

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)

Table I.—Average Stathmocinetic Indices Under different Pressure Levels

Pressure Levels mm Hg	Proliferation	
	Mean $m \pm \sigma_m$	Dispersion $\sigma \pm \sigma_\sigma$
Normal		
760	100 ± 0	0 ± 0
660	88.4 ± 3.13	9.90 ± 2.21
560	83.3 ± 2.68	8.47 ± 1.89
460	52.80 ± 4.22	13.34 ± 2.98
360	45.9 ± 2.28	7.21 ± 1.61
260	35.1 ± 1.29	4.08 ± 0.91
160	27.2 ± 1.86	5.88 ± 1.31
Pernicious Anemia		
760	100 ± 0	0 ± 0
660	47.6 ± 1.74	4.6 ± 1.22
560	44.6 ± 4.20	11.1 ± 2.97
460	32.9 ± 2.15	5.7 ± 1.52
360	20.3 ± 3.33	8.8 ± 2.35
260	9.3 ± 1.21	3.2 ± 0.85
160	6.2 ± 0.64	1.7 ± 0.45
Thalassemia major		
760	100 ± 0	0 ± 0
560	70.0 ± 4.16	9.27 ± 2.93
360	58.7 ± 2.14	4.79 ± 1.51
160	24.5 ± 3.8	8.60 ± 2.72

for the basophil erythroblasts from normal human bone marrow;

$f(xi) = 42.8 + 0.1529 (xi - M)$

for the basophil megaloblast from pernicious anemia;

$f(xi) = 63.3 + 0.1169 (xi - M)$

for the basophil erythroblast from Thalassemia major.

The proliferation indices of the hyperproliferating normoblast from Thalassemia major were compared by statistical methods with those of the normoblast from normal marrow and those of the megaloblast from pernicious anemia, respectively. The methods used were STUDENT-FISCHER t^2 and SNEDECOR's F ones. The results are reported in Table III.

The results of our investigations show that:

(1) There is no significant difference regarding the sensitivity to hypoxia between the normoblast from normal human bone marrow and the normoblast from the bone marrow of Thalassemia major, in spite of the fact that in the latter case the proliferation activity is considerably higher than in the former.

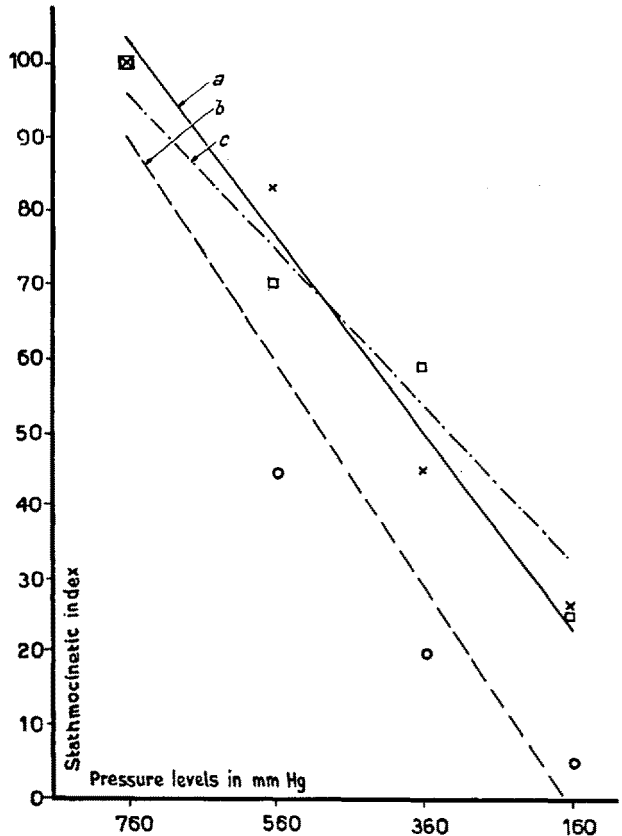
(2) The hypoxia sensitivity of the normoblast from Thalassemia major shows a marked difference in respect to the sensitivity of the megaloblast from pernicious anemia in relapse, in spite of the fact that both these

cells show a proliferation activity considerably higher than the standard normal one.

Table III.—Significance of the Differences between Averages.

Between normoblast of Thalassemia and normoblast of normal marrow				Between normoblasts of Thalassemia and megaloblasts			
t^2	F		Judge-ment	t^2	F		Judge-ment
	0.01	0.05			0.01	0.05	
0.001	7.35	4.10	—	8.17	7.35	4.10	+

From our results, taken as a whole, we feel authorized to draw the conclusion that the greater reaction to hypoxia exhibited by the megaloblast in respect to the normoblast is not merely a consequence of the fact that the former has a higher proliferation activity than the latter. We should rather say that the different sensitivity



a Basophil erythroblast of normal marrow. b Basophil megaloblast of pernicious anemia. c Basophil erythroblast of thalassemia major. The stathmokinetik indices at 760 mm Hg are considered equal to 100.

Table II.—Results of Variation Analysis with two Different Criteria

Sources	Degree of freedom	Sum of the squares	Mean square	F ratio SNEDECOR	F Significant	
					5%	1%
Totals	19	15354.27	808.21	—	—	—
Between pressures	3	14668.48	4889.49	92.44	3.49	5.95
Between cases	4	51.09	12.77	4.14	3.26	5.41
Residue, experimental error, etc.	12	634.70	52.89	—	—	—

is related to the intimate biological differences between these two cellular types.

G. ASTALDI, E. BERNARDELLI,
E. REBAUDO, and R. PARMENTIER

*Department of Internal Medicine, University of Pavia,
September 1, 1953.*

Riassunto

Da ricerche precedenti era apparso che l'ipossia inibisce la proliferazione degli eritroblasti e che il megaloblasto è più inibito del normoblasto. Onde stabilire se il grado di sensibilità è strettamente collegato con la particolare natura del tipo di eritroblasto – normo- e megaloblasto – oppure se tale grado è in rapporto soltanto con l'intensità proliferativa cellulare, gli autori hanno studiato l'influenza dell'ipossia su normoblasti altamente proliferanti (in particolare, quelli della Talassemia major). Essi hanno potuto rilevare che questi ultimi posseggono lo stesso grado di sensibilità all'ipossia del normoblasto del midollo osseo umano normale, inferiore quindi a quello del megaloblasto dell'anemia perniosa. Pertanto gli autori concludono che le differenze tra normoblasto e megaloblasto rispetto al fenomeno esplorato sono strettamente correlate con l'intima biologia dei due tipi cellulari.

Effet de quelques colorants basiques sur l'induction embryonnaire

Dès 1932¹, on a reconnu que les propriétés inductrices de la lèvre blastoporale sont remarquablement résistantes à l'effet des traitements les plus variés (chaleur, congélation, dessiccation, traitement à l'alcool). HOLTFRETER² a exploré systématiquement la résistance de ces propriétés inductrices sous diverses conditions. Dans un travail précédent³, nous avons examiné la possibilité de bloquer cette propriété inductrice, et observé que le traitement préalable de l'organisateur par le formol entraîne soit la suppression, soit une atténuation du pouvoir inducteur. Plus récemment, KUUSI⁴, travaillant sur des fractions de matériel inducteur provenant d'extraits tissulaires, a observé la suppression de l'induction spinale et deutéréncephalique par le formol.

Le problème de l'induction embryonnaire, abordé sous l'angle de la recherche des conditions susceptibles de faire disparaître ou de modifier d'une façon appréciable le pouvoir inducteur, peut donc fournir des renseignements intéressants sur la nature de ce matériel inducteur.

A cet effet, nous avons examiné les propriétés inductrices de lèvres dorsales traitées par des colorants basiques. Les lèvres, prélevées sur de jeunes gastrulas de *Amblystoma mexicanum*, sont fixées par un séjour de 2 h dans de l'alcool à 95° et sont ensuite plongées dans des solutions de colorants jusqu'à ce qu'elles apparaissent colorées dans toute leur masse, ce qui nécessite en moyenne 2 à 3 h. Les colorants utilisés sont choisis en raison de leur affinité pour les acides nucléiques: ce sont la pyronine, le bleu de toluidine, l'acridine orange. La concentration est de 1/10 000, sauf pour le bleu de toluidine qui est utilisé en solution à 2%. L'excès

de colorant est enlevé par un lavage au liquide de HOLTFRETER. La mise en place du greffon dans le blastocèle de la jeune gastrula hôte et l'élevage des embryons greffés s'effectuent selon les techniques habituelles. Les embryons sont fixés après un délai variable, allant de 72 à 120 h après l'opération, puis coupés pour l'examen microscopique.

Le matériel greffé se montre constamment inducteur, sauf dans quelques cas où le greffon mal toléré est éliminé au cours de la cicatrisation. Il arrive également que le greffon inerte s'insère dans l'entoblaste de l'hôte. En l'absence d'un contact étroit avec l'épiblaste compétent, l'induction est négative. Les inductions obtenues avec les organisateurs colorés diffèrent assez peu de celles fournies par les organisateurs simplement fixés par l'alcool. Les vésicules neurales induites dépassent rarement le volume des structures céphaliques de l'hôte (2 cas sur 58). Il s'agit, en majorité, de structures neurales de volume moyen, présentant parfois des annexes sensorielles (otocystes). Certains embryons fixés plus précocement montrent simplement une petite plaque neurale induite ou même une gouttière neurale en voie de fermeture.

Les organisateurs fixés et colorés conservent donc leur capacité d'induire des structures neurales dans l'épiblaste compétent. La fixation des colorants basiques sur les structures basophiles et principalement sur les acides nucléiques de l'organisateur n'entraîne donc pas la disparition de sa capacité d'induire des structures neurales. Dans l'hypothèse où les acides nucléiques joueraient un rôle prééminent dans l'induction, on est amené à penser que la combinaison acide nucléique-colorant basique n'entraîne nullement une altération du rôle de ces acides nucléiques. Ceux-ci pourraient, cependant, intervenir par des groupements chimiques non bloqués par les colorants. Mais il semble difficile de maintenir cette hypothèse: les acides nucléiques, qui interviennent sans doute surtout à l'état de complexes nucléoprotéiques, ne jouent qu'un rôle vraisemblablement indirect dans les phénomènes d'induction. Les récentes études de KUUSI¹ ont montré, en effet, que des inductions archencéphaliques peuvent être obtenues avec du matériel riche en acide ribonucléique, mais l'enlèvement de ce dernier par des méthodes différentes (ribonucléase, acide perchlorique) n'entraîne qu'une très faible diminution du pouvoir inducteur. D'autre part, des fractions protéiques de muscle induisent des structures archencéphaliques en proportion notable.

La relation entre les acides nucléiques et l'induction embryonnaire apparaît ainsi fort complexe et le rôle des protéines engagées dans les complexes nucléoprotéiques semble essentiel à certains aspects de l'induction. A cet égard, la méthode de blocage du pouvoir inducteur par des agents chimiques définis, qui a déjà donné d'utiles indications, semble devoir être précieuse à l'avenir pour résoudre le problème de l'induction, dans la mesure où l'on pourra déterminer avec précision la nature des groupements chimiques mis en jeu.

R. LALLIER

Institut de biologie physico-chimique, Paris, le 23 février 1954.

Summary

A series of grafts of blastoporal lips, previously fixed and colored by various basic dyes, has been carried out. Grafts implanted in the blastocœl gave typical inductions in all cases.

¹ T. KUUSI, Arch. biol. 64, 189 (1953).

¹ H. BAUTZMANN, J. HOLTFRETER, O. MANGOLD et H. SPEMANN, Naturwissenschaften 20, 349 (1932).

² J. HOLTFRETER, Arch. Entw. Mech. 128, 584 (1933).

³ R. LALLIER, Exper. 6, 92 (1950).

⁴ T. KUUSI, Ann. Zool. Soc. «Vanamo» 14, 4 (1951).