

results suggest that, in order to obtain correct information on the completeness of the conversion of prothrombin to thrombin as an indication of the effectiveness of the clotting mechanism, the prothrombin consumption should be determined thirty and sixty minutes after the completion of coagulation.

Fig. 2 shows the speed of neutralization in serum of thrombin formed during the coagulation of plasma. About 15 minutes after the completion of clotting, the thrombin activity of serum appears negligible. Speed

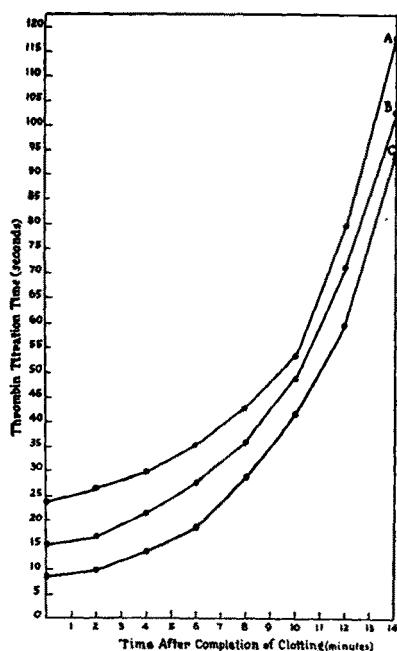


Fig. 2. — The rate of inactivation in serum of thrombin formed during the clotting of fresh human native plasma ("Thrombin inactivation curve"). (Average results of several experiments.)
A plasma from blood centrifuged at 2,000 r.p.m. for 10 minutes
B plasma from blood centrifuged at 2,000 r.p.m. for 5 minutes
C plasma from blood centrifuged at 800 r.p.m. for 5 minutes

and duration of centrifugation of plasma do not influence remarkably the velocity of neutralization of thrombin ("thrombin neutralization curve"). It can be seen, however, that the concentration of thrombin which can be determined at the completion of clotting is lower when the plasma has been subjected to progressively higher and more prolonged centrifugation. An explanation of this result is probably that, with a lesser number of platelets, the activation of thromboplastinogen is incomplete and so subsequently will be the conversion of prothrombin to thrombin. Furthermore, it should not be forgotten that in relatively platelet-free plasma the coagulation process proceeds slowly and is completed in the upper part of the test tube much sooner than in the lower part. It is then clear that, when the clotting is considered complete (uniform opacity of the plasma), part of the thrombin formed has already been neutralized.

Findings not presented here for considerations of space indicate that, even during the period immediately following coagulation, the thrombin present influences very limitedly the results of the prothrombin consumption test. The results presented in Fig. 2 show that fifteen minutes after the completion of clotting the thrombin formed has been completely neutralized and,

from that time forward, will not influence the results of the test.

Preliminary experiments have indicated that the "thrombin neutralization curve" shows definite delay in patients with thrombotic tendency. This observation is particularly promising as no reliable diagnostic tests are available today for the diagnosis of states of hypercoagulability, but more work is required to determine whether significant and constant variations from the normal of the "thrombin neutralization curve" may be found in these pathological conditions. M. STEFANINI

Department of Biochemistry, Marquette University School of Medicine, Milwaukee, Wisc., March 25, 1949.

Zusammenfassung

Mit neuartigen Methoden wurde die Geschwindigkeit untersucht, mit der das Prothrombin verbraucht und das Thrombin nach Beendigung der Gerinnung frischen menschlichen Plasmas inaktiviert wird. Die Geschwindigkeit des "Prothrombinverbrauchs" hängt von der Zahl der vorhandenen Blutplättchen ab. Sie wächst kritisch bei optimaler Blutplättchenzahl zwischen der 8. und 14. Minute nach Beendigung der Gerinnung.

Die Inaktivierung des während der Gerinnung gebildeten Thrombins wird nur sehr wenig von den im Plasma verbliebenen Plättchen beeinflusst. Sie geht rasch in den ersten 15 Minuten nach Beendigung der Gerinnung vor sich. Bei krankhaften Zuständen zeigt die Thrombinaktivierungskurve Veränderungen, die vielleicht diagnostisch bei der thrombotischen Diathese nützlich sein könnten.

Die Resultate des Prothrombinverbrauchstests werden durch das restliche Thrombin des Serums nicht beeinflusst, wenn die Bestimmung 30 bis 60 Minuten nach Beendigung der Gerinnung vorgenommen wird.

Influence de la folliculine sur le métabolisme calcique du pigeon étudiée à l'aide du radiocalcium

Une série de recherches exécutées à l'aide du radiocalcium¹ chez le pigeon en repos sexuel, en activité ovarienne spontanée ou en activité provoquée nous a permis de confirmer ou d'établir les faits suivants:

1° L'excration du calcium injecté au pigeon en repos sexuel suit une courbe absolument régulière contrastant avec les écarts journaliers de l'élimination entéro-rénale du calcium total. La première ne dépend en effet que du métabolisme calcique tissulaire, tandis que la deuxième est soumise à des variations d'ordre alimentaire ou digestif.

2° L'excration du calcium total chez le pigeon soumis à la folliculine atteint un minimum au 17^e jour d'administration de l'hormone; par contre, celle-ci provoque la rétention maximum du radiocalcium injecté vers le 7^e jour. La folliculine exercerait donc sur la résorption intestinale du calcium une action indépendante de son influence sur le métabolisme tissulaire de ce dernier.

3° La cessation des injections de folliculine provoque une décharge calcique dans les excréts: celle-ci dépend d'un arrêt de la résorption intestinale autant que d'une

¹ Le radiocalcium nous a été fourni par la Commission américaine de l'énergie atomique.

élimination brutale du calcium accumulé dans les tissus mous et dans le squelette.

4° Pendant l'administration de folliculine, le radio-calcium injecté s'emmagesine non seulement dans l'os médullaire néoformé, mais également dans la diaphyse ancienne par suite d'une accélération des échanges minéraux. Ce phénomène n'apparaît que dans les os susceptibles de devenir le siège d'une ossification endostale à l'exclusion absolue des autres, par exemple, l'humérus et le bréchet.

5° Au cours d'expériences antérieures réalisées à l'aide du radiophosphore, l'humérus accusait une accélération du remplacement du phosphore; nous n'avons pu observer ce fait pour le calcium. Le métabolisme de ce dernier est donc dissocié de celui du phosphore, quoique la plus grande partie de ces deux éléments appartienne à la même molécule.

6° L'injection de folliculine (0,25 mg par jour) au pigeon en activité sexuelle spontanée provoque apparemment les mêmes phénomènes que chez le pigeon au repos sexuel, ce qui indique une sécrétion physiologique d'hormone quantitativement bien inférieure à la dose administrée.

7° Chez le pigeon au repos sexuel, à la fin de l'expérience (23 jours) l'équilibre entre l'activité spécifique du sang et celle de l'os n'est pas encore atteint par suite de la lenteur des échanges calciques de ce dernier. Chez le pigeon soumis à la folliculine, cet équilibre s'établit en moins de 23 jours pour les os qui sont le siège d'ossification endostale.

8° La durée de vie biologique de l'atome de calcium atteint 78 jours chez les pigeons soumis constamment à l'action de la folliculine; elle est de 45 jours seulement chez les sujets au repos sexuel. L'interruption des injections de folliculine raccourcit cette durée par suite de la décharge de calcium faisant suite à la mise en réserve de celui-ci.

Le détail de nos résultats fera l'objet d'un mémoire qui sera publié ultérieurement.

J. MELON, J. GOVAERTS et M. J. DALLEMAGNE

Institut de minéralogie et de cristallographie, Laboratoire de physique nucléaire et Laboratoires de biochimie, Université de Liège, le 2 mai 1949.

Summary

Metabolic studies were performed in pigeons by using isotopically marked calcium (Ca^{45}) injected subcutaneously. 16 birds receiving a normal diet were divided into 5 series: (1) controls, (2) daily intramuscular administration of oestrogen, (3) temporary administration of oestrogen, (4) and (5) pigeons with spontaneous ovarian activity which had or had not received oestrogen. A detailed report of the findings and conclusions herein listed will be published elsewhere.

Calcium et action potentiatrice de quelques amines sympathicomimétiques sur la contraction du muscle strié non fatigué de mammifère

Etudiant l'action de l'adrénaline $1,10^{-6}$ sur une préparation neuro-musculaire isolée de mammifère, nous avons pu montrer avec G. L. BROWN que la fatigue n'est pas une condition nécessaire à la mise en évidence de l'action «potentiatrice» de cette amine sympathico-

mimétique¹. Cette propriété n'est pas particulière au diaphragme de rat, car nous avons pu la retrouver sur le tibial antérieur du chat stimulé par des chocs maximaux sur le nerf sciatique au rythme de 6 par minute: l'injection de $10 \mu\text{g}$ d'adrénaline lévogyre dans l'artère tibiale provoque une augmentation de la tension contractile du muscle de 2 à 15%. Il s'agit d'une action directe de l'adrénaline sur la fibre musculaire striée, car on peut reproduire le phénomène sur la préparation diaphragme-nerf phrénique du rat et sur le tibial de chat complètement curarisés, le muscle étant stimulé directement.

Dans une première note¹, nous avons signalé l'action empêchante du potassium du milieu sur l'effet potentiateur de l'adrénaline: si on double la teneur en potassium du tyrode dans lequel baigne la préparation neuro-musculaire de rat, l'augmentation du «twitch» maximal

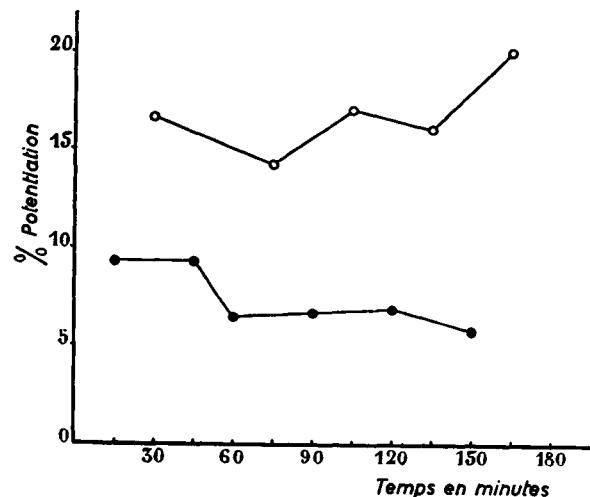


Fig. 1. - Pourcentage de potentiation du twitch maximal d'une préparation isolée diaphragme-nerf phrénique de rat, par l'adrénaline lévogyre $1,10^{-6}$. Le muscle est stimulé par son nerf, alternativement dans du tyrode sans K^+ (points noirs) et dans du tyrode sans K^+ , avec une teneur en CaCl_2 double de la normale (points blancs).

par l'adrénaline $1,10^{-6}$ est nulle ou médiocre: en liquide de tyrode normal, elle ne manque jamais et en tyrode sans potassium elle est beaucoup plus marquée. Si au contraire, maintenant constant le taux du potassium, nous faisons varier la teneur en calcium du bain, nous obtenons des résultats irréguliers ne correspondant pas à ce que nous pouvions attendre en fonction de la balance K/Ca . Notre première impression avait été que c'était la concentration absolue du milieu en ions K^+ qui influençait l'action de l'adrénaline. Les expériences qui sont rapportées ici montrent que le calcium favorise l'action de l'adrénaline sur le muscle strié dans de nombreuses proportions.

Nous avons utilisé la préparation isolée diaphragme-nerf phrénique de rat² excitée par des chocs maximaux sur le nerf, toutes les 10 secondes. Le liquide du bain est du tyrode sans potassium, et nous enregistrons l'effet potentiateur de l'adrénaline lévogyre $1,10^{-6}$ pendant 5 minutes: ce tyrode contient 0,2 g % CaCl_2 anhydre. Après lavage, nous remplâtons le liquide qui baigne la préparation par du tyrode sans potassium contenant 0,4 g CaCl_2 au litre. L'opération est répétée plusieurs fois consécutivement. La figure 1 montre

¹ M. GOFFART et G. L. BROWN, C. R. Soc. Biol. 141, 958 (1947).

² E. BÜLBRING, Brit. J. Pharmacol. Chemoth. 1, 38 (1946).