

cases the lymphoid follicles were hypertrophic (Figure 3); the haemosiderin was scarce or absent and the lymphocytic centres were normal in the controls. Finally, controls of auto-haemagglutination and haemolysis *in vitro* on blood microsamples partially demonstrated a clumps formation only in rats treated with RNA from anti-rat RBC immune rabbit sera; a haemolytic response was observed, at titers of 1:20-1:40, only in the rats treated with 0.28 mg/100 g body weight of RNA from anti-rat RBC sera.

The presence of auto-haemoantibodies was also demonstrated by the usual immunofluorescence sandwich

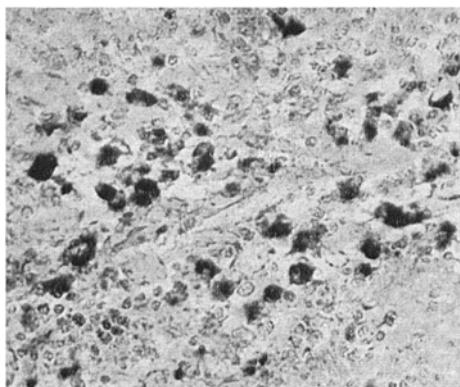


Fig. 3. Haemosiderin pigment in the spleen of a rat 7 days after injection of anti-rat RBC RNA (0.28 mg/100 g body weight).

method: specimens of rat RBC treated with serum from rats injected with 0.28 mg/100 g body weight of RNA-I-C from anti-rat RBC immune rabbit sera, became fluorescent after incubation with fluorescein-conjugated anti-rat-globulin serum. The controls were always negative.

The data obtained indicate that after injection into normal rats of a sufficient quantity of RNA extracted from rabbit anti-rat RBC immune sera a haemolytic immune reaction takes place in the rats with production of auto-haemoantibodies. This means that it is possible to obtain an immune response in an animal using an RNA-I-C produced by another species of animal. This immune response, according to previous results^{1,2}, is precocious but transitory: in fact it reaches the utmost degree 24-48 h after the RNA introduction and after 96 h it disappears⁴.

Riassunto. Una produzione di auto-emoanticorpi è stata ottenuta in ratti normali iniettati con un RNA estratto dal siero di conigli immunizzati con globuli rossi di ratto.

L. MICHELAZZI, A. NOVELLI,
G. NANNI, and I. BALDINI

Istituto di Patologia Generale della Università di Genova (Italy), June 17, 1964.

⁴ This investigation was supported by grants from C.N.R., Roma, and from Ministero della Pubblica Istruzione, Italy.

Der Sauerstoffumsatz der Leber von Ratten während der Höhenakklimatisierung

Ausser den Untersuchungen von SUNDSTROEM und MICHAELS¹ gibt es keine Berichte über die Atmung von Organgewebe von Versuchstieren in der ersten Phase der Akklimatisierung an Sauerstoffmangel. Die meisten Untersucher berichten, dass am Ende einer Höhenakklimatisierungsperiode von mehreren Wochen und Monaten der O₂-Umsatz gleich ist wie der von Tieren die unter normalen Druck (760 mm Hg) leben. Da aus dem Abfall der Körpergewichtskurve, des Futterkonsums und der lokomotorischen Aktivität von Ratten während der ersten Tage in der Höhe (500 mm Hg) hervorgeht, dass die Tiere ihren Gesamtstoffwechsel reduzieren, ist anzunehmen, dass nicht nur der O₂-Umsatz der Muskeln, sondern auch der inneren Organe herabgesetzt ist². Um diese Hypothese zu prüfen, wurde der O₂-Umsatz der Leber, als das wichtigste Organ im intermediären Stoffwechsel, während der ersten 10 Tage der Akklimatisierung an die Höhe von 3450 m untersucht.

Material und Methoden. Verwendet wurden junge und alte männliche Sprague-Dawley-Ratten, aus eigener Zucht und der Tierfarm Füllinsdorf (BL). Die Tiere wurden bei 22°C Raumtemperatur und R.F. von 40-60% in geräumigen Käfigen auf Hobelspanen gehalten; Kunstdag von 07.00-19.00 h. Sie erhielten Wasser und Standardfutter (Altromin R) *ad libitum*. Die Tiere gleichen Alters wurden in Gruppen unterteilt, von denen ein

Teil in den Tierraum der Hochalpen Forschungsstation Jungfraujoch (3450 m) gebracht wurde und ein Teil als Kontrolle in dem Tierraum in Bern (540 m) blieb. Jedes Tier wurde täglich gewogen. Am Untersuchungstag wurden die Tiere morgens zwischen 10.00-11.00 h direkt oder nach Betäubung durch Schlag auf den Kopf guillotiniert, die Leber sofort herausgenommen, gewogen und bei 0-2°C gehalten. Die Lebern der Tiere aus der Höhenstation wurden einzeln in Gläser, die mit Krebs-Ringer-Lösung (0,6% CaCl₂) getränktes Watte enthielten, gefüllt und im Thermostopf mit Eis innerhalb 4 h zur Untersuchung nach Bern gebracht. Der O₂-Umsatz wurde nach Warburg gemessen. Schneiden der Leber nach DEUTSCH³, Schnittdicke ca. 0,5 mm; 50-60 mg Feuchtgewebe pro Gefäß; Medium Krebs-Ringer-Phosphatlösung (0,61% CaCl₂); pH 7,3; Wasserbadtemperatur 37,5°C; Gasphase 100% O₂. Der QO₂ wurde berechnet als mm³ O₂/mg Trockengewicht/h. Von jeder Leber wurden Doppelbestimmungen vorgenommen.

¹ E. S. SUNDSTROEM und G. MICHAELS, *Memoirs University of California* (University of California Press, Berkeley and Los Angeles 1942), vol. 12.

² W. H. WEIHE, *Biometeorology II*, Proc. Third Int. Biometeor. Congr., Pau (S. W. TRAMP and W. H. WEIHE, Ed.; Pergamon Press, Oxford), im Druck.

³ W. DEUTSCH, *J. Physiol. (Lond.)* 87, 56 P (1936).

Ergebnisse

Prüfung des Einflusses der Lagerungszeit auf den QO_2 der Leber. Zunächst wurde geprüft, ob der O_2 -Umsatz während der Lagerung der Lebern bei 2°C innerhalb 4 h abfällt. Ein Teil der Lebern wurde direkt nach dem Töten der Tiere untersucht und der andere Teil nach 4 h Aufbewahrung bei $1-2^\circ\text{C}$ in der feuchten Kammer. Die Werte eines Versuches mit 4 Tieren sind in Tabelle I zusammengestellt. Der Unterschied war praktisch 0% oder lag innerhalb der Streuung der Einzelwerte bei Doppelbestimmungen. Damit war die wichtigste Voraussetzung für methodisch richtiges Arbeiten in dieser Untersuchung gegeben. Die Ergebnisse bestätigen die Untersuchung von KREBS⁴, der 2,5% Senkung des QO_2 nach 4 h Lagerung der Lebern in physiologischer NaCl-Lösung bei 1°C fand. Da wir keine Änderung fanden, glauben wir, dass die Aufbewahrung der Lebern in der feuchten Kammer vorzuziehen ist.

Tab. I. Einfluss der Lagerung auf den QO_2 von frischer Leber bei $1-2^\circ\text{C}$ in der feuchten Kammer nach 4 h

Tier No.	1	2	3	4	Mittelwert
Vorher	5,94	6,12	5,36	5,59	5,75
Nachher	6,18	6,12	5,36	5,60	5,82
Änderung	+0,24	0	0	+0,01	+0,07

Der O_2 -Umsatz der Leber nach Übergang in die Höhe. (a) Junge Tiere (Alter 40 Tage): Die Ergebnisse von 2 Versuchstierreihen mit je 4 Tieren pro Versuchstag sind in Tabelle II zusammengestellt. Nach 24 h in der Höhe im Versuch I war der QO_2 höher, im Versuch II tiefer als der Kontrollwert. Während im Versuch I am 3., 5. und 7. Tag der Abfall des QO_2 deutlich ausgeprägt war, waren die Unterschiede beim Vergleich mit den Kontrollwerten im Versuch II weniger stark. Hier zeigten jedoch die Kontrollwerte grössere Schwankungen. Die statistische Prüfung (Student t -Test) ergab für beide Versuche eine signifikante Senkung des QO_2 am 3., 5. und 7. Tag.

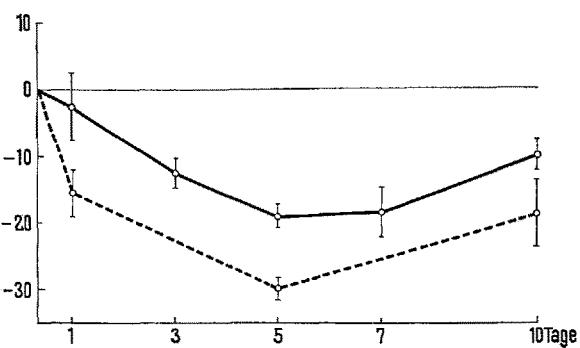
(b) Alte Tiere (Alter 11 Monate): Bei alten Tieren ($N = 4$ pro Messung) wurde die Senkung des QO_2 am 1.-10. Tag wie bei jungen Tieren beobachtet. Die Abweichung der Werte von denen der Kontrollen war grösser und nach 10 Tagen war der Wert noch tiefer als bei den jungen Tieren (Figur).

In der Figur ist die prozentuale Abweichung des QO_2 bei Tieren in der Höhe von dem QO_2 der Kontrolltiere im Tal angegeben. Zur Berechnung wurde der nächstliegende Kontrollwert zu jedem Messwert verwendet. Das Körpergewicht der jungen Tiere stieg in der Höhe gleich an wie

bei den Kontrolltieren im Tal. Bei den alten Tieren war ein mittlerer Gewichtsabfall von 548 auf 532 g nach 24 h in der Höhe zu beobachten. Ein Gewichtsverlust von 12-16 g im Vergleich zu ursprünglichen Werten wurde während der Beobachtungsperiode nicht aufgeholt.

Diskussion. Im Gegensatz zu alten Tieren ergab sich bei jungen Tieren 24 h nach Übergang in die Höhe eine grosse Streuung der QO_2 Werte bei geringer Abweichung des Mittels unter den Normalwert. Die Senkung des QO_2 zeigte sich bei beiden Altersgruppen am 3. Tag deutlich und erreichte am 5. Tag bei beiden Altersgruppen den tiefsten Wert. Dies war zu einer Zeit, bei der bei jungen Tieren die Futteraufnahme wieder normal ist² und die Zahl der Erythrocyten im Blut Maximalwerte erreicht⁵. Der normale O_2 -Umsatz der Leber wurde auch nach 10 Tagen Höhenaufenthalt weder von jungen noch von alten Tieren erreicht, was als Zeichen dafür gelten kann, dass für diese Funktion die Akklimatisation noch nicht abgeschlossen war. Bei den Untersuchungen von SUNDSTROEM und MICHAELS war bei 350 mm Hg am 7. Tag der QO_2 der Leber wieder normal und stieg dann über den Normalwert bis zum 14. Tag weiter an.

Im Hinblick auf die Polycythaemie ab 3. Tag in der Höhe kann angenommen werden, dass in unseren Versuchen nicht der O_2 -Transport, sondern der O_2 -Umsatz in der Leber vom 3.-10. Tag nach Übergang in die Höhe gestört war. Dies wird unterstützt durch die Eigenarten der Messmethode selbst, indem *in vitro* auch bei 100% O_2 die Atmung des Gewebes vermindert war. Nach den Untersuchungen kann nicht gesagt werden, wo in der



Abweichung des mittleren QO_2 der Leber (mit SE) in % von Tieren in der Höhe, bezogen auf Kontrolltiere im Tal. — junge Tiere; alte Tiere.

⁴ H. A. KREBS, Biochem. biophys. Acta 4, 249 (1950).

⁵ P. TIMIRAS, Department of Physiology, Berkeley, persönliche Mitteilung.

Tab. II. Mittelwerte des QO_2 der Leber von Tieren im Tal (540 m) und in der Höhe (3450 m)

	Tage in 3450 m Höhe					Kontrolle (540 m)		
	1.	8.	5.	7.	10.	vorher	Mitte	nachher
Junge Tiere (N = 4)	1. Versuch	6,13	5,15	4,81	5,61	5,83	5,45	5,93
	2. Versuch	5,34	5,71	5,33	5,12	5,20	6,24	6,59
Alte Tiere (N = 4)		4,87	—	3,91	—	4,55	5,40	—

Zellatmungskette die Ursache für diesen verzögerten O_2 -Umsatz zu suchen ist. Er liegt sicher nicht in einer Glykogenentleerung der Leber; denn wie unsere Untersuchungen über die 24-h-Rhythmus des QO_2 der Rattenleber gezeigt haben, erreicht der QO_2 die höchsten Werte wenn der Glykogengehalt am tiefsten ist⁶.

Früher wurde die Messung der tiefen Darmtemperatur oder der Lebertemperatur als indirekte Methode zur Bestimmung des oxydativen Stoffwechsels der Leber verwendet. Danach war die Senkung der Temperatur Ausdruck verminderter O_2 -Umsatzes. Messungen der Temperatur der Leber von Kaninchen ergaben während einer Beobachtungsperiode von 4 h eine Temperatursenkung von 4°C nach Überführung der Tiere in 10% O_2 . Die Temperatursenkung setzte sofort ein und erreichte den tiefsten Wert nach 3-4 h⁷. FLÜCKIGER und VERZÁR⁸ untersuchten die tiefe Darmtemperatur von Ratten im Unterdruck bei 350 mm Hg. Die Temperatur fiel ebenfalls nach kurzer Zeit, doch wurden die Ausgangswerte innerhalb von 4 Tagen wieder erreicht.

Die tiefe Darmtemperatur wurde von uns nicht gemessen. Bei einem Vergleich der Ergebnisse der Untersuchungen über den Temperaturabfall bei O_2 -Mangel mit unseren Ergebnissen wird jedoch klar, dass die Messung der tiefen Körpertemperatur in der Nähe der Leber oder in der Leber selbst kein sicherer Parameter zur Erfassung der Adaptation des O_2 -Umsatzes der Leber ist. Nach unseren Untersuchungen war der O_2 -Umsatz am stärksten herabgesetzt, als nach den Untersuchungen von FLÜCKIGER und VERZÁR die Temperatur wieder normal

war. Hier liegen danach verschiedene Adaptationsvorgänge vor, die erst durch die Art der Methoden erkennbar werden und sich voneinander trennen lassen.

Summary. The O_2 -consumption of liver tissue of male rats of different ages during the first 10 days at an altitude of 3540 m was significantly decreased on the 5th and 7th day. The deviation from the controls at ground level was - 19% in 40-day-old and - 30% in 11-month-old male rats.

M. KIKUCHI⁹ und W. H. WEIHE¹⁰

Hochalpine Forschungsstation Jungfraujoch, Bern (Schweiz), 29. Juli 1964.

⁶ M. KIKUCHI und W. H. WEIHE, Exper. 20, 704 (1964).

⁷ A. GOEBEL und W. KLANTE, Z. ges. exp. Med. 121, 84 (1953).

⁸ E. FLÜCKIGER und F. VERZÁR, Helv. physiol. Acta 10, 349 (1952).

⁹ Institut für Hygiene, Medizinische Fakultät, Juntendo Universität, Tokyo, Japan. Auslandsstipendiat der Schweizerischen Regierung (1963-64). Für die Überlassung eines Laboratoriums und der Apparate möchte ich Herrn Prof. A. v. MURALT auch an dieser Stelle danken.

¹⁰ Die Arbeit wurde unterstützt von der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften, Deutschland. Ein Teil der Versuchstiere wurde uns freundlicherweise von der Hoffmann-La Roche AG, Basel, durch Herrn Dr. LOOSLI, Füllinsdorf (BL) zur Verfügung gestellt.

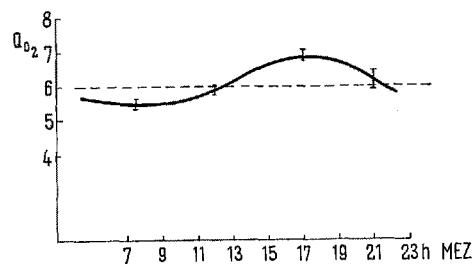
Tagesperiodik des O_2 -Umsatzes der Rattenleber

Es kann vorausgesetzt werden, dass alle physiologischen Funktionen im Organismus eine Tagesperiodik aufweisen¹. Die Funktionen haben danach in ca. 24 h Phasen mit hoher und niedriger Aktivität. Die Untersuchungen der Tagesperiodik einer physiologischen Funktion ermöglicht es, für das Experiment die Zeit zu wählen, zu der sie für die Fragestellung gewünschte Aktivität zeigt. Zum Zeitpunkt unserer Untersuchungen über den Sauerstoffumsatz der Leber während der Höhenakklimatisation² war über die Tagesperiodik der Atmung des Lebergewebes *in vitro* nichts bekannt³. Wir haben die Tagesperiodik bei jungen Ratten im Alter von 40-50 Tagen untersucht. Von allen Lebensphasen der Ratte ist der Sauerstoffumsatz in dieser Altersperiode am höchsten und deshalb sind tagesperiodische Schwankungen am deutlichsten ausgeprägt⁴.

Material und Methoden. Verwendet wurden männliche Sprague-Dawley Ratten unserer Zucht, Alter 40-50 Tage, frei von muriner Pneumonie. Die Tiere wurden in geräumigen Käfigen auf Hobelspanen gehalten; sie erhielten Wasser und Standardfutter (Altromin R) *ad libitum*; Raumtemperatur 22°C, R.F. 40-60%, Kunstdtag von 07.00-19.00 h. Töten der Tiere im Ätherrausch durch Ausbluten über die Bauchaorta. Schneiden der Leber über Eis nach DEUTSCH⁵, Schnittdicke ca. 0,5 mm, Bestimmung des QO_2 nach Warburg: 40-60 mg Feuchtgewebe pro Gefäß, Krebs-Ringer-Phosphatlösung ($CaCl_2 = 0,61\%$) als Medium, pH 7,3, Gasphase 100% O_2 ,

Wasserbadtemperatur 37,5°C. Berechnung des QO_2 als $mm^3 O_2/mg$ Leber Trockengewicht/h.

Ergebnis. Die Ergebnisse der Messungen sind in der Figur eingetragen. Die QO_2 -Werte lagen morgens um



Tageszeitliche Änderung des O_2 -Umsatzes von Lebergewebe (QO_2) *in vitro* (Mittelwerte mit Standardfehler), MEZ = Mittteleuropäische Zeit.

¹ J. ASCHOFF, in *Die Umwelt der Versuchstiere*. Int. Z. Vitaminforsch., Beiheft Nr. 9 (W. H. WEIHE, Hrsg.).

² M. KIKUCHI und W. H. WEIHE, Exper. 20, 704 (1964).

³ M. KIKUCHI und W. H. WEIHE, Int. J. Biometeor., in press.

⁴ M. KIKUCHI und W. H. WEIHE, in Vorbereitung.

⁵ W. DEUTSCH, J. Physiol. (Lond.) 87, 56 P (1936).