

when not completely absent. In some of 18 sera of cases of acute virus (epidemic) hepatitis, this enzymatic activity has been found to be increased as compared with normal values. Furthermore, in almost all of them it is greatly increased by addition to the sera of boiled mouse liver homogenate. No such increase has been observed in normal human sera.

Homogenates in 15% concentration in  $H_2O$  from mouse liver tissue (washed in  $H_2O$  and then dried by filter paper) were prepared at room temperature in Potter-Elvehjem homogenizers; the homogenates were immersed for 30 s in water bath at 100°C. After centrifugation at 2000 r.p.m. for 15 min, the supernatant was separated and 0.10 ml of it was added to each test, which contained 0.2 ml of serum and was incubated for 60 min at 30°C. In each determination controls were performed with only liver homogenate and only serum. The boiled liver homogenate is devoid of any enzymatic activity.

It is assumed that during the liver necrotic process of the virus hepatitis, besides some active enzyme, a greater part of incomplete enzyme reaches the blood flow, which may then be fully activated by some unidentified compound contained in the liver tissue. Experiments are in progress to ascertain the possible identity of the activating compound contained in the homogenate with the known coenzyme of phosphoglucomutase, glucose-1,6-diphosphate.

The present observations, together with those concerning the increase in the sera of other enzymatic activities found by us and by others (alanine-ketoglutaric transaminase<sup>2</sup>; aspartic-ketoglutaric transaminase<sup>3</sup>; aldolase, phosphohexoseisomerase<sup>4</sup>) in cases of epidemic hepatitis and found by us in experimental virus (MHV)

hepatitis (transaminases<sup>5</sup>, phosphoglucomutase<sup>6</sup>, fumarase<sup>7</sup>), emphasize the significance of the enzymatic pattern of the blood plasma in the liver virus 'necrosis syndrome' both human and experimental.

F. DE RITIS, G. GIUSTI, and M. COLTORTI

*Institute of Medical Pathology, University of Naples, Italy, November 7, 1956.*

#### Riassunto

Nell'epatite virale umana acuta l'attività fosfoglucomutasic del siero è notevolmente aumentata rispetto ai valori normali.

L'aggiunta di omogenato bollito di fegato di topo produce ulteriore notevole incremento dell'attività fosfoglucomutasic del siero di soggetti affetti da epatite epidemica; non influenza tale attività nel siero di soggetti normali.

<sup>2</sup> F. DE RITIS, M. COLTORTI, G. GIUSTI, Science 124, 32 (1956).

<sup>3</sup> F. DE RITIS, M. COLTORTI, G. GIUSTI, Boll. Soc. It. Biol. Sper. 1956, in press.

<sup>4</sup> F. DE RITIS, G. GIUSTI, M. COLTORTI, Boll. Soc. It. Biol. Sper. 1956, in press.

#### Jahreszeitliche Schwankungen der Blutgerinnung beim Hunde

In letzter Zeit wurde mehrmals festgestellt, dass die Blutgerinnung bei Tieren im Winter- bzw. Sommerschlaf langsamer verläuft (Ziesel<sup>1</sup>, Hamster<sup>2</sup>, Igel<sup>3</sup>, Frosch<sup>4</sup>, Fledermaus<sup>5</sup>). Wir untersuchten während einer

<sup>1</sup> A. SVIHLA, H. BOWMAN und R. RITENOUR, Science 114, 298 (1951).

<sup>2</sup> A. SVIHLA, H. BOWMAN und R. PEARSON, Science 115, 272 (1952).

<sup>3</sup> P. SUOMALAINEN und E. LEHTO, Arch. Soc. «Vanamo» 6, 94 (1952).

<sup>4</sup> J. J. SPITZER und J. A. SPITZER, Canad. J. med. Sci. 30, 420 (1952).

<sup>5</sup> D. E. SMITH, Y. S. LEWIS und G. SVIHLA, Exper. 10, 218 (1954).

<sup>2</sup> F. DE RITIS, M. COLTORTI, and G. GIUSTI, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 31, 394 (1955); Minerva Med. 46 I, 1207 (1955); 47 I, 167 (1956); Communication 1er Congrès international de Pathologie infectieuse, Lyon 24-26 mai 1956. Chimica Clinica Acta, 1957, in press.

<sup>3</sup> F. DE RITIS, M. COLTORTI, and G. GIUSTI, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 31, 394 (1955); Minerva Med. 46 I, 1207 (1955); 47 I, 167 (1956); Communication 1er Congrès international de Pathologie infectieuse, Lyon, 24-26 mai 1956. - F. WROBLEWSKI and J. S. LADUE, Ann. int. Med. 43, 345 (1955).

<sup>4</sup> F. H. BRUNS, Klin. Wschr. 1954, 1041. - F. H. BRUNS and W. JACOB, Klin. Wschr. 1954, 656. - F. H. BRUNS and J. NEUHAUS, Arch. Biochem. Biophys. 55, 588 (1955).

längerer Zeitperiode (vom 1. Dezember 1954 bis 31. August 1956) die Blutgerinnung bei Hunden, und dabei konnten wir beobachten, dass auch bei dieser nichthibernierenden Spezies jahreszeitliche Schwankungen der Blutgerinnungswerte bestehen.

mung der Blutgerinnung im System des Blut-, bzw. Gewebsthromboplastins angewandt. Es handelte sich dabei um die Rekalzifikationszeit bzw. Quicksche Einstufenmethode, ausgeführt am Plasma, welches durch 5minütiges Zentrifugieren bei 2500 Touren je Minute aus

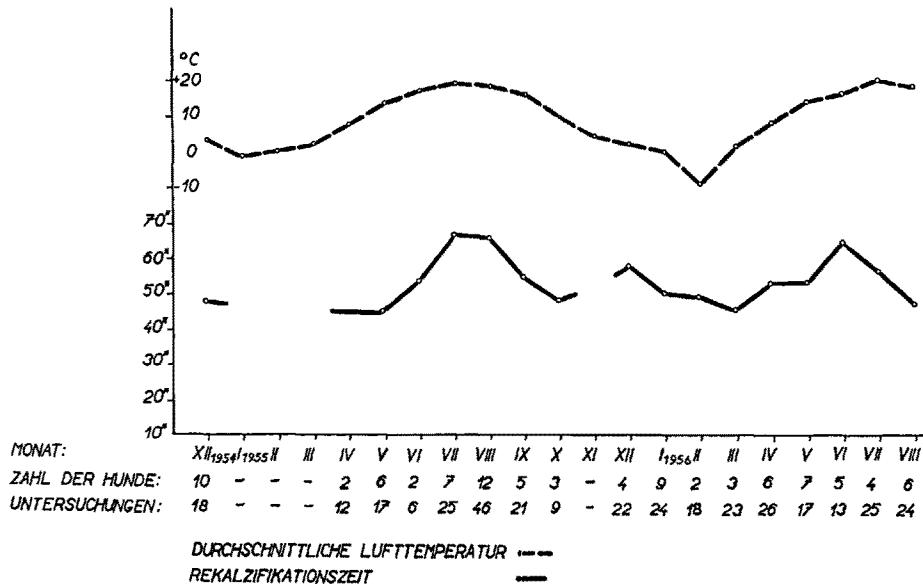


Abb. 1. Durchschnittliche Werte (in Sekunden) der Rekalzifikationszeiten der im jeweiligen Monat untersuchten Hunde und die dazugehörigen monatlichen Lufttemperaturdurchschnitte (in C-Graden).

Wir arbeiteten mit Hundebastarden, grösstenteils männlichen Geschlechtes, 15–30 kg schwer; sie waren in einem nicht klimatisierten Hundestall untergebracht, der sie nur vor dem strengsten Frost schützte (die Innen temperatur sank nicht unter 0°C). Das Futter war wäh-

Oxalatblut (0,6 ml 0,1 m Natriumoxalatlösung + 5,4 ml venösen Blutes) gewonnen wurde. Bei der Rekalzifikationszeit wurde die Gerinnungszeit des Gemisches 0,1 ml Plasma + 0,1 ml 0,025m CaCl<sub>2</sub>-Lösung mit der Stoppuhr gemessen; bei der Quickschen Methode wurde vor CaCl<sub>2</sub>

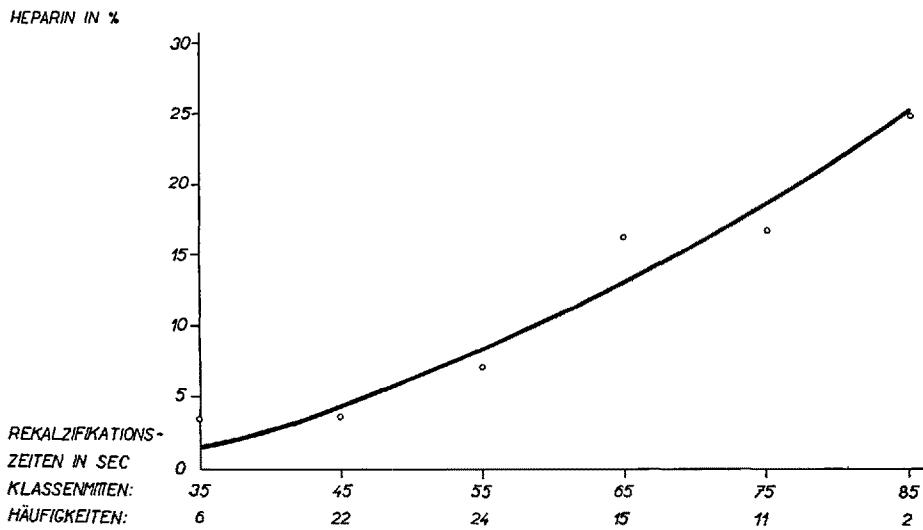


Abb. 2. Waagrecht: Rekalzifikationszeiten in Sekunden, geordnet in Klassen mit Klassengröße 10,0 s und dazugehörige Klassenhäufigkeiten. Senkrecht: Heparin in % der Verlängerung der Thrombinerinnungszeit mit Toluidinblau.

rend der ganzen Zeit gleich: ein Brei, gekocht aus Hundezwieback, Kartoffeln und Getreideschrot, mit Zugabe von Fleisch.

Ausser den speziellen, zur Bestimmung der jeweils notwendigen Einzelfaktoren benützten Methoden (die von einer Versuchsserie zur anderen wechselten) wurde bei allen Hunden je ein Verfahren zur globalen Bestim-

noch 0,1 ml einer Thromboplastinlösung aus Hundehirn zupipettiert. Die ganze Untersuchung verlief in 37°C warmen Wasserbad.

Die Zeiten der Quickschen Methode wiesen nur unbedeutende Schwankungen auf; die Rekalzifikationszeiten jedoch – wie aus Abbildung 1 ersichtlich – waren während der Sommermonate länger als in den übrigen Beob-

	Zeitspanne	Durchschnittliche Rekalzifikationszeit in s	$s = \pm \sqrt{\frac{\sum d^2}{N(N-1)}}$	Zahl der Hunde	Zahl der Untersuchungen
1	1. 12. 1954–15. 6. 1955 . . . . .	47,1	1,0	18	53
2	16. 6.–12. 9. 1955 . . . . .	64,8	1,8	22	83
3	13. 9. 1955–27. 5. 1956 . . . . .	50,4	1,3	27	147
4	28. 5.–31. 8. 1956 . . . . .	54,6	3,9	13	63

achtungsperioden. Im Dezember 1955 untersuchten wir einen Hund mit aussergewöhnlich langer Rekalzifikationszeit – über 80 s, klinische Symptome einer hämorrhagischen Diathese wurden aber nicht festgestellt. Vollständigkeitshalber wurde auch dieser in den Monat durchschnitt eingerechnet.

Etwaige Veränderungen der Nahrung im Sommer als Ursache dieser Verlängerung anzusehen schien uns unwahrscheinlich, da die Qualität der Futterbestandteile immer dieselbe war. Ausserdem könnte mangelhafte Ernährung eher im Winter als im Sommer in Betracht kommen. Wir suchten deshalb andere Ursachen, und es zeigte sich, dass in der Zeitspanne, in der die Rekalzifikationszeiten am längsten waren, auch die höchsten durchschnittlichen Lufttemperaturen – um 20°C – registriert wurden (siehe Abb. 1).

Dass es sich tatsächlich nicht um einen bloss kalendermässigen Zusammenhang handelt, sondern um einen Einfluss der sommerlichen Wärme, geht auch aus der nachfolgenden Tabelle hervor. Es werden darin die Gesamtdurchschnitte während der zwei warmen und kalten Perioden verglichen (die warmen Perioden werden vom Auftreten der ersten bis zum Abklingen der letzten etwa 20°C Tagesdurchschnittstemperaturen gerechnet).

Die warme Periode im Jahre 1955 hatte einen sehr gleichmässigen Verlauf (Gesamtdurchschnitt 19,4°C), es gab nur eine kurzdauernde Abkühlung (5 Tage mit Durchschnittstemperaturen knapp unter 15,0°C). Der Durchschnittswert der Rekalzifikationszeiten (2) unterscheidet sich signifikant von denjenigen der vorhergehenden und nachfolgenden Perioden (1, 3), in beiden Fällen  $p < 0,01$ . Im Jahre 1956 haben zwar die Sommerwärmen früher angefangen, der weitere Verlauf war jedoch sehr ungleichmässig, was die Temperatur anbelangt. Es waren mehrere relativ sehr kalte Zeitabschnitte (an 11 Tagen war die Durchschnittstemperatur tief unter 15,0°C), wiederum von anderen, sehr warmen gefolgt (der Gesamtdurchschnitt der Lufttemperatur war 18,5°C). Es ist deshalb verständlich, dass die Rekalzifikationszeiten (4) die grössten Schwankungen aufweisen und eine Mittelstellung im Verhältnis zu den vorher untersuchten Perioden einnehmen. Der Durchschnitt unterscheidet sich kaum signifikant von dem vorjährigen Sommerdurchschnitt (2),  $0,02 < p < 0,05$ , und noch weniger von den beiden kalten Perioden (1, 3),  $p > 0,05$ . Der Unterschied zwischen den beiden kalten Perioden (1, 3) ist nicht signifikant,  $p > 0,05$ .

Beim Versuch, den gerinnungsphysiologischen Mechanismus der beobachteten Verlängerung der Rekalzifikationszeiten aufzuklären, beachteten wir die Untersuchungen PERLICKS *et al.*<sup>6</sup>, wonach die langsame Blutgerinnung im Winterschlaf durch eine Zunahme des Heparins im Blute verursacht wird. Dies entspricht vollkommen den schon früher geäusserten theoretischen

Erwägungen<sup>7</sup>. Da auch bei nichthibernierenden Tieren Unterschiede zwischen dem Winter- und Sommerzustand bestehen – oft in entgegengesetzter Richtung als bei hibernierenden – erschien uns eine Heparinvermehrung auch als Ursache der sommerlichen Blutgerinnungsverlangsamung sehr wahrscheinlich.

Wir untersuchten deshalb in den Monaten März bis August 1956 bei 80 Rekalzifikationszeiten zugleich auch das Heparin im Plasma. Es wurde die Methode von HORN und BORSODI<sup>8</sup> benutzt. Als Mass für die Heparinkonzentration betrachteten wir die Differenz zwischen der Gerinnungszeit im System 0,1 ml Plasma + 0,1 ml physiologischer Kochsalzlösung + 0,1 ml Thrombinlösung (enthaltend 0,8 Einheiten des Herstellers – Firma Richter, Budapest) und im System, wo statt NaCl 0,1 ml 0,01% Toluidinblau in physiologischer Kochsalzlösung verwendet wurde. Die Differenz wurde in Prozenten ausgerechnet, wobei die Gerinnungszeit mit Toluidinblau als 100% betrachtet wird. Der absolute Wert der Toluidinblaugerinnungszeit war meistens 35 s.

Die Ergebnisse sind auf der Abbildung 2 dargestellt; es zeigt sich tatsächlich, dass bei den langen Rekalzifikationszeiten sich mehr Heparin im Blute befindet als bei den kurzen.

V. ROSIVAL und F. V. SELECKY

Chemisches Institut der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Abteilung für pharmazeutische Chemie und Biochemie, Bratislava, Tschechoslowakei, den 23. Oktober 1956.

#### Summary

The blood coagulation in dogs was investigated from December 1954 to August 1956. The one-stage-method of QUICK showed no important changes, while the recalcification time was longer during the warm periods in summer as compared with the previous and following periods. In cases of prolonged recalcification time, there was found to be an increased amount of heparin in blood.

<sup>7</sup> R. HÄRMÄ und P. SUOMALAINEN, Acta physiol. Scand. 24, 90 (1951).

<sup>8</sup> Z. HORN und L. BORSODI, Schweiz. med. Wschr. 78, 1069 (1948).

#### Mitotic Activity During Successive Migrations in the Diencephalon of Chick Embryos

*Introduction.*— SAUER<sup>1</sup> investigated the structure of the neutral tube wall and showed that it consists of a pseudostratified columnar epithelium. When a cell in this epithelium begins mitosis, the cell nucleus migrates towards the ventricular lumen; after the cell division,

<sup>6</sup> E. PERLICK, P. RATHS und A. BERGMANN, Z. ges. inn. Med. 9, 400 (1954).

<sup>1</sup> F. C. SAUER, J. comp. Neurol. 62, 377 (1935).