

	Zeitspanne	Durchschnittliche Rekalzifikationszeit in s	$s = \pm \sqrt{\frac{\sum a^2}{N(N-1)}}$	Zahl der	
				Hunde	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 Monatsdurchschnitt 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.*⁶, wonach die langsame Blutgerinnung im Winterschlaf durch eine Zunahme des Heparins im Blute verursacht wird. Dies entspricht vollkommen den schon früher geäusserten theoretischen

Erwägungen⁷. Da auch bei nichthibernisierenden Tieren Unterschiede zwischen dem Winter- und Sommerzustand bestehen – oft in entgegengesetzter Richtung als bei hibernisierenden – 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 BORSODI⁸ benützt. 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.

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

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

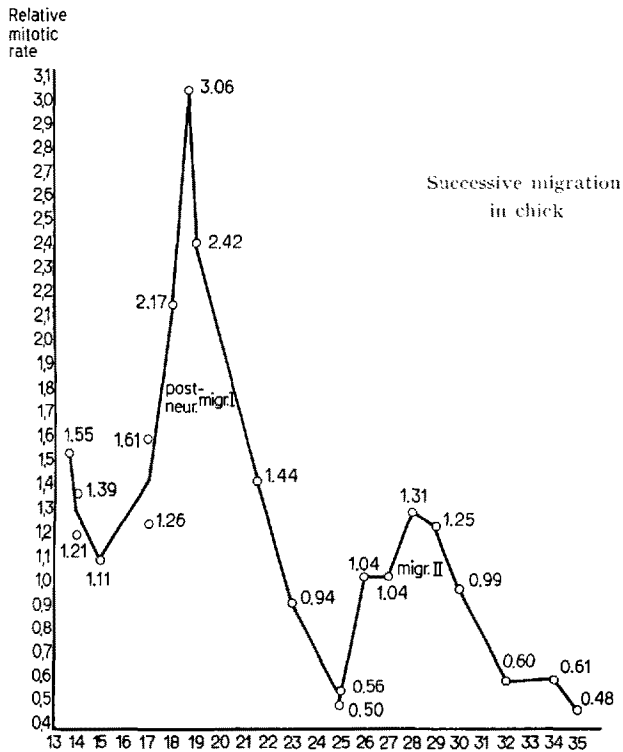
Mitotic Activity During Successive Migrations in the Diencephalon of Chick Embryos

Introduction.— SAUER¹ 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,

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

¹ F. C. SAUER, J. comp. Neurol. 62, 377 (1935).

the nucleus again migrates laterally. HAMBURGER and LEVI-MONTALCINI² distinguished three kinds of cell migration in the neural tube: the migration described by SAUER, a migration of cells from the neural epithelium into the peripheral layer ("the mantle") and finally the group migration of whole nerve centres. The formation of a peripheral layer, within which the definite nuclei are formed, has been described many times in the literature on the subject: PALMGREN³ described the formation of a stratum cellulare externum peripherally to the stratum cellulare internum of the neural epithelium. BERGQUIST⁴ called the migrated parts, for example, sub-regio tuberculi posterioris, while ROSE⁵ called them pronuclei and COOPER⁶ primary nuclei.



Stage number according to HAMBURGER and HAMILTON, 1951

Fig. 1.—Diagram showing the relative mitotic rate in area caudalis thalami or corresponding areas in a series of chick embryos, staged according to HAMBURGER and HAMILTON¹³. Migr. I – migration layer I; migr. II – migration layer II; postneur. – postneuromere.

From HOLMGREN's⁷ description of the development of the reptilian subballium, it is apparent that at least two successive migration processes may occur. KÄLLÉN⁸ discussed the phenomenon of successive migration in detail, and showed that such processes occur in the telencephalon of many vertebrates. Their importance for the homologization of the brain nuclei was emphasized. BENGMARK, HUGOSSON, and KÄLLÉN⁹ described

successive migration processes in the mesencephalon of mouse embryos, and BERGQUIST¹⁰ discussed them in the diencephalon of different vertebrates. BERGQUIST and KÄLLÉN¹¹ illustrated with a schematic Figure (figure 6 of the paper mentioned), how the successive migration processes appear in sections and how the proliferation intensity varies.

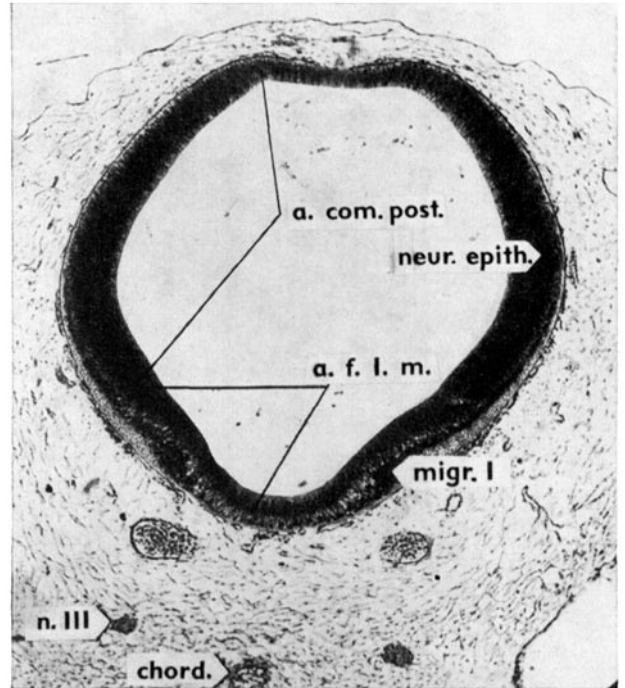


Fig. 2.—Cross section through the diencephalon of a chick embryo, stage no. 21-22, showing the migration layer (migr. I). Magnification $\times 65$.—a. com. post. – area commissurae posterioris; a. f. l. m. – area fasciculi longitudinalis medialis; chord. – notochord; migr. I – migration layer I; N. III – nervus oculomotorius; neur. epith. – neural epithelium (= stratum matricis).

The present investigation is made with the purpose of studying the mitotic frequency at the successive stages of the migration process in order to check the above-mentioned schematic diagram of Figure 6 in BERGQUIST and KÄLLÉN's paper¹².

Material and Methods.—The material consists of sectioned chick embryos, supplied by the Tornblad Institute of Comparative Embryology, Lund. The stages are given according to the stage series of HAMBURGER and HAMILTON¹³. Stages between 13 and 41 were studied. During the postneuromeric phase, the mitotic counts were made on parts of the neural tube, corresponding to the future area caudalis thalami. In later stages, the counts were made in the area caudalis thalami with the immediately surrounding parts. The right side of the embryo was used. In order to identify the parts in question, graphical reconstructions were made. The mitotic frequency was studied according to KÄLLÉN's method, using the so-called relative mitotic rate. The mitotic number was thus divided with the volume of the cor-

² V. HAMBURGER and R. LEVI-MONTALCINI, *Some aspects of neuroembryology* (Weiss ed. Genetic Neurology, the University of Chicago Press 1950), p. 128.

³ A. PALMGREN, *Acta zool.* 2, 1 (1921).

⁴ H. BERGQUIST, *Acta zool.* 13, 57 (1932).

⁵ J. E. ROSE, *J. comp. Neurol.* 77, 61 (1942).

⁶ E. R. A. COOPER, *Acta anat.* 9, 201 (1950).

⁷ N. HOLMGREN, *Acta zool.* 6, 415 (1925).

⁸ B. KÄLLÉN, *J. comp. Neurol.* 95, 307 (1951); *Kgl. Fysiogr. Sällsk. Lund Handl.* [N. F.] 61, 9 (1951); 62, 5 (1951).

⁹ S. BENGMARK, R. HUGOSSON, and B. KÄLLÉN, *Z. Anat. Entw.-gesch.* 117, 73 (1953).

¹⁰ H. BERGQUIST, *Kgl. Fysiogr. Sällsk. Lund Handl.* [N. F.] 65, 6 (1954).

¹¹ H. BERGQUIST and B. KÄLLÉN, *J. comp. Neurol.* 100, 627 (1954).

¹² The cost of this investigation was defrayed by grants from the Swedish Medical Research Council.

¹³ V. HAMBURGER and H. L. HAMILTON, *J. Morphol.* 88, 49 (1951).

responding matrix layer, as determined by planimetric measurement. Corrections for variations in cell density were made. For further details, see KÄLLÉN's paper.

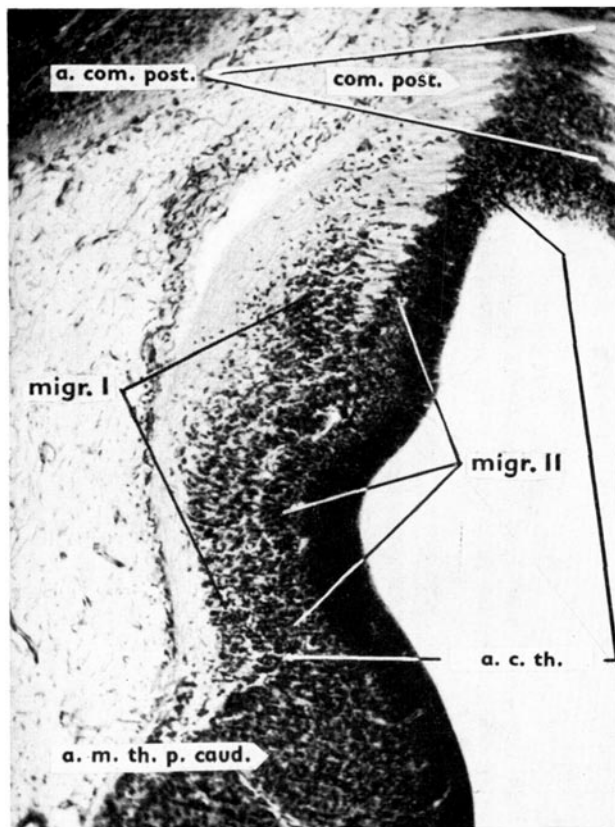


Fig. 3.—Cross section through the diencephalon in chick embryo, stage no. 29, showing the migration layer II (migr. II). Magnification $\times 33$. — a.c.th. — area caudalis thalami; a.com.post. — area commissurae posterioris; a.m.th., p.caud. — area medialis thalami, pars caudalis; comp.post. — commissura posterior (= caudalis); migr. I — migration layer I; migr. II — migration layer II.

Results.—In Figure 1 the different embryonic stages are marked on the abscissa and the relative mitotic rate on the ordinate. The graph shows two maxima at stages 18–20 and 28–29, and a minimum about stage 25; the relative mitotic rate then decreases from stage 30. Corresponding to the first-mentioned maximum, the post-neuromeres (= transverse bands) develop in the brain. Immediately after the maximum (stage 19) the first migration layer starts to develop (Fig. 2). Immediately after the second maximum (stage 29) the second migration layer is visible (Fig. 3). At stage 37 and later no mitotic activity occurs at the ventricular wall of the neural tube.

Conclusions.—The mitotic counts thus verify the relation between the proliferation processes and the successive migration, supposed to exist by BERGQUIST and KÄLLÉN¹¹.

It may be emphasized that the mitotic changes accompanying the successive migration processes are strictly local processes (BERGQUIST¹⁴). These changes may therefore have a different basis than those related to the formation of neuromeric patterns, which have been further analyzed by KÄLLÉN¹⁵.

The migration layers are not visible until a short time after the maximum of mitotic activity. This condition is explained by the fact that the cells which are formed at the proliferation migrate lateralwards into the periphery and form there a migration layer, which is still later delimited from the ventricular neural epithelium.

H. BERGQUIST

Institute of Anatomy, Medical Faculty University of Gothenburg, Sweden, October 10, 1956.

Zusammenfassung

Mitosezählungen bestätigen das von BERGQUIST und KÄLLÉN¹¹ angenommene Verhältnis zwischen Proliferation und sukzessiver Migration. Der Rhythmus der Mitoseaktivität, den KÄLLÉN¹⁵ im rhombenzephalen Teil des Neuralrohres während der ungleichen neuromerischen Phasen nachgewiesen hat, entspricht also einer ähnlichen Aktivität bei der sukzessiven Migration in der Area thalami.

Im Unterschied zur Mitoseaktivität in den genannten Proliferationsstadien tritt die sukzessive Migration nur lokal auf (BERGQUIST¹⁴).

Erst einige Zeit, nachdem die Mitoseaktivität ihr Maximum erreicht hat, erscheint die Migrationsschicht. Dies ist wahrscheinlich dadurch bedingt, dass bei der Proliferation die Zellen im Neurailepithel an der Ventrikeloberfläche entstehen, in der Ventrikelwand in lateraler Richtung wandern und sich zum Schluss in einer zusammenhängenden Migrationsschicht sammeln, die vom weiter innen liegenden Neurailepithel deutlich abgegrenzt ist.

On the Endocrine Basis of Sexual Differences in Hexobarbital Sleeping-Time in Rats

BRODIE¹ has recently demonstrated that in rats there is a distinct sexual difference in the duration of hexobarbital hypnosis, females sleeping longer than males. He also showed that the administration of estradiol to intact males prolonged sleeping-time whereas testosterone shortened it in normal females. We have extended these experiments in an attempt to differentiate between the possible direct action of the hormones and their indirect actions which result from pituitary blockade and peripheral inhibitory interactions.

Experiment 1. 20 male and 20 female rats, 140–160 g body weight, from the Sprague-Dawley colony were employed. Half of the males and half of the females were gonadectomized April 6, 1956, and on May 3 all animals received 100 mg/kg hexobarbital sodium intraperitoneally. Sleeping-time was recorded as the period in min from hexobarbital injection till the return of the righting reflex.

Experiment 2. The intact animals from experiment 1 were gonadectomized May 7, 1956. Prior to evaluation of sleeping-time the animals were treated daily for 4 days with estrone (10 μ g) or testosterone propionate (250 μ g) subcutaneously; these materials were contained in 0.1 ml of corn oil which also served as a control. 24 h after the final injection the animals received 100 mg/kg hexobarbital sodium. The total number of rats of each sex was divided into three groups of about six rats each,

¹⁴ H. BERGQUIST, J. Embryol. exp. Morphol. 4, 152 (1956).

¹⁵ B. KÄLLÉN, Kgl. Fysiogr. Sällsk. Lund Handl. (N.F.) 26 (1956).

¹ B. B. BRODIE, J. Pharm. Pharmacol. 8, 1 (1956).