et 15 jours approximativement la moitié de l'oxygène de la cellule adulte et que chez les sujets âgés on note une baisse de 40%. Comme par ailleurs la quantité d'A.D.N. du foie augmente avec l'âge (col. 4), nous confirmons que la diminution de la consommation d'oxygène par cellule se trouve chez le sujet âgé partiellement compensée grâce à l'accroissement du nombre de cellules.

Mlle M. JACOB, M^{me} L. MANDEL et
P. MANDEL

Institut de chimie biologique, Faculté de médecine, Université de Strasbourg, le 1^{er} décembre 1953.

Summary

The quantitative study of whole liver DNA and liver nuclei DNA at various ages, and the simultaneous study of oxygen uptake shows the following facts:

(1) The rate of oxygen consumption to the fresh weight or to the DNA or to diploid chromosomes group is the same for the adult or the young aged 8 days. The values of oxygen consumption calculated for one cell or for one nucleus (taking notice of the fact that the mean level of liver nuclei DNA varies with the age) at 8 days is only the half of the adult value. Even at two months the value is 20% lower than in the adult.

(2) In older animals there is a decrease of oxygen uptake which is more noticeable on a cellular scale than with the classical rate to fresh or dry weight. We affirm the fact that the diminution of the oxygen uptake of each cell is compensated by the increase of the number of cells.

With Reference to the Relations Between Proliferation Activity of Erythroblasts and their Sensitivity to Hypoxia

In previous reports in this Journal, we outlined the adverse action exerted by hypoxia on the proliferation activity of erythroblasts when the condition is created directly on the bone marrow survival. Our investigations have furthermore enabled us to ascertain that the megaloblast of pernicious anemia in relapse¹ appears to be far more sensitive than is the normoblast of normal bone marrow², and that in turn the basophile shows a higher sensitivity than the polychromatophil (for the two cell series, normo- and megaloblast, respectively). Later investigations³ have shown that differences in sensitivity between megaloblasts and normoblasts are gradually reduced during treatment until they completely disappear.

On the grounds of these results, we had to consider whether the difference in sensitivity to hypoxia, which exists between normoblasts and megaloblasts, is in any way connected with the different type of the two erythroblasts, or with just the different proliferation activities of these cells. Consequently we have carried out investigations on the influence exerted by hypoxia on erythroblastic proliferation in five cases of COOLEY'S disease. As a matter of fact, although the erythroblast of this marrow is of normoblastic type, it is characterised by a proliferation activity considerably higher than that of the normal human bone marrow normoblast⁴. (This investigation of ours further confirmed this finding.)

These researches were carried out with the help of the stathmocinetic test (ASTALDI and MAURI)⁵, using the same procedure and equipment adopted in our previous experiments⁶. The pressures applied were 760, 560, 360, and 160 mmHg.

The study was carried out on basophils because they possess a higher proliferation activity than polychromatophils⁷; thus any differences in sensitivity between the different erythroblasts examined should give a more reliable result.

Table I relates the average stathmocinetic index values obtained at the different pressure degrees; i.e., the indices expressing the proliferation activity in respect to the different pressure levels. They are given as percentages of the proliferation activity of the basophil erythroblasts at normal pressure.

In order to establish the significance of the results, they were submitted to the analysis of variation with two criteria, viz: subjects-degree of pressure. The results are reported in Table II.

The Diagram relates the average proliferation values of the basophil erythroblasts of normal human bone marrow, pernicious anemia in relapse and Thalassemia respectively, and their linear interpolant.

The functions of these interpolants are as follows:

$$f(xi) = 63.8 + 0.1289(xi - M)$$

¹ G. ASTALDI, E. BERNARDELLI, and G. REBAUDO, *Exper.* 9, 261 (1953).

² G. ASTALDI, E. BERNARDELLI, and G. REBAUDO, *Exper.* 8, 117 (1952).

³ G. ASTALDI, E. BERNARDELLI, and G. REBAUDO, *Haematol.* (to be printed).

⁴ G. ASTALDI and P. TOLENTINO, *J. Clin. Pathol.* 5, 140 (1952).

⁵ G. ASTALDI and C. MAURI, *Haematol.* 33, 583 (1949); *Le Sang*, 21, 378 (1950).

⁶ G. ASTALDI, E. BERNARDELLI, and G. REBAUDO, *Le Sang*, 23, 293 (1952).

⁷ G. ASTALDI, A. ALLEGRI, and C. MAURI, *Exper.* 3, 499 (1947)