

PT 11 19 69

# REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE

BIOL. INV. 69

— SÉRIE DE ZOOLOGIE —

TOME 12

1967

N° 1

## COMITÉ DE RÉDACTION

*Rédacteur en chef :*

EUGEN PORA, membre de l'Académie de la République  
Socialiste de Roumanie

*Rédacteur en chef adjoint :*

R. CODREANU, membre correspondant de l'Académie de  
la République Socialiste de Roumanie

*Membres :*

MIHAI A. IONESCU, MIHAI BĂCESCU, OLGA NECRA-  
SOV, GRIGORE ELIESCU, membres correspondants de  
l'Académie de la République Socialiste de Roumanie;  
MARIA CALOIANU, *secrétaire de rédaction.*

Les manuscrits, les livres et les revues  
proposés en échange, ainsi que toute  
correspondance seront envoyés à la  
rédaction : 296, *Splaiul Independenței,*  
Bucarest, Roumanie.

## SOMMAIRE

	<u>Page</u>
E. ALEXA, Les particularités morpho-physiologiques du cœur et de la circulation chez la grenouille . . . . .	3
GH. BURLACU, ELEONORA ERHAN, GH. NĂSTĂSESCU and M. CORCĂU, Investigation on the energy balance in silkworm ( <i>Bombyx mori</i> L.) . . . . .	13
I. KIRICUȚĂ, I. MUSTEA, A. BOZAG et I. ROGOZAN, L'altération de la respiration tissulaire à l'état de choc . . . . .	17
C. A. PICOȘ and E. CHENZBRAUN, Comparative investigations on the respiration of the brain . . . . .	23
M. POP, Aspects métaboliques du phénomène de l'accoutumance . . . . .	31
D. POPOVICI, G. JURENCOVA et N. VERMEȘAN, Le développement de la réactivité immunologique pendant l'ontogenèse et le transfert des anticorps de la mère au nouveau-né chez les ruminants . . . . .	39
EUGÈNE A. PORA et N. CRISTEA, Modifications réflexes du sodium et du potassium sanguins, dues aux excitations des entérocepteurs intestinaux . . . . .	47
ISABELA POTOP et ELENA JUVINĂ, Influence de l'athymie expérimentale et de l'administration d'un extrait protéique du thymus sur le Fe plasmatique, sur l'activité de la catalase hépatique, sur l'hémoglobine chez le rat . . . . .	53
G. VLĂDESCU and MARGARETA BALTAC, Investigations on glycoregulation in house-snake ( <i>Natrix natrix</i> L.) . . . . .	61



7153

REVUE ROUMAINE DE  
BIOLOGIE  
SÉRIE DE ZOOLOGIE  
N° 1  
1967  
TOME 12  
SOMMAIRE

LES PARTICULARITÉS MORPHO-PHYSIOLOGIQUES  
DU CŒUR ET DE LA CIRCULATION CHEZ  
LA GRENOUILLE\*

PAR

E. ALEXA

The paper gives a brief account on the main research directions drawn up so far for the purpose to offer a few explanatory facts relating to the manner the trica-meral heart does its job.

It contains some personal contribution to research-issues bearing on the physiology of the unique ventricle in frogs, the disposition and role played by the ventricu-lary cells, the work done by the ventricle and its part in the blood-evacuation process.

The paper discusses further the problem of excitability and conductivity, the cir-culatory process of the two kinds of blood in the ventricle, showing some aspects of the circulation process taking place in the big vessels.

The physiological peculiarities of the right and left myocardium in connection with the tissulary respiration and its reactivity towards certain substances is also dealt with in the paper.

L'existence du cœur tricaméral, trait caractéristique des Amphi-biens et des Reptiles, soulève du point de vue physiologique d'intéres-sants problèmes comme la répartition au niveau du ventricule unique des deux sortes de sang, oxygéné et non oxygéné, l'existence ou l'absence d'un mélange de ces deux sortes de sang, la modalité d'évacuation du ventri-cule et enfin l'éventuelle répartition élective dans les artères.

La solution de ces problèmes serait d'un intérêt tout particulier pour les Amphibiens, car ils représentent le premier groupe d'animaux, en ordre phylogénétique, où l'on trouve de vrais poumons et une petite circulation comme résultat de l'adaptation partielle à la vie terrestre. Pourtant, jusqu'à présent les opinions sur le fonctionnement de ce type de cœur sont très controversées.

Les recherches dans ce domaine sont axées, en général, sur l'étude du cœur de grenouille. E. Brücke (1852) [7] et A. Sabatier, (1873) [22] font

\* Travail présenté à la Première Session de Physiologie animale (Cluj, 25-28 mai 1965),

une minutieuse étude surtout du ventricule et du bulbe cardiaque, les deux parties du cœur qui ne présentent pas une séparation nette pour le passage des deux sortes de sang, et où se pose donc le problème de l'existence ou l'inexistence d'un mélange du sang artériel avec celui veineux.

Les deux auteurs présentent le ventricule comme une éponge, dont les cryptes et aréoles sont remplies par du sang veineux réparti surtout dans la région droite, du sang artériel surtout dans la région gauche et mélangé au milieu. Chaque catégorie de sang est éliminée ensuite par les contractions successives du ventricule, d'abord la région droite et ensuite la région gauche. La valvule spirale du bulbe cardiaque aurait le rôle de permettre la pénétration du sang non oxygéné seulement dans les artères pulmo-cutanées, de celui mélangé dans les aortes et du sang le plus oxygéné, arrivé le dernier, dans les carotides. C'est le point de départ de la théorie, devenue classique, du mélange partiel. Cette théorie est soutenue plus tard par les recherches physiologiques de L. Acolat (1931) [1] et de G. Noble [20].

Pourtant d'autres recherches comme celles de Gompertz (1884) [13], de E. Gaupp (1888) [12], de A. Greil (1903) [14], de R. Shaner (1924) [23], et surtout celle de A. Benninghoff (1929) [5] ne concordent pas sur tous les points avec la théorie de Brücke-Sabatier.

En étudiant la répartition des fibres musculaires dans la paroi spongieuse du myocarde, Benninghoff considère que le ventricule se contracte simultanément dans toutes ses parties. Il reste pourtant un adepte de la théorie du mélange partiel et de l'élimination successive, en accordant un rôle prépondérant au fonctionnement de la valvule spirale, de même qu'à la position vers la droite de l'orifice du bulbe cardiaque.

Les recherches anatomo-histologiques de Greil relèvent aussi l'existence d'une formation nommée « pont bulbo-auriculaire » qui délimite un demi-canal à la base du ventricule, canal qui communique d'un côté avec l'orifice atrio-ventriculaire et d'un autre avec celui bulbaire. Par ce canal passerait du sang non oxygéné arrivé de l'oreillette droite, directement vers le bulbe, sans atteindre la systole ventriculaire.

Toutes ces données morphologiques sur le ventricule unique de grenouille, quoique absolument nécessaires pour la physiologie de la circulation, ne sont pourtant pas suffisantes pour éclaircir le fonctionnement du cœur.

En effet, au fur et à mesure que les techniques expérimentales se perfectionnent, des recherches physiologiques proprement dites s'accroissent aussi; on étudie la mécanique du cœur, la circulation des deux sortes de sang dans l'unique ventricule et la répartition du sang dans les grands vaisseaux qui émergent du cœur.

Nous constatons pourtant qu'aucune des méthodes graphiques usuelles d'enregistrement n'a pu mettre en évidence une succession de contractions pour les différentes régions du ventricule.

D'ailleurs une succession de contractions devrait être précédée aussi par une différence dans la propagation du procès d'excitation. Pourtant, les recherches électrocardiographiques du cœur de grenouille ne signalent pas une pareille différence. Il n'y a que les travaux de E. I. Borisova et V. C. Rusinov (1941) [6], qui présentent des ECG. pris quelques heures après la mise à nu du cœur et qui trouvent un asynchronisme dans la

propagation de l'excitation pour les deux moitiés ventriculaires, entre lesquelles existe une région à labilité très réduite.

Si ces expériences ne confirment pas, sur le cœur normal, l'existence d'une succession dans la propagation de l'excitation dans le ventricule de grenouille, elles attirent l'attention sur le fait que les propriétés de base du myocarde ventriculaire peuvent se modifier de façon différente, même si le cœur tout entier est soumis aux mêmes conditions.

Les recherches modernes signalent aussi d'autres particularités microstructurales et physiologiques pour les différentes régions ventriculaires du cœur de grenouille. W. Burridge (1955) [8] et A. P. Sharma (1960) [26] soutiennent que la moitié droite du ventricule est constituée par des fibres musculaires rouges, tandis que la moitié gauche est constituée par des fibres blanches. Ils trouvent aussi une réactivité différente de ces régions pour des substances comme l'adrénaline, le phosphate tripotasique, la digitale et d'autres extraits végétaux.

Les recherches physiologiques concernant la circulation soit dans le ventricule, soit dans les grands vaisseaux, ne concordent pas non plus.

Une contribution remarquable dans ce domaine est celle de L. Acolat. Ses recherches indiquent entre autres le rôle des valvules atrio-ventriculaires qui en ouvrant l'orifice forment une vraie cloison par l'entraînement du septum interauriculaire très bas dans le ventricule. Ainsi se forment deux canaux, l'un dans la continuation de l'oreillette droite, l'autre dans la continuation de l'oreillette gauche. Ceci explique une répartition assez nette des deux sortes de sang au niveau du ventricule. Acolat considère qu'au niveau des vaisseaux il y a une répartition élective à cause d'une différence de pression entre les artères pulmo-cutanées, d'un côté, et les aortes et carotides d'un autre; cette différence de pression est pourtant contestée récemment par F. J. Haberich (1965) [15].

Acolat considère aussi qu'il y a obligatoirement un mélange dans les aortes à cause de la différence de volume des deux oreillettes.

Pourtant à la même époque (1933), F. Vandervael [30] considère qu'il y a du mélange des deux sortes de sang aussi bien dans le ventricule que dans les vaisseaux. La même opinion est soutenue par G. E. H. Foxon [10, 11] et E. W. Walls [9], en 1947, quoique plus tard ils reviennent à la théorie classique.

D'autres solutions pour la circulation dans le cœur tricaméral sont apportées par Ozorio de Almeida (1923) [2], ou par M. L. Peelle (1931) [21], qui parlent d'ondes veineuses et artérielles qui ne se mélangent pas, ou par J. R. Simons et A. R. Michaelis (1957) [28], qui plaident pour une séparation complète des deux sortes de sang. Aux mêmes conclusions arrive H. L. Sharma (1957) [24, 25], basé sur des observations anatomo-histologiques chez *Rana tigrina*.

Actuellement, les recherches sur la physiologie du cœur tricaméral sont poursuivies par K. Johansen (1963) [17, 18], chez *Amphiuma tridactylum*, par F. J. Haberich (1965) [15], chez *Rana esculenta* et *Rana temporaria* et par nous-mêmes (1959-1965), chez *Rana ridibunda* [3, 4], [16].

Les méthodes utilisées par les différents auteurs cités sont variées et ingénieuses: perfusion à liquides colorés (Acolat), introduction d'encre de Chine et observation par transillumination (Vandervael), introduction

de substances radio-opaques (Foxon et Walls), injection de substances fluorescentes (Simons et Michaelis).

Malgré ces efforts, ni le problème de la mécanique du cœur tricaméral, ni celui de la circulation dans le ventricule unique et dans les vaisseaux ne sont pas encore résolus.

Cette situation nous a déterminé à étudier quelques aspects du problème, en nous limitant pour le moment à la physiologie du ventricule unique de *Rana ridibunda*.

Nos recherches ont poursuivi jusqu'à présent la disposition et le rôle des loges ventriculaires dans le fonctionnement du cœur, de même que la mécanique de la paroi ventriculaire et son rôle dans l'évacuation du sang. Nous avons continué par l'étude des propriétés d'excitabilité et de conductibilité. Nos recherches essayent d'envisager aussi le problème si difficile de la circulation des deux sortes de sang dans le ventricule et quelques aspects de leur répartition dans les grands vaisseaux. Enfin, nous signalons aussi des particularités physiologiques du myocarde droit et gauche ventriculaire, du point de vue de leur réactivité et de la respiration tissulaire.

Nos conclusions sont dues à l'utilisation de différentes méthodes de travail.

1. L'étude morpho-physiologique des loges du ventricule de grenouille a été faite par l'introduction dans le cœur d'une émulsion de masse plastique ([16] t.7, p. 1). En étudiant les moulages internes obtenus, nous avons constaté que la structure macroscopique interne de la région gauche du ventricule est différente de celle de la région droite. L'intérieur de la région droite, à laquelle appartient aussi la pointe du ventricule, est formé d'une petite chambre centrale, aplatie en direction antéro-postérieure. Du fond de cette chambre centrale se détachent des loges radiaires situées dans le plan sagittal et dirigées dans le sens de l'axe longitudinale du cœur. La région gauche est formée par les ramifications « en bouquet » d'un canal transversal, qui constitue le moyen de communication avec la région droite.

Les loges radiaires et les ramifications « en bouquet » se terminent par des diverticules lamellaires qui ne s'anastomosent pas entre eux.

La structure macroscopique interne de la région droite du ventricule se superpose à celle indiquée par Benninghoff. Mais les particularités trouvées par nous pour la région basale gauche, de même que la présence des diverticules lamellaires non anastomosées, ne sont pas mentionnées dans la littérature. Il n'y a que Sabatier qui ait observé des trabécules plus vigoureuses dans la région droite et la pointe du ventricule et des trabécules plus anastomosées dans la région gauche.

L'étude des moulages internes du cœur nous indique aussi que pendant la systole, la position des loges ventriculaires est différente pour la région droite par rapport à la région gauche; par le déplacement de la pointe vers la gauche les loges radiaires se disposent dans la direction du canal bulbaire, tandis que le canal transversal gauche reste dans une direction perpendiculaire sur la ligne bulbe-pointe.

2. La recherche de la mécanique ventriculaire a été poursuivie par l'observation des déplacements locaux de la paroi ventriculaire. Cette étude a été faite par l'utilisation de repères placés sur la face ventriculaire et l'enregistrement photographique et cinématographique de leurs

déplacements, ayant l'ECG comme indice du cycle cardiaque [16]. Elle a été complétée par l'utilisation de la méthode photomécanographique [16], qui consiste dans l'enregistrement des différences de potentiel fournies par une cellule photoélectrique lorsque dans le chemin du faisceau lumineux s'interposent les repères, comme obstacles opaques et mobiles. Toutes ces méthodes nous ont permis d'étudier dans les plus petits détails et avec une grande précision, les diverses composantes spatiales des courbes décrites par les repères.

Nous avons ainsi constaté qu'on ne peut pas démontrer une succession dans la contraction de la région droite par rapport à la région gauche. La contraction du ventricule s'effectue simultanément dans toutes les régions; c'est la disposition des loges et des fibres musculaires qui détermine la variabilité des déplacements de la paroi ventriculaire.

Ces déplacements, de même que le balancement de la pointe expliquent l'élimination successive des deux sortes de sang veineux et artériel.

Nous constatons aussi que les particularités fonctionnelles du ventricule sont étroitement liées aux particularités de structure. Les déplacements les plus importants, du point de vue spatial, s'exécutent suivant l'axe des grandes loges intraventriculaires: la composante cranio-caudale pour la région droite et la composante latérale pour la région gauche.

Il est intéressant aussi de remarquer que le déplacement en ligne droite, base-pointe-du repère médian coïncide avec la région à labilité réduite trouvée par Borisova et Rusinov, en même temps qu'avec la position des colonnes musculaires signalées par Sabatier et que nous considérons être placées justement à la séparation des régions droite et gauche.

3. Les recherches concernant la propriété d'excitabilité et celle de propagation de l'excitation dans le ventricule, ont été faites par chronaximétrie et électrocardiographie. Les résultats ne sont pas tout à fait satisfaisants à cause des grandes variations individuelles, tant en ce qui concerne les valeurs de la chronaxie, qu'en ce qui concerne l'aspect des ECG. Les valeurs chronaximétriques pour la région droite (environ 1,16 sigma) sont un peu plus petites que celles de la région gauche (environ 3,14 sigma). Puisque les valeurs les plus grandes appartiennent au sillon atrio-ventriculaire (5,64 sigma), fait établi aussi par M. Lapique et C. Veil [19], il est possible que les différences d'excitabilité soient dues à la présence, plus ou moins grande, dans la région respective, du tissu spécifique conducteur.

L'étude électrocardiographique a été faite à l'aide du poly-inscripteur «Atlas 4», ce qui nous a permis l'enregistrement simultané d'ECG par dérivations unipolaires, pour les différentes régions du ventricule. La dépolarisation de la paroi endocardiaque présente un très léger assynchronisme; elle commence par la pointe, après 0,02 sec elle envahit la région droite et après un autre intervalle de 0,02 sec la région gauche. Les différences sont extrêmement petites et il est difficile d'admettre qu'elles sont la cause d'une succession de contractions, d'autant plus que le maximum de la dépolarisation épicaudique (la pointe de l'onde R) est plus précoce dans la région gauche; ce dernier phénomène est lié probablement à la grosseur différente du myocarde ventriculaire dans les régions étudiées.

4. Basés sur les connaissances acquises au sujet de la mécanique ventriculaire et de sa structure macroscopique interne, nous avons essayé d'aborder aussi le problème de la circulation.

Les objectifs que nous nous sommes fixé dans l'étude de ce problème sont les suivants :

— Rechercher si la structure macroscopique mise en évidence par l'introduction de masse plastique a seulement une valeur morphologique, ou bien aussi une valeur physiologique. Rechercher donc si le sang éliminé par les oreillettes occupe les loges ventriculaires du même côté en totalité ou partiellement, si la région gauche est donc une région à remplissage électif.

— Contrôler si une partie du sang veineux de l'oreillette droite a les conditions nécessaires pour passer directement dans le bulbe cardiaque.

— Essayer de poursuivre la répartition des deux sortes de sang dans les grands vaisseaux, surtout dans les deux aortes, où le problème de l'existence d'un mélange reste encore sans une solution précise.

Dans ce but nous avons utilisé différentes méthodes : la perfusion du cœur par des liquides colorés, méthode utilisée par Acolat, que nous avons modifié seulement dans le système de la prise des échantillons [16]. Dans le même but, nous avons utilisé l'étude radiologique du cœur après introduction de substance de contraste [3].

La première méthode nous indique que dans les conditions des débits normaux, pour chaque oreillette il y a une séparation nette des liquides de perfusion au niveau du ventricule. Il n'existe donc aucun mélange. Le liquide bleu qui arrive dans l'oreillette droite envahit seulement la région droite du ventricule (chambre centrale, loges radiaires et diverticules lamellaires respectifs), tandis que le liquide rouge qui arrive dans l'oreillette gauche est réparti dans les ramifications en bouquet de la région basale gauche du ventricule.

Si l'on augmente le débit de la perfusion à liquide rouge, on peut trouver un filet rouge dans la région droite, par la pénétration forcée de ce liquide sous le bord du septum interauriculaire, qui normalement fait une vraie cloison au niveau du canal transversal, lorsque les valvules atrio-ventriculaires sont ouvertes.

Si l'on augmente le débit du liquide bleu, qui passe par l'oreillette droite, on ne constate jamais des filets bleus dans la région gauche ce qui prouve que la région droite du cœur a des possibilités variées pour enmagasiner une quantité accrue de sang (sinus veineux, loges radiaires, diverticules lamellaires).

Nous constatons aussi que le ventricule élimine son contenu sous forme de filets, ainsi que l'avait observé Ozorio de Almeida. On peut retrouver les mêmes filets dans les grands vaisseaux, ce qui indique l'existence d'une circulation laminaire, fait récemment confirmé par les recherches de Haberich.

Après l'étude radiologique de la circulation dans le cœur de grenouille, nous avons constaté que l'existence d'une différenciation dans la disposition des loges pour les deux régions, se trouve confirmée.

Ainsi, la zone basale gauche du ventricule se comporte, du point de vue fonctionnel, comme un vrai ventricule gauche, quoique la séparation anatomique complète manque.

Dans nos conditions de travail, la méthode radiologique ne nous a pas permis de poursuivre le torrent veineux ou artériel dans les vaisseaux, mais elle paraît indiquer une succession dans l'élimination du sang.

En ce qui concerne le rôle du pont bulbo-auriculaire, pour le passage du sang veineux directement dans le bulbe cardiaque, nous croyons avoir trouvé la solution à l'aide de l'enregistrement de la pression intraventriculaire et intrabulbaire, par la méthode électromanométrique [4]. Les valeurs pour la pression intraventriculaire maximum sont situées entre 12—16 mm Hg et celles minimum entre 0— $\pm 1$  mm Hg. Pour le bulbe, la valeur maximale est la même que celle ventriculaire et celle minime ne baisse pas sous 4 mm Hg. Nous sommes donc arrivés à la conclusion que l'hypothèse d'un écoulement direct du sang veineux vers le bulbe cardiaque, par le pont bulbo-auriculaire, sans l'intervention de la systole ventriculaire est insoutenable. Le gradient de pression bulbo-ventriculaire s'oppose donc à un écoulement ventriculo-bulbaire pendant la diastole.

En ce qui concerne la circulation dans les vaisseaux, nous croyons que les opinions controversées sont dues aux techniques utilisées. Chez la grenouille, même les grands vaisseaux, ont un calibre fort réduit et la quantité totale de sang est très petite. Or, la prise de sang, soit avec une aiguille de seringue, soit par des canules, de même que la perfusion artificielle du cœur, change sûrement la répartition des deux sortes de sang. Tout ceci nous a déterminé à chercher une méthode qui puisse éliminer ces inconvénients.

Basés sur la méthode électrique, utilisée par G. N. Stewart [29], nous avons essayé de modifier par du NaCl 30‰, la conductibilité d'une des deux sortes de sang et de rechercher ensuite sa répartition dans les différents vaisseaux à l'aide d'électrodes intravasculaires très fines, liées à des ponts Wheatstone.

Il résulte qu'à de petites doses d'électrolytes, qui ne modifient que très peu le débit circulant d'une oreillette, il n'y a aucun mélange de sang veineux et artériel, ni dans le ventricule, ni dans les vaisseaux. A l'augmentation des doses d'électrolytes injectées, nous constatons toujours le passage de la solution tant dans les artères pulmo-cutanées que dans les aortes. La modification appréciable du débit de l'une des oreillettes mène à un changement de la répartition de son contenu ([4], p. 13).

Nos recherches, concernant la circulation, confirment donc l'hypothèse de la non-existence d'un mélange, mais en soulignent aussi l'importance du maintien d'un rapport constant des débits auriculaires.

Nous sommes ainsi arrivés à la conclusion que le mobile de l'évolution du cœur tricaméral des Amphibiens au cœur tetracaméral des vertébrés supérieurs pourrait être plutôt un déficit des mécanismes d'adaptation rapide des deux circulations, cutanée et pulmonaire, aux besoins variés de l'organisme, et non l'existence permanente d'un mélange de sang artériel et veineux au niveau du cœur.

5. Le dernier problème qui nous a fixé l'attention est représenté par les particularités de réactivité du myocarde ventriculaire droit et gauche, signalées par Burrigge et par Sharma.

Nous nous sommes proposé de surprendre la cause intime de la réactivité différente des deux régions ventriculaires. C'est ce qui nous a amené à perfuser le cœur pendant 4 heures par de l'adrénaline ou par du phosphate tripotassique et à rechercher si l'on obtient des modifications dans les extraits protéiniques de la région droite ou gauche ventriculaire, contrôlés par la méthode électrophorétique.

Des résultats obtenus, nous signalons surtout le fait que la perfusion prolongée avec la solution de Ringer qui contient de l'adrénaline, produit une modification de la solubilité des protéines contractiles myocardiques, mais seulement pour la région droite. Sans pouvoir préciser quelle est l'action directe ou indirecte de l'adrénaline sur les protéines myocardiques, nous pouvons envisager le fait que l'adrénaline augmente la nécessité du tissu en oxygène. De ce point de vue, nous constatons que les deux régions ventriculaires font face d'une modalité différente.

Cette dernière observation nous a conduit à poursuivre aussi la respiration tissulaire du myocarde des deux régions par la méthode manométrique de O. Warburg.

En étudiant les courbes qui résultent de la consommation d'oxygène par gramme de tissu et par heure pour la région droite ou gauche séparément, nous constatons toujours des valeurs plus grandes pour la première. Pour la région gauche, la consommation en oxygène est de 150—175 mme O<sub>2</sub> à 60 min et 250—275 mme O<sub>2</sub> à 120 min; pour la région droite, les valeurs sont : 192—204 mme O<sub>2</sub> à 60 min et 300—325 mme O<sub>2</sub> à 120 min.

Nous savons que le myocarde de grenouille ne possède pas de coronaires, il prend son oxygène directement du sang qui passe par le ventricule.

Si nous admettons que les besoins métaboliques du myocarde des deux régions sont égaux, il s'ensuit que le tissu myocardique de la région droite doit satisfaire les mêmes nécessités en oxygène à partir d'un milieu plus pauvre (sang veineux), que la région gauche, où la tension en oxygène est toujours plus grande (sang artériel). Ceci n'est réalisable que dans les conditions d'une affinité plus grande pour l'oxygène, du tissu myocardique droit. Il est fort probable d'ailleurs que ce tissu soit plus riche en myoglobine, ce qui donne sa couleur plus rouge en comparaison avec le tissu de la région gauche.

Ces dernières recherches nous conduisent encore une fois à la conclusion qu'il y a des différences de structure et de fonctionnement entre les deux régions ventriculaires du cœur de la grenouille. Ces différences sont dues soit à une adaptation spéciale du tissu myocardique aux conditions d'une irrigation par du sang à différents degrés d'oxygénation, soit à une apparition phylogénétique, différente en temps, des deux régions. La région gauche pourrait être une formation nouvelle, par rapport à la région droite, comme résultats de l'adaptation partielle à la vie terrestre des Amphibiens.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ACOLAT L., C. R. Acad. Sci. Paris, 1931, **192**, 767, 849; 1938, **206**, 207, 940.
2. OZORIO DE ALMEIDA, C. R. Soc. Biol. Paris, 1923, **39**, 33, 1019.
3. ALEXA E., BOINGEANU A., An. Şti. Univ. Iaşi, s.n., s.II<sup>e</sup>, 1961, 7.
4. ALEXA E., An. Şti. Univ. Iaşi, s.n., s.II<sup>e</sup>, 1962, **8**, 11; 1965, **9**, 13; 1965, **9**, 21.
5. BENNINGHOFF A., Morphol. Jahrb., 1921, **51**; 1931, **67**; 1929, **63**.
6. БОРИСОВА Е. И., РУСИНОВ В. К., Физиол. журн. СССР, 1942, **25**, 2, 216.
7. BRÜCKE E., Denk. kaiser. Akad. Wiss., Vienne, 1852.
8. BURRIDGE W., Arch. Intern. Pharmacodyn., 1955, **102**, 1—2, 139—145.

9. FOXON G. E. H., WALLS E. W., J. Anat., Londres, 1947, **81**, 111—176.
10. FOXON G. E. H., Nature G. B., 1947, **159**, 236—237.
11. — Proc. zool. soc., Londres, 1951, **121**, 529—538.
12. GAUPP E., EXKER A. und WIEDERSHEIM R., Braunschweig, 1899.
13. GOMPertz C. A., Arch. f. Anat. u. Physiol., 1844, 242.
14. GREIL A., Morphol. Jahrb., 1903, **31**.
15. HABERICH J. F., Pflügers Archiv f. g. Physiol., 1965, **282**, 76—91.
16. JITARIU P., ALEXA E., An. Şti. Univ. Iaşi, s.n., s. II, 1959, **5**, 1; 1960, **6**, 1; 1961, **7**, 1; 1961, **7**, 15.
17. JOHANSEN K., Nature, Londres, 1962, **194**, 991—992.
18. — Acta med. scand., Suppl., 1963, **402**.
19. LAPIQUE M., VEIL C., C. R. Acad. Sci. Paris, 1916, **163**, 103.
20. NOBLE C. K., New York, 1931.
21. PEELE M. L., J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., Ser. VI Zool., 1931, **2**, 55—93.
22. SABATIER ARMAND, Paris, 1873.
23. SHANER R., J. Anat. Londres, 1923; Anat. Rec., **29**, 1924; Anat. Rec., **39**, 1928; Anat. Rec., **44**, 1929.
24. SHARMA H. L., Proc. Ind. Sci. Cong., 1946, **3**.
25. — J. Morph., U.S.A., 1957, **100**, 2, 313—344.
26. SHARMA A. P., Indian J. Med. Res., 1960, **48**, 1, 79—95.
27. SIMONS J. R., J. Physiol., Londres, 1957, **137**, 1, 12—21.
28. SIMONS J. R., MICHAELIS A. R., Nature, Londres, 1953, **171**, 801.
29. STEWART G. N., Harwey Lectures, 1912.
30. VANDERVAEL F., Arch. Biol., 1933, **44**, 3.

Laboratoire de Physiologie animale  
de l'Université de Jassy

INVESTIGATION ON THE ENERGY BALANCE  
IN SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.)\*

BY

GH. BURLACU, ELEONORA ERHAN, GH. NĂSTĂSESCU  
and M. CORCĂU

The energy balance in silkworm is characterized by a percentage of physiologically employable energy of 56.85 per cent calories, by a specific dynamic action of 1.52 per cent calories, and a free energy of 55.33 per cent calories, of which 20.3 per cent calories are used for maintaining the function, and 35.04 per cent calories are deposited as body weight increase. Compared with other animals (birds, mammals) the silkworm turns food to a better account. This is due not so much to a higher percentage of digestibility, as to a more intense assimilation of food, which corresponds to a very small specific dynamic action.

Few data are known in connection with energy balance of animals except the investigation carried out in domestic animals — [3], [6], Kellner, Armsby (quoted from [5]), Möllgard (quoted from [4]) —, and in man — Rubner, Benedict, Brody a.s.o., (quoted from [1]) —.

Considering the extension of such investigation on several species among vertebrates and invertebrates as particularly important, we have undertaken to study the energy balance in insects.

In the present work we expose the results of our investigation in silkworm, carried out for obtaining as accurate a knowledge as possible of the energy balance of this animal, at different larval instars. These investigations were all the more essential as, on the one hand, we failed to find in literature any data regarding energy balance and, on the other, we wanted to establish as solid a basis as possible for the study of other aspects of this problem.

MATERIAL AND METHOD

The biological material consisted of two lots of silkworms of the "yellow belted Băneasa" race, of a total weight varying according to age, from 4 to 100 g.

\* Work presented at the First Session of Animal Physiology (Cluj, May 25—28, 1965).

Experiments were begun with 2-day-old larvae, while from the age of 8 days, they were carried on daily for the whole duration of the larval stage.

We determined the quantity of ingested energy, the quantity of excreted energy, the energy metabolism, the specific dynamic action (SDA) and we considered the daily accumulated energy as an increase in growth. Respiratory changes were measured by the confinement method. The larvae were reared in plastic respiratory chambers together with mulberry leaves: we have also ascertained the respiratory exchanges of leaves eliminating from the total value the part of the latter.

The investigations were carried out during the month of May-June 1964, in a thermostatic device at the temperature of 20–23°C. The results were reported to 1 g live matter.

RESULTS

The results of our investigations are presented in the graphs from figures 1 and 2. From their analysis there results:

1. The caloric value of ingestion varied between 223 and 930 calories according to intensive nutrition or moulting. Maximum consumption was recorded in the IV instar (18th day).

2. The quantity of energy physiologically employable (ingested energy—excreted energy) varied between 133 and 503 calories. The greatest quantity of physiologically employable energy was recorded in the IV and V instars (16th, respectively 23rd day), while the smallest in the first two instars (2nd and 8th day).

3. Out of the quantity of physiologically employable energy, a quantity of energy was eliminated under the form of specific dynamic action, which varied according to the global energy value of ingested food. Reported to 100 calories, the specific dynamic action is small 1.19–2.67 per cent (on an average 1.52 per cent), reported to 100 calories of physiologically employable energy it varies within the limits, 1.99–5.66 per cent calories (on an average 3.43 per cent).

4. The energy for the maintenance of function varied between 41 and 156 calories. It has been ascertained that the energy expanded in the maintenance of function is maximum in the first instar and minimum in the fifth instar (27th day).

5. The daily increase in body weight estimated in calories was comprised between 17 and 346.9 calories. The greatest increase was recorded in the last day of larval life (the 37th day), the smallest in the III and IV instars (the 10th respectively the 16th).

The energy balance, expressed in percentages computed by instars, is presented in figure 2.

On the average, during the entire larval stage, out of ingestion 43.15 per cent calories are eliminated through feces and urine, and 1.52 per cent calories under the form of specific dynamic action. Out of the free energy, 20.31 per cent calories are used for maintaining the functions and 35.02 per cent calories are stored as a body weight increase.

DISCUSSION

The energy balance, as it results from our investigations in silkworm, renders evident a special manner of turning nourishment to account, as against that ascertained in other animals (birds and mammals). The

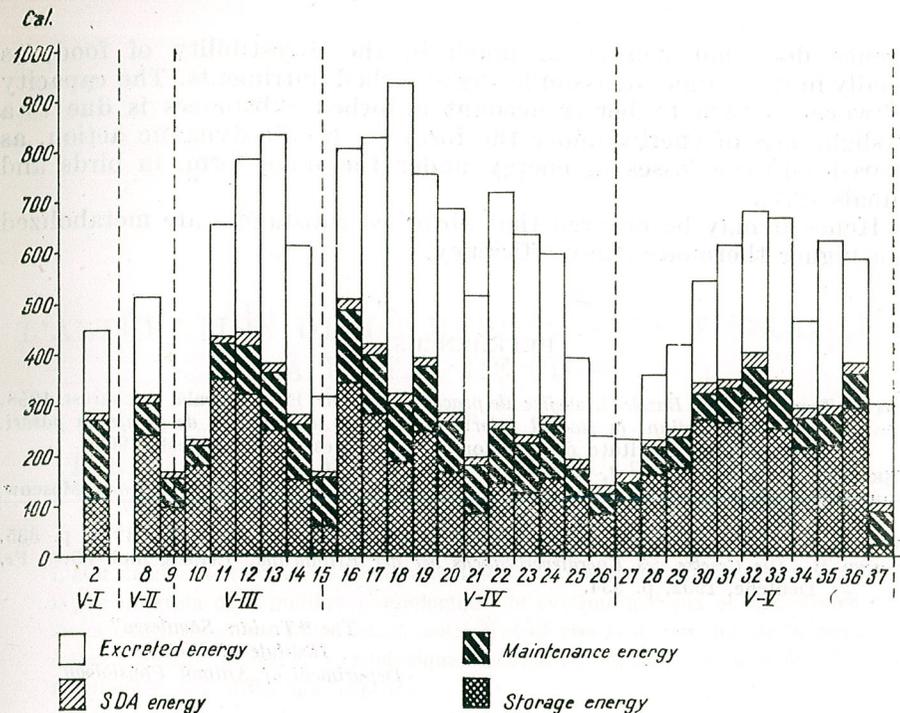


Fig. 1. — The energy balance in silkworm, in calories.

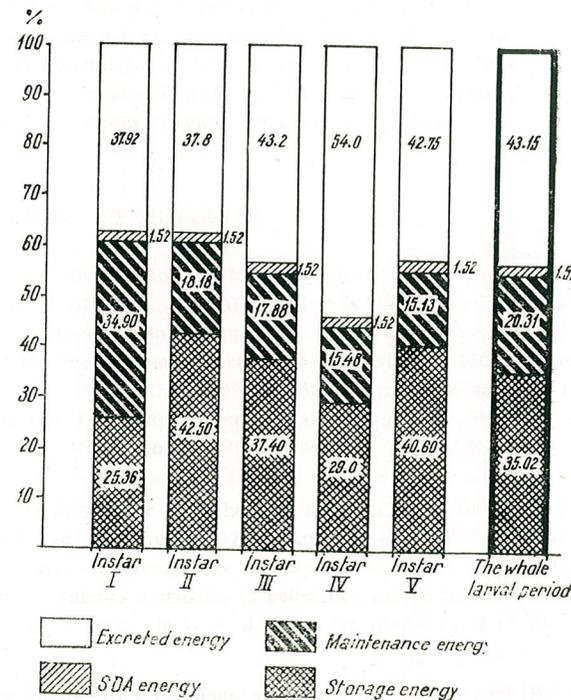


Fig. 2. — The energy balance in silkworm in per cent of the ingested energy.

difference does not consist so much in the digestibility of food, as especially in the manner of assimilating absorbed nutriments. The capacity of silkworm to turn to better account absorbed substances is due to a very slight loss of energy under the form of specific dynamic action, as compared with the losses in energy under the same form, in birds and mammals (2.4).

Hence it may be inferred that absorbed substances are metabolized with a higher thermodynamic efficiency.

## REFERENCES

1. BEST C., TAYLOR N. R., *Bazele fiziologice ale practicii medicale*, Ed. Medicală, Bucharest, 1958.
2. BURLACU GH. *Contribuțiuni la studiul valorii nutritive a citorva rații de furaje la păsări*, Dissertation, Institute of Agronomy "N. Bălcescu", Bucharest, 1960.
3. LUSK GR., *Medicine*, 1922, 1, 311-353.
4. NEHRING K., *Кормление сельскохозяйственных животных, кормовые средства*, Moscow, 1959, p. 250.
5. POPOV I. S., *Alimentația animalelor domestice*, Ed. Agrosilvică, Bucharest, 1950, p. 635.
6. RUBNER M., *Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung*, Leipzig und Wien, Fr. Deutche, 1902, p. 334.

The "Traian Săvulescu"  
Institute of Biology  
Department of Animal Physiology

L'ALTÉRATION DE LA RESPIRATION TISSULAIRE  
À L'ÉTAT DE CHOC \*

PAR

I. KIRICUȚĂ, I. MUSTEA, A. BOZAC et I. ROGOZAN

Travail effectué dans l'Institut Oncologique, Filiale de Cluj, Roumanie  
Directeur: D<sup>r</sup>. I. Kiricuță, maître de conférences

L'état de choc se caractérise par des modifications très complexes consécutives à la perturbation de l'équilibre physiologique du système nerveux et endocrinien. De la multitude de ces phénomènes notre travail vise la dynamique de la respiration cellulaire, processus physiologique essentiel et indicateur adéquat de l'état fonctionnel des différents organes.

Dans la littérature publiée dans ce domaine, l'importance de l'hypoxie est, généralement, acceptée; mais, si la majorité des auteurs considèrent que l'insuffisance de l'apport d'oxygène produit des troubles par le déficit circulatoire [3], d'autres (Schapira, Costăchel, Migone) ont constaté une insuffisance d'utilisation de l'O<sub>2</sub> *in vitro*. Nous avons poursuivi la dynamique de la respiration sous l'aspect biochimique (par la détermination de la consommation d'O<sub>2</sub>) et, en même temps, histochimique (visant l'activité de quelques enzymes du cycle de Krebs).

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Comme modèle expérimental on a utilisé le choc par brûlure, considérant cette méthode comme adéquate, parce qu'elle permet d'obtenir également des degrés différenciés de choc, ainsi que le maintien en vie des animaux pendant une longue durée. 120 rats blancs adultes, d'un poids moyen de 180-220 gr, ont été choqués par l'introduction du train postérieur dans de l'eau à 85° C, pendant trois secondes. Le degré de la brûlure a été calculé en fonction de la surface corporelle à 10, 30 et 50 pour 100. Les animaux ont été sacrifiés à 1, 5, 30 minutes, à 1, 4, 12, 24 et 48 heures, en prélevant des fragments du cerveau, du myocarde, du foie, de la rate, des reins.

La consommation d'O<sub>2</sub> a été déterminée par la technique manométrique de Warburg sur l'homogénat tissulaire, dans la solution de Ringer à 37°C, exprimée en mm<sup>3</sup>/gr du tissu sec; chaque valeur inscrite dans les diagrammes représente la moyenne des 6 déterminations pour chacun des organes. Pour établir les valeurs normales et celles des extrêmes, les mêmes déterminations ont été effectuées sur 10 témoins (la zone A dans les graphiques) et sur 3

\* Travail présenté à la Première Session de Physiologie animale (Cluj, 25-28 mai 1965).

choqués maximalement, la brûlure intéressant 100 pour 100 la surface corporelle (zone B dans les graphiques).

En parallèle, nous avons déterminé avec des méthodes histochimiques, la succinodéhydrogénase (méth. de Lillie et de Pearson et Pearse), la malicodéhydrogénase (méth. de Pearson et Pearse) et l'ATP-ase (méth. de Padykula et Herman) [5].

#### RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

En comparant les données obtenues par l'étude de la quantité d'O<sub>2</sub> consommée dans les homogénats des différents organes (cerveau, foie, cœur, rate) des animaux choqués avec celles des animaux normaux, on constate un régime de consommation d'O<sub>2</sub> qui diffère d'un organe à l'autre (fig. 1).

1. Ainsi, dans le cerveau, la consommation d'O<sub>2</sub> indique une appréciable diminution, seulement après 12 heures et sous brûlure intense (50%). Pour les brûlures petites (10%) et modérées (30%), dans le cerveau, la consommation d'O<sub>2</sub> à différents intervalles de temps, oscille entre les limites normales en s'observant pourtant dès les premières heures, une faible augmentation, correspondant, probablement, à la phase du choc compensé; dans les heures finales de l'expérience (après 12 heures) on constate un abaissement plus ou moins marqué de la consommation d'O<sub>2</sub>, en fonction de l'intensité de la brûlure.

2. Dans les reins il apparaît évidemment que, dans la brûlure petite (10%) ou modérée (30%), la consommation d'oxygène pendant les premières heures est entre les limites normales, ou même augmentée et diminue de façon appréciable pendant les dernières heures; dans les brûlures étendues (50%) on ne constate pas cette consommation biphasique de l'oxygène, mais on remarque un brusque abaissement, qui se maintient pendant tout le temps de l'expérience. Nous interprétons ces données comme étant liées à la phase compensée et décompensée du choc, évidente dans les brûlures petites ou modérées (10%, 30%), en opposition à la brûlure étendue (50%), où l'animal entre directement dans la phase décompensée. En comparaison avec les autres organes étudiés, le rein exprime de la façon la plus évidente le mode différent de la consommation de l'oxygène dans les deux phases du choc.

3. Dans le foie nous avons constaté une situation particulière; indifféremment de l'étendue de la surface brûlée et du temps écoulé, la consommation d'oxygène se maintient presque dans les limites constatées chez l'animal normal. Même chez l'animal ayant la surface entièrement brûlée, la consommation d'oxygène (zone B du graphique) est très proche des limites de la consommation d'oxygène établies pour les animaux normaux. Cette situation est, peut-être, liée à l'existence dans le foie, de grandes réserves endogènes du substrat énergétique et de l'équipement enzymatique.

Les deux derniers organes que nous avons discuté, le cœur et la rate, présentent un trait commun: c'est la diminution très accentuée de la possibilité d'utilisation de l'oxygène.

Dans le cœur, à notre surprise, nous avons rencontré une situation difficile à interpréter, parce qu'indépendamment de la surface brûlée, la

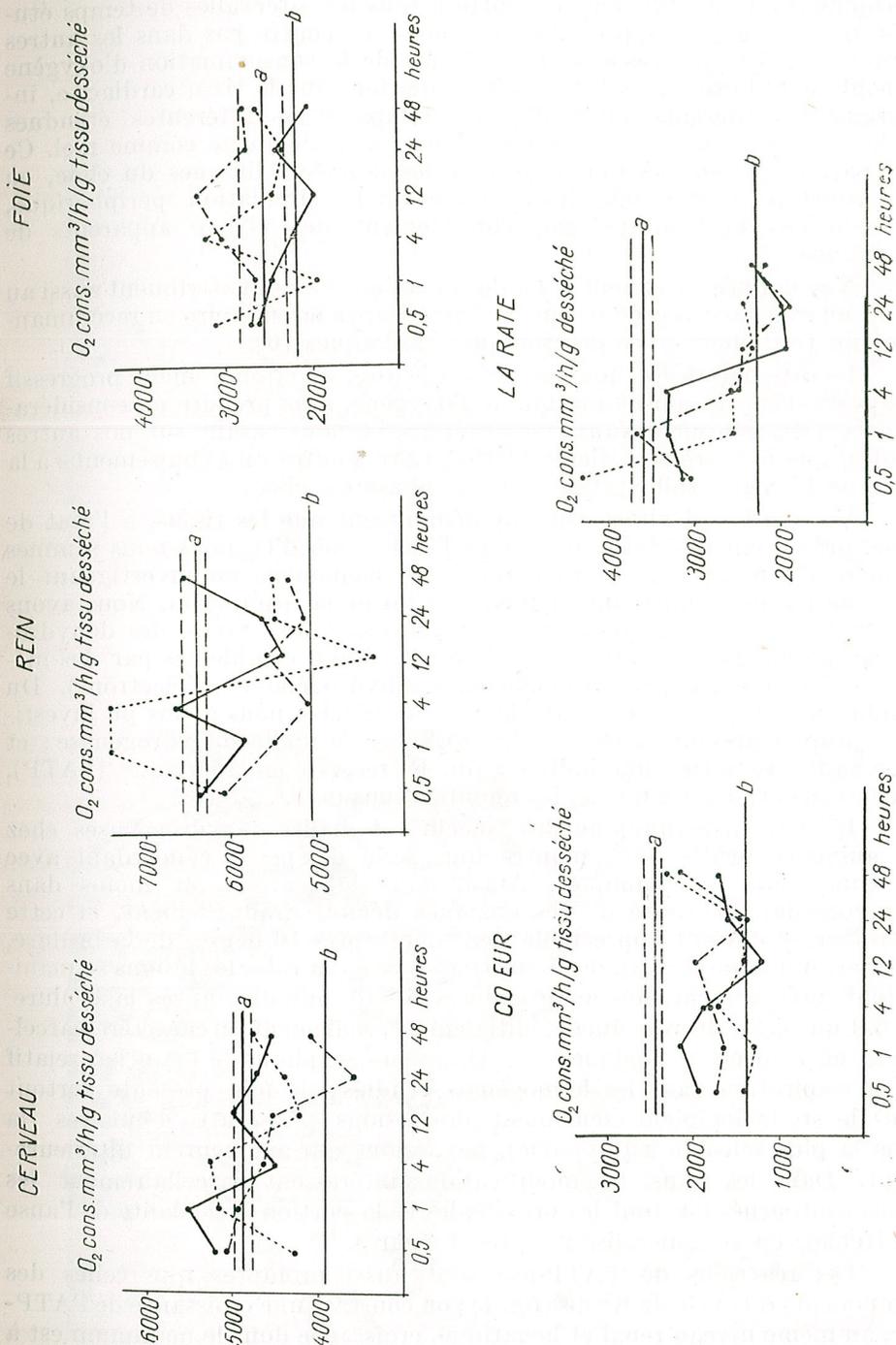


Fig. 1

consommation de l'oxygène a montré à tous les intervalles de temps étudiés un abaissement appréciable, qui ne se rencontre pas dans les autres organes. Le fait que ces valeurs abaissées de la consommation d'oxygène se sont reproduites dans les 36 déterminations sur le tissu cardiaque, investigué à différents intervalles de temps et à différentes étendues de la brûlure, nous autorise à considérer ce phénomène comme réel. Ce fait paraît être en contradiction avec les données cliniques du choc, où l'on constate plutôt une insuffisance de la circulation périphérique, le cœur ne représentant pas cliniquement des signes apparents de souffrance.

Nos données viennent à l'aide de ces auteurs qui attribuent aussi au cœur un rôle dans la production de l'insuffisance circulatoire en recommandant un traitement avec des toniques cardiaques [6].

La rate manifeste, nous pourrions le dire, un effondrement progressif des possibilités de consommation de l'oxygène, sans prendre en considération la surface brûlée. Nous l'interprétons, en nous basant sur nos autres études, que le système réticulo-histiocytaire souffre un « épuisement » à la suite de l'intense sollicitation dans la phase du choc.

Vu que les résultats obtenus démontrent que les tissus, à l'état de choc, présentent des déficiences dans l'utilisation d' $O_2$ , nous nous sommes proposé d'étudier plus profondément ce phénomène en investiguant le cycle de Krebs, compartiment fondamental de la respiration. Nous avons utilisé des méthodes histochimiques (s'adressant à l'activité des déshydrogénases), dans l'étape suivante, les données étant complétées par des méthodes biochimiques (les transporteurs d'hydrogène et d'électrons). Du nombre des étapes caractérisant le cycle de Krebs, nous avons pu investiguer jusqu'à présent la succindéhydrogénase, la malicodéhydrogénase ; et cherchant l'investigation indirecte de la réserve macroergique (l'ATP), nous avons étudié, de même, les modifications de l'ATP-ase.

L'étude histochimique des succin- et malico-déhydrogénases chez les animaux brûlés 50% montre une série d'aspects concordant avec les conclusions biochimiques. Ainsi, dans le cerveau (et moins dans le myocarde), l'activité de ces enzymes décroît graduellement, et cette décroissance devient appréciable seulement après 10 heures de la brûlure. Au niveau du foie (fig. 2), des reins (fig. 3) et de la rate, les lésions se manifestent précocement, dès les premières 5-15 minutes après la brûlure. Le fait que cette décroissance a, initialement, seulement un caractère parcelaire, en respectant quelques-unes des zones, explique le maintien relatif de la respiration dans les homogénats étudiés ; le foie présente surtout dans le stade incipient seulement des lésions péri-centro-lobulaires (la zone la plus sensible à l'hypoxie), des lésions qui augmentent ultérieurement. Dans les reins, les modifications intéressent parcellairement les tubes contournés (surtout les proximales et la portion ascendante de l'anse de Henle), en se généralisant après 4 heures.

Les réactions de l'ATP-ase sont aussi promptes que celles des composants du cycle de Krebs (fig. 4) ; on constate une croissance de l'ATP-ase, au même niveau rénal et hépatique, croissance dont le maximum est à 4-10 heures.

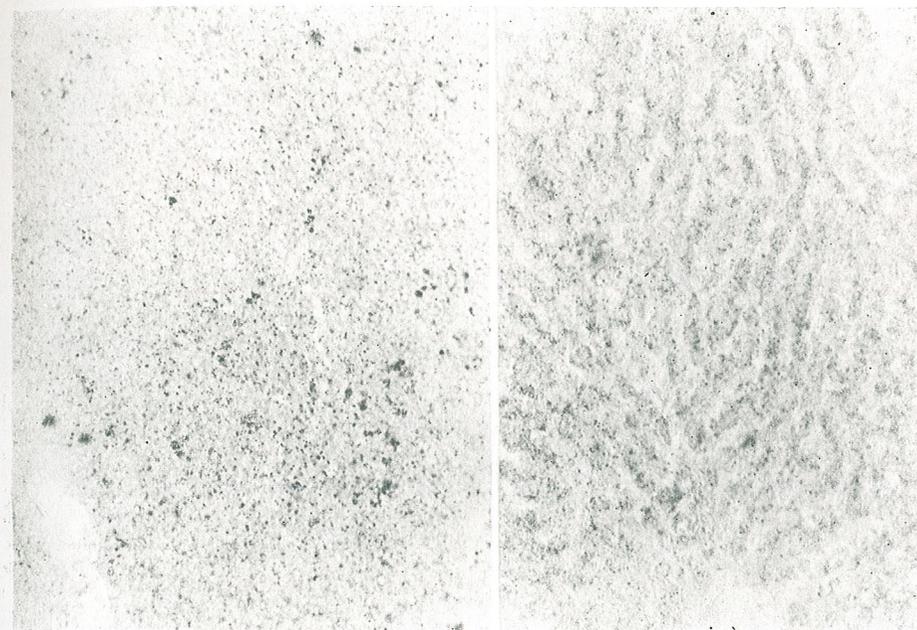


Fig. 2

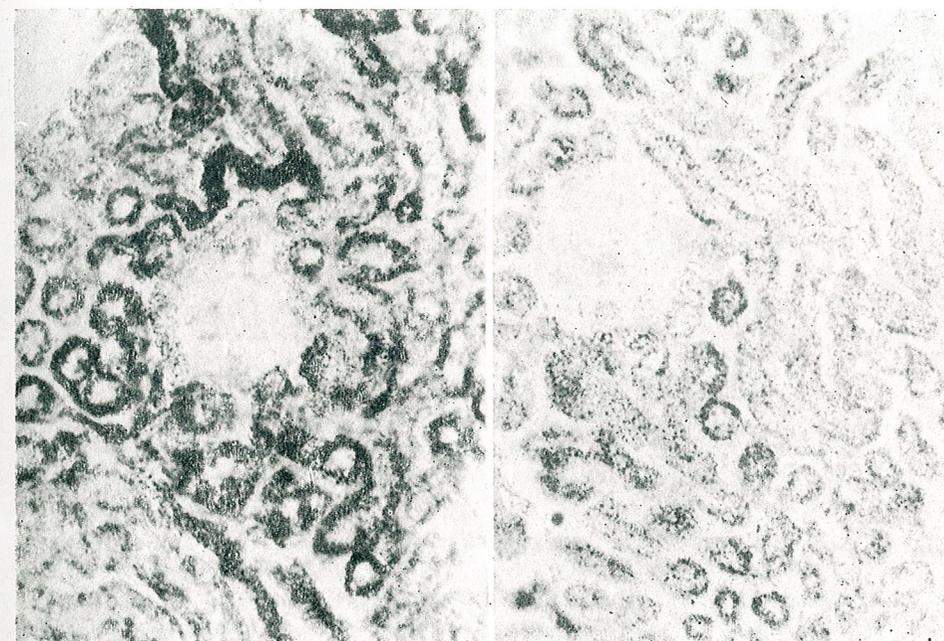


Fig. 3

Dans le cerveau et dans le myocarde, l'activité de l'ATP-ase est intensifiée, plus tard étant moins exprimée et ayant un caractère plus péri-vasculaire.

#### CONCLUSIONS

À l'état de choc, on constate dans les organes étudiés des troubles importants en ce qui concerne la possibilité d'utilisation de l'oxygène. L'hypoxie caractéristique à l'état de choc ne peut pas être expliquée seulement par une diminution du transport de l' $O_2$  provoquée par une insuffisance circulatoire, mais il faut la considérer comme un facteur très important : l'impossibilité même de l'utilisation de l' $O_2$  par les tissus (même s'il est apporté dans une quantité suffisante). Ce fait plaide pour l'existence d'importantes altérations dans le mécanisme de l'oxydation cellulaire par l'altération des systèmes enzymatiques des cellules.

En quelques-uns des organes (cerveau, rein), provenant des animaux avec des brûlures petites (10%), ou modérées (30%), on constate un comportement biphasique de la consommation de l' $O_2$ . Dans la phase initiale du choc, correspondant probablement à la période du choc compensé, on assiste à l'augmentation de la consommation d' $O_2$ , pour assister ultérieurement à sa décroissance, correspondant à la phase du choc décompensé. Cette présomption est soutenue aussi par le fait que, dans les brûlures étendues (50 ou 100%) dans lesquelles, comme on sait déjà, le choc décompensé s'installe dès les premiers moments de la brûlure, la consommation de l' $O_2$  des organes diminue, dès le commencement, sous le normal. Le cœur et la rate ne présentent pas une évolution biphasique de la consommation d' $O_2$ , montrant, en échange, un abaissement de la consommation d' $O_2$  même dans la phase compensée du choc, et même dans les brûlures réduites (de 10%).

Parmi tous les organes étudiés, le foie a un comportement particulier, dans le sens qu'indifféremment de l'étendue de la brûlure et du temps, il présente dans le choc une consommation quasi normale de l' $O_2$ .

L'activité enzymatique du cycle de Krebs est en consensus avec les conclusions ci-dessus : on constate une décroissance de l'activité des succinat malico-déhydrogénases, décroissance apparue plus précocement dans le foie, la rate et le rein et plus tard dans le cerveau ou dans le myocarde (dans les brûlures de 50%). En même temps, au même niveau, nous assistons à une croissance de l'activité ATP-asiq.

Nous soulignons le caractère initial parcellaire des modifications constatées histochimiquement : les zones restées indemnes (par ex. péri-kiernaniennes dans le foie), avec l'activité accrue, expliquant pourquoi la respiration tissulaire peut se réaliser en conditions normales dans la phase initiale du choc.

À présent, nous suivons expérimentalement les possibilités de stimulation de la respiration tissulaire dans l'organisme choqué, par l'administration de quelques enzymes ou des substances intéressées dans le cycle de Krebs et dans la réfection du niveau des transporteurs de l'hydrogène et des électrons (NAD, FAD, cytochrome C, ATP).

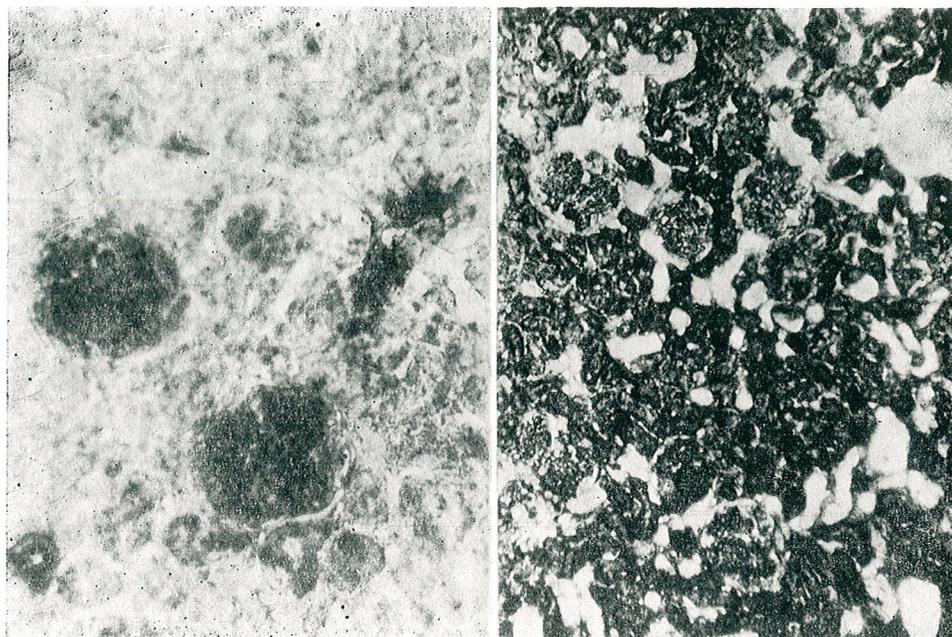


Fig. 4

## BIBLIOGRAPHIE

1. BURGHELE T. et RUGENDORFF E., *Le rein des états de choc*, Ed. Acad., Bucarest et Masson & Cie, Paris, 1966.
2. COSTĂCHEL D. et FURNICĂ M., *Simpozionul de hipotermie și neuroplegie*, Bucarest, 1961, 114—119.
3. IMPERATI L., *Le insufficienze acute del circolo periferico — lo shock*, Neapoli, 1950.
4. MIGONE L., *Metabolic aspects of shock. Shock Pathogenesis and Therapy Symposium*, Springer Verlag, Berlin, 1962, p. 76—96.
5. PEARSE A. V., *Histochemistry*, Londres, Churchill, 1961, 572—79; 876—910.
6. SANEY, citée par TEODORIU T., dans *Șocul*, Ed. Medicală, Bucarest, 1955, 219.
7. SCHAPIRA G., *Ex. Am. Biochim. Med.*, 1950, **11**, 181—201.

## COMPARATIVE INVESTIGATIONS ON THE RESPIRATION OF THE BRAIN \*

BY

C. A. PICOȘ and E. CHENZBRAUN

Les auteurs ont étudié, à l'aide de la méthode Warburg, l'action d'un inhibiteur métabolique (chlordélasine) sur la consommation d'oxygène d'*Emys orbicularis* et *Columba livia*.

Les résultats obtenus ont montré que l'action dépressive de la chlordélasine sur la respiration cérébrale est plus prononcée chez la colombe que chez la tortue, en raison du fait que le même effet — la diminution de la consommation d'oxygène d'environ 55 % — est produit dans le premier cas par une dose de 125  $\gamma$ /100 mg tissu, tandis que dans le second cas, par une dose de 250  $\gamma$ /100 mg tissu.

### INTRODUCTION

The comparative study of brain respiration in different representatives of the vertebrates may furnish interesting indications on the development of the nervous activity of animals.

As each class of vertebrates comprises numerous representatives living in different medium conditions, the carrying out of such a study excludes the normal research possibilities.

This is the explanation of the fact that most of the investigations effected so far are fragmentary, and the data obtained by different authors are often contradictory.

Among lower vertebrates, fish have been most studied in connection with cerebral respiration, the data furnished by a series of authors (Buytendijk [2], Peiss and Field [7], Freeman [4] and others) being particularly interesting.

In the other two classes of lower vertebrates (amphibians and reptiles), cerebral respiration has been much less studied, some data concerning them being met with in Bass [1] and Verzhbinskaya's [13] works.

Neither is the situation in the higher vertebrates satisfactory, as there are very few data concerning brain respiration in birds, while those

\* Work presented at the First Session of Animal Physiology (Cluj, May 25—28, 1965),

concerning mammals, though more numerous, have been obtained by experiments carried out mainly on small laboratory animals.

Ampler and at the same time more complete investigations on cerebral respiration in the vertebrate series have been carried out by Verzhbinskaya [13] and by Kreps [6]. This latter has formulated the conclusion that the intensity of aerobic processes of the brain increase progressively from fish to mammals.

Yet, some data are in disagreement with the mentioned conclusion, such as for instance those obtained by Verzhbinskaya [13], who has established that the intensity of brain respiration in amphibians is lower than that of the brain of osseous fish.

Taking into consideration, on the one hand, the fact that in scientific literature there are no sufficient data regarding the respiration of reptile and bird brains, while, on the other hand, the fact that even the existing data are contradictory, we propose to determine in the present paper the respiration of the turtle and pigeon brains, both in standard conditions and under the action of chlordelazine.

#### MATERIAL AND METHOD

In experiments, we employed 16 turtles (*Emys orbicularis*) and 10 pigeons (*Columba livia*).

The animals were sacrificed by decapitation, and immediately after, the brain was taken out; it was weighted and then homogenized in a Ringer solution without bicarbonate. In the case of turtles, 300 mg brain were homogenized in 3 ml Ringer solution, while in the case of pigeons, 2 g brain were homogenized in 10 ml Ringer solution.

The experiments with turtle brain were carried out in two series: those of the first series were effected in winter at a temperature of 25°C, and had the purpose of determining, in standard conditions, the O<sub>2</sub> consumption of the brain homogenates; the experiments of the second series were carried out in summer, likewise at 25°C, determining in parallel the O<sub>2</sub> consumption in standard conditions and under the influence of chlordelazine (3-chloro-(di-methylamino-3-propyl)10-phenothiazine)\*, administered in a dose of 250γ/100 mg tissue.

The determining of the O<sub>2</sub> consumption was made by means of the Warburg manometric method.

In the case of control samples, we have introduced into the bottles of the manometers 2 ml Ringer solution and 1 ml homogenate each, while in the case of experiment samples we introduced in each 1.9 ml Ringer solution, 1 ml homogenate and 0.1 ml chlordelazine solution. For the absorption of the released CO<sub>2</sub>, we have put into the central cup of the bottles 0.2 ml of a 10 per cent NaOH solution each.

The experiments on pigeons were carried out in one single series, at a temperature of 39°C, determining in parallel the O<sub>2</sub> consumption of the brain homogenates in standard conditions and under the action of two different doses of chlordelazine: 62.5 and 125γ/100 mg tissue.

\* We employed phials with 5% solution.

The volume of the liquid phase (3.2 ml) and the duration of incubation (1 hour) were identical with those of the experiments made on turtles.

In all the cases, the results were expressed both in μl O<sub>2</sub> per gram of moist substance and per hour, as well as in μl O<sub>2</sub> per gram of dry substance, and per hour. The drying of the homogenate samples was made at the temperature of 102°C, for two hours.

#### RESULTS

The values of the O<sub>2</sub> consumption of the brain of *Emys orbicularis* found in the two series of experiments are united in table 1.

Table 1

O<sub>2</sub> consumption of the *Emys orbicularis* brain, at 25°C (in winter, in standard conditions, and in summer, in standard conditions and under the action of chlordelazine)

Winter (January)		Summer (July and August)			
μl O <sub>2</sub> /g moist substance/hr	μl O <sub>2</sub> /g dry substance/hr	Control samples		Samples treated with chlordelazine (250 γ/100 mg tissue)	
		μl O <sub>2</sub> /g moist substance/hr	μl O <sub>2</sub> /g dry substance/hr	μl O <sub>2</sub> /g moist substance/hr	μl O <sub>2</sub> /g dry substance/hr
162.96	629.02	223.99	864.60	102.12	394.18
137.65	531.32	252.13	973.22	96.44	372.25
149.46	576.91	107.33	414.29	69.00	266.34
134.34	518.55	144.32	557.07	100.01	386.03
121.10	467.44	169.90	655.81	29.46	113.71
129.89	501.37	137.75	531.71	31.84	122.90
149.63	577.57	128.83	497.28	81.96	316.36
156.84	605.40	114.18	440.73	62.90	242.79
Averages = 142.73	550.94	159.80	616.83	71.71	276.82

On the basis of the average values of O<sub>2</sub> consumption computed per gram of dry substance and per hour, we have built up the graph from figure 1.

The values of O<sub>2</sub> consumption of the pigeon brain, determined at 39°C, in standard conditions, and under the influence of the two doses of chlordelazine are united in table 2.

On the basis of the average values of O<sub>2</sub> consumption computed per gram of dry substance and per hour, we have built up the graph from figure 2.

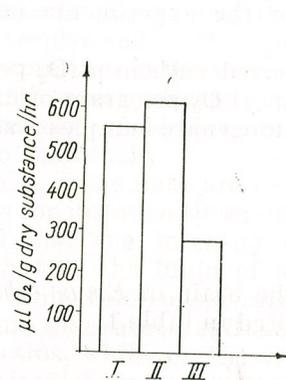


Fig. 1. —  $O_2$  consumption of the *Emys orbicularis* brain: I — in standard conditions (in winter); II — in standard conditions (in summer); III — under the action of chlordelazine (in summer).

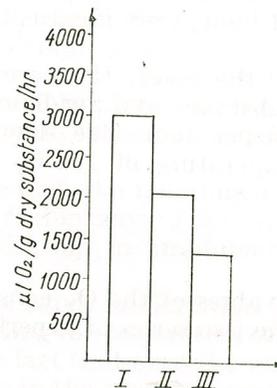


Fig. 2. —  $O_2$  consumption of the *Columba livia* brain: I — in standard conditions; II — under the action of chlordelazine (62.5  $\gamma$ /100 mg tissue); III — under the action of chlordelazine (125  $\gamma$ /100 mg tissue).

Table 2

$O_2$  consumption of the *Columba livia* brain, at 39°C in standard conditions and under the action of chlordelazine

Control samples		Samples treated with chlordelazine			
$\mu\text{l } O_2/\text{g moist substance/hr}$	$\mu\text{l } O_2 \text{ dry substance/hr}$	62.5 $\gamma$ /100 mg tissue		125 $\gamma$ /100 mg tissue	
		$\mu\text{l } O_2/\text{g moist substance/hr}$	$\mu\text{l } O_2 \text{ dry substance/hr}$	$\mu\text{l } O_2/\text{g moist substance/hr}$	$\mu\text{l } O_2 \text{ dry substance/hr}$
572.80	2864.0	423.80	2119.0	503.65	2398.33
605.70	3028.50	402.85	2014.25	146.05	730.25
646.70	3233.50	330.90	1645.50	156.50	782.50
489.85	2449.25	472.50	2362.50	130.50	652.50
618.25	3091.25	404.15	2020.75	485.55	2427.75
714.0	3570.0	545.20	2726.0	545.55	2727.75
568.35	2841.75	377.75	1888.75	159.35	796.75
625.30	3126.50	332.30	1661.50	160.80	804.0
641.50	3207.50	520.60	2603.0	272.50	1362.50
531.90	2659.50	293.15	1465.75	103.15	515.75
Averages = 601.43	3007.15	410.32	2051.60	266.36	1331.80

## DISCUSSION OF RESULTS

If we take into consideration the experiments carried out on *Emys orbicularis*, we find in the first place that, in conditions of an optimum temperature for these animals (25°C), there are no important differences between the values of the  $O_2$  consumption of the brain recorded in summer and those recorded in winter. Thus, the comparison of the average values from table 1 and of columns I and II from figure 1, show that in summer the  $O_2$  consumption is only by 11.95 per cent higher than in winter.

Our data agree with those obtained by Rabbeno [9] on another tissue (striated muscle), derived from another poikilothermic vertebrate (*Rana esculenta*), and on the basis of which he reaches the conclusion that the intensity of gaseous exchanges of the tissue *in vitro* does not undergo any important seasonal modifications.

It may likewise be ascertained that, if the  $O_2$  consumption of the turtle brain is reported to 1 g dry substance, values are obtained which are 3.86 times higher than in the case it is reported to 1 g moist substance. This seems to confirm the validity of the method employed by Giese [5] in the case of the different animal tissues, of dividing by 4 the  $O_2$  consumption per gram of dry weight, for obtaining the  $O_2$  consumption per gram of moist weight. We shall show below, when analysing the results obtained by us on pigeons that the coefficient used by Giese is not valid in all the cases.

Regarding the action of chlordelazine, administered in a dose of 250  $\gamma$ /100 mg tissue, it has been ascertained that it induces a marked decrease in the  $O_2$  consumption of the turtle brain. Thus, at the end of one hour's action of the substance, the cerebral metabolism decreases by 55.12 per cent as against the normal value.

From the data of the experiments on pigeons (table 2) it results that, in standard conditions, the  $O_2$  consumption of their brain is on the average of 3007.15  $\mu\text{l}$  per gram of dry substance, and per hour. Comparing this value with that found by us (table 1) in turtles (616.83  $\mu\text{l}$ ) we find that in pigeons the intensity of cerebral respiration is about 5 times as high as in turtles. Therefore the fact stated by Verzhbinskaya [13] is confirmed, i. e. in homeotherms cerebral respiration registers a sudden increase. We consider, however, that among reptiles, turtles are perhaps the least indicated for being compared with birds in connection with the intensity of cerebral respiration. This statement is based on the fact that the intensity of cerebral respiration of turtles is even smaller than that of fish (*Cyprinus carpio*), determined in previous experiments [8].

The value of the  $O_2$  consumption of the pigeon brain, found by us (3007.15  $\mu\text{l}$ ) is very close to that of the  $O_2$  consumption of the rat brain (3280  $\mu\text{l/g}$  dry substance/hour)\* found by Teitel and co-workers [12], thus confirming the conclusion arrived at by Verzhbinskaya [13], that the respiration of the brain of birds and mammals is about the same.

In pigeons the values expressing the  $O_2$  consumption per gram of dry substance and per hour are 5 times as high as those expressing the

\* This value was inferred by us by computing from the data of the above mentioned authors.

O<sub>2</sub> consumption of moist substance and per hour, while in turtles, as we have shown before, the first values are only 3.86 times as high as the latter.

This is explained by the fact that, as we found after drying the homogenate samples, the pigeon brain contains more water than the turtle brain. This last finding confirms the conclusion, at present unanimously accepted, that the more intense the physiological activity of a tissue is, the higher is its content in water [14].

As the degree of hydration of the various tissues is variable, even within the framework of the same organism, it is obvious that the same coefficient may not be used in all the cases for computing the O<sub>2</sub> consumption related to the unit of moist weight of the one related to the unit of dry weight and the reverse.

As regards the action of chlordelazine upon the O<sub>2</sub> consumption of the homogenates of pigeon brain, the columns of figure 2 show clearly that this substance has a depressive effect, which depends on the administered dose. Thus, in the case of a 62.5  $\gamma$ /100 mg tissue dose, the average value of the O<sub>2</sub> consumption decreases by 31.77 per cent as against the normal, while in the case of a 125  $\gamma$ /100 mg tissue dose, the average value of O<sub>2</sub> consumption decreases by 55.71 per cent. It is interesting to point out here the fact that Szent Györgyi [11] and Bird have found that the action of chlorpromazine upon the basal metabolism of mice is, within very wide limits, independent of the concentration of the substance, as very different dosages have produced equal hypometabolic effects. It thus seems that there are differences between the action of chlorpromazine on tissues *in vitro* and that on tissues *in vivo*.

The analysis of the results of our experiments gives us the possibility to establish yet another particularly interesting fact, namely that the same decrease (of about 55 per cent) of the O<sub>2</sub> consumption of the brain was obtained in the case of turtles with a 250  $\gamma$ /100 mg tissue dose of chlordelazine, while in the case of pigeons, with only half that dose i. e. 125  $\gamma$ /100 mg tissue. This shows us that the action of chlordelazine is more powerful in higher than in lower animals, in conformity with their degree of reactivity. The thesis is thus confirmed that in biology the cause-effect relationship is complicated by the so-called reactive ground [10].

As regards the action mechanism of substances of the phenothiazine group (which comprises also chlordelazine) on the nervous system *in vivo*, there are several hypotheses, the problem not being yet fully elucidated.

If we refer, however, to the nervous tissue *in vitro*, then we are obliged to agree with Decourt's [3] opinion, that the above mentioned substances impede the action of cellular enzymatic systems.

#### CONCLUSIONS

1. At the same temperature (25°C), the value of O<sub>2</sub> consumption of the *Emys orbicularis* brain recorded during the winter season (550.94  $\mu$ l/g dry substance/hr) is close to that recorded in summer (616.83  $\mu$ l), and which is greater than the former by 11.95 per cent.

2. In standard conditions, the O<sub>2</sub> consumption of the pigeon brain (3007.15  $\mu$ l/g dry substance/hr) is about 5 times higher than the O<sub>2</sub> consumption of the turtle brain (616.83  $\mu$ l/g dry substance/hr).

3. Chlordelazine in a 250  $\gamma$ /100 mg tissue dose induces after one hour a decrease of 55.12 per cent in the O<sub>2</sub> consumption of the turtle brain.

4. Under the action of chlordelazine, the O<sub>2</sub> consumption of the pigeon brain likewise registers a decrease, the value of which depends on the dose administered. Thus in the case of a 62.5  $\gamma$ /100 mg tissue dosage, the O<sub>2</sub> consumption decreases by 31.77 per cent while in the case of a 125  $\gamma$ /100 mg tissue dosage, it decreases by 55.71 per cent.

5. The hypometabolic action of chlordelazine is more powerful in the pigeon than in the turtle, as the same decrease (about 55 per cent) in the O<sub>2</sub> consumption of the brain is obtained in the first case with a 125  $\gamma$ /100 mg tissue dosage, while in the second case with a 250  $\gamma$ /100 mg tissue dosage.

#### REFERENCES

1. BASS E., Z. Biol., 1923, **78**, 161.
2. BUYTENDIJK F. J. J., Koninkl. Akad. Wetensch. Amsterd., Wis-en natuurk. Afd., 1910, 577.
3. DECOURT PH., Presse méd., 1954, **62**, 26, 541.
4. FREEMAN J. A., Biol. Bull., 1950, **99**, 3, 416.
5. GIESE A., Cell Physiology, London, 1957.
6. KREPS E. M., XVth International Congress of Zoology, London, 16—23 July, 1958, Proceedings, London, 1959.
7. PEISS C. N., FIELD J., Biol. Bull., 1950, **99**, 2, 213.
8. PICOȘ A. C., CEAUȘESCU I., Analele Universității București, biologie, 1962, **33**, 299—303.
9. RABBENO A., Arch. sci. biol., 1925, **7**, 1—2, 30.
10. SĂHLEANU V., Despre previziunea științifică, Editura științifică, Bucharest, 1965, 70.
11. SZENT-GYÖRGYI A., Bioenergetica, Editura Științifică, Bucharest, 1962, 129.
12. TEITEL A., SCHWARTZ R., STROESCU V., Fiziol. norm. patol., 1961, **1**, 43.
13. ВЕРЖБИНСКАЯ Н. А., Докл. Акад. наук СССР, 1952, **84**, 3, 555—558.
14. VOICULESCU I., STERIADE M., Din istoria cunoașterii creierului. Editura Științifică, Bucharest, 1963.

Laboratory of Animal Physiology  
Bucharest University

## ASPECTS MÉTABOLIQUES DU PHÉNOMÈNE DE L'ACCOUSTOMANCE \*

PAR

M. POP

Based on experiments on the process of habituation to various stimuli in several species, the hypothesis is advanced that habituation may be looked on as a new steady state of the system. One of the reasons of this hypothesis is that the habituation sets in always on the background of a modified homeostatic balance. The behavioural aspect of the process was also examined and a discussion is made on the double modality of habituation: a negative modality, manifested in the extinction and gradual disappearance of the reaction, and a positive one, manifested as an automatization of the reaction, accompanied by a modification and/or an amplification of this. In the two cases, the new steady state of the system signifies a new balance with the related environmental factor. The conclusion is drawn that habituation (in the larger sense of the word) means a form of reversible physiological adaptation of the biological systems.

Dans l'expérimentation physiologique la notion de l'accoutumance est habituellement définie par la disparition graduelle de la réponse à l'action répétée d'une excitation. Le phénomène peut être rencontré aux niveaux les plus variés en ce qui concerne l'organisation des systèmes biologiques et en présence des excitants les plus divers, pourvu que ceux-ci ne dépassent pas une certaine valeur limite.

Les expériences effectuées par de nombreux chercheurs sur des animaux invertébrés [8], [14], [16], [25], [44], etc., ainsi que les expériences multilatérales sur des organismes supérieurs [1], [6], [7], [9-12], [15], [19], [22], [32], [38-40], [43], etc., montrent que le phénomène de l'accoutumance représente une réponse générale et il constitue l'une des propriétés fondamentales de l'organisme vivant.

Vu par le prisme de l'évolution, le phénomène en question, quoiqu'homogène dans son mode de manifestation, a pour base des mécanismes physiologiques différents et des significations diverses selon le degré d'organisation et la complexité des organismes biologiques.

\* Travail présenté à la Première Session de Physiologie animale (Cluj, 25-28 mai 1965).

L'étude des mécanismes et de la signification du phénomène de l'accoutumance, tel qu'il se manifeste sur l'échelle de l'évolution phylo- et ontogénique et à divers niveaux d'organisation de substratums biologiques, constitue aujourd'hui l'objet de multiples recherches.

Pavlov [24] estime qu'à la base de ce phénomène il y a un processus d'inhibition interne. Moruzzi [20], [21] montre que l'accoutumance, manifestée par l'extinction de la réaction au signal, ne signifie nullement l'absence de la réaction physiologique de la part des cellules respectives, mais plutôt le passage à un autre type de réaction. Cet auteur estime qu'à la base du phénomène réside, probablement, une sorte d'inhibition interne, semblable à celle qui a été décrite par Pavlov. Sokolov [36], [37], tout en mettant en évidence le caractère sélectif du phénomène de l'accoutumance, cherche à l'expliquer à la lumière de son intéressante et originale théorie du « modèle nerveux du stimulus », tandis que Anohin [2] l'explique par le déclenchement d'une nouvelle activité positive.

Plusieurs auteurs cherchent à expliquer le phénomène de l'accoutumance par un processus adaptatif des récepteurs périphériques, tandis que maints autres l'expliquent par l'adaptation des éléments corticaux [4], [10], [11], [13]. Ni l'une ni l'autre de ces explications ne nous paraît suffisante, puisqu'elles cherchent à expliquer un phénomène inconnu par une notion trop générale, elle-même très peu connue. La théorie chimique de l'adaptation de Cattell et Hoagland (citée par [5], [3]), malgré son aspect unilatéral, s'approche davantage de l'essence du problème, donnant une explication à l'adaptation de certains récepteurs végétariens par l'action des ions de potassium sur les terminaisons nerveuses à ce niveau.

La majorité des auteurs cependant sont d'avis que le phénomène de l'adaptation ou de l'accoutumance ne se réduit pas uniquement à des modifications dans les éléments récepteurs périphériques, mais que d'autres structures plus complexes y seraient aussi intéressées, à savoir celles du système nerveux central. À cet égard, une attention particulière est accordée, à présent, à la formation réticulée [35], [41].

De cette présentation sommaire, ainsi que d'autres multiples expériences publiées sur le déroulement du phénomène de l'accoutumance sous l'action de divers excitants, et sur les structures fonctionnelles réceptives les plus variées, il ressort qu'à la base de ce phénomène réside un processus actif, qui s'accomplit moyennant une consommation d'énergie.

Dans nos expériences\* le point de départ fut l'hypothèse générale selon laquelle l'accoutumance, ou bien « l'adaptation négative », comme on l'appelle encore [26], [42], représente une forme particulière de l'adaptation générale de l'organisme au milieu ambiant, une adaptation non génétique, réversible, par laquelle le système élabore un nouvel état d'équilibre sous l'influence des facteurs du milieu. Dans un pareil schéma général on peut comprendre toute forme de manifestation de l'accoutumance, à commencer par l'aspect à caractère d'information et allant jusqu'à l'aspect substantiel et énergétique [34], chaque forme ayant à sa base des mécanismes physiologiques et biochimiques spécifiques.

\* Le travail constitue un essai de synthèse des résultats d'expérimentations qui, pour la plupart, ne sont pas encore publiés.

Pour interpréter le phénomène de l'accoutumance, en tant qu'adaptation physiologique, non génétique, nous avons choisi comme point de départ la notion d'« homéostasie », au sens le plus large du mot [18].

En considérant le système biologique comme un système homéostatique, son état de repos relatif est un état stationnaire  $A$ , caractérisé par un certain équilibre dynamique. Dans un pareil état certains paramètres essentiels au point de vue bio-physiologique se maintiennent à une valeur relativement constante grâce aux mécanismes de l'autorégulation, de telle manière que n'importe quelle perturbation momentanée de cet équilibre déclenche, de la part du système, une riposte tâchant d'anéantir ou de réduire au minimum le déséquilibre provoqué. Que se passera-t-il dans un pareil système lorsque la perturbation deviendra continue, en sollicitant les mécanismes de l'autorégulation? Telle a été la question que nous nous sommes posée au moment où nous avons commencé d'étudier certains aspects métaboliques du phénomène de l'accoutumance. Il est évident que la question en soi implique la possibilité de réponses multiples, étant donné que les solutions mêmes auxquelles aura recours le système supersollicité peuvent varier. L'une de ces solutions nous semble, cependant, être le phénomène de l'accoutumance, interprété en ce cas-ci comme un nouvel état stationnaire (steady-state physiologique du système), un nouvel équilibre correspondant à de nouvelles nécessités par suite de la sollicitation continue. Cela serait ce que Watson dit lorsqu'il affirme [17] que l'organisme, grâce à ses réactions, modifie son état physiologique de telle sorte que le stimulus ne provoque plus de réponse. Ainsi le système  $A$  passerait, par une phase critique, à un nouvel état stationnaire,  $A^1$ , à un nouvel équilibre dynamique, qui correspondrait, selon notre avis, à l'installation du phénomène de l'accoutumance, ou à l'adaptation physiologique sous l'action du facteur respectif.

Dans nos expériences, où nous avons poursuivi quelques aspects de l'accoutumance, tant dans les conditions de l'expérimentation à l'état chronique que dans l'expérimentation à l'état aigu, nous avons pu mettre en évidence des modifications significatives de l'équilibre homéostatique dans cette phase.

Dans un travail publié [29], où nous avons poursuivi, sur des lapins, l'aspect à caractère d'information du phénomène de l'accoutumance, nous avons constaté que l'extinction du réflexe d'orientation, c'est-à-dire l'apparition de l'accoutumance, est accompagnée de modifications du taux du glucose et des groupements sulfhydriques dans le sang.

Dans une série d'expériences à l'état aigu sur des chats anesthésiés à l'éthéthane, observant l'installation de l'accoutumance en enregistrant les valeurs de la pression sanguine sous l'influence de l'excitation modérée de solutions de NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub>, ainsi que sous l'influence de l'excitation modérée de l'hypothalamus, nous avons constaté que l'installation de l'accoutumance est accompagnée de l'établissement d'un nouvel équilibre homéostatique. En ce qui concerne la dynamique de la modification de la pression sanguine, on peut distinguer les phases suivantes (fig. 1):

Une phase initiale oscillatoire, où chaque stimulus déclenche un effort oscillatoire de hausse et de baisse de la pression artérielle, avec tendance de revenir au normal. Cette phase pourrait être prise comme caractéristique, transitoire, du système sollicité, dont la durée est en fonction de l'efficacité

des mécanismes de compensation. La deuxième phase se caractérise, dans la totalité des cas, par des modifications plus ou moins profondes de la pression sanguine. Dans cette phase nous avons pu mettre en évidence, dans plusieurs cas (spécialement sous l'influence du  $\text{CaCl}_2$ ), l'intervention de l'élément de sélection. Les animaux qui survivaient à cette phase passaient, après un certain temps, à la phase suivante — la phase de l'installation du phénomène d'accoutumance (phase III).

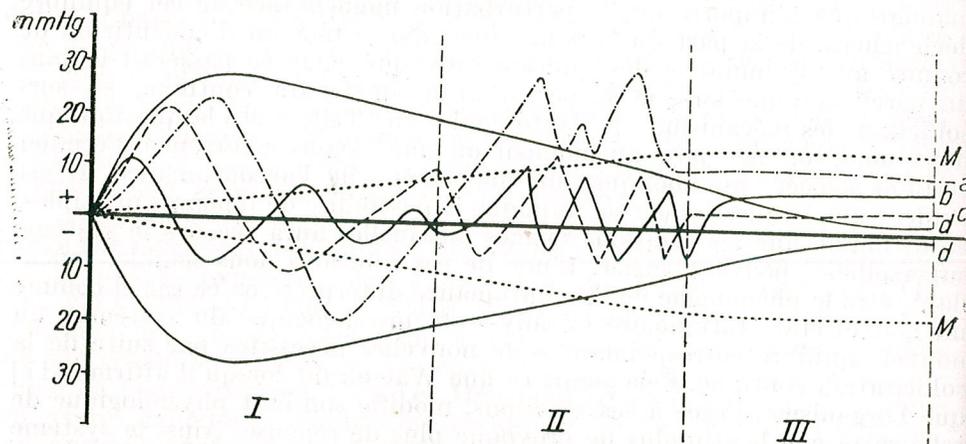


Fig. 1. — Graphique synthétique représentant la dynamique des modifications de la pression sanguine et des indicateurs métaboliques : Na, K, Ca, glucose et cholestérol, pendant l'installation du phénomène de l'accoutumance à l'excitant électrique et à l'action des solutions de NaCl, KCl,  $\text{CaCl}_2$ . Les courbes a, b, c et d représentent la dynamique de la pression sanguine sous l'action des solutions de  $\text{CaCl}_2$ , KCl, NaCl et de l'excitant électrique. Les lignes droites ponctuées M représentent schématiquement la dynamique partiellement linéaire des indicateurs métaboliques observés au cours du déroulement du phénomène de l'adaptation.

Ainsi qu'il ressort du diagramme synthétique de la figure 1 chacun des trois cations observés manifeste sa propre spécificité, surtout dans la première phase.

En cas d'expérimentation par l'excitation électrique continue (excitation du nerf pneumogastrique ou de l'hypothalamus), au lieu de trois phases, apparaît une seule phase, de hausse ou de baisse de la pression sanguine, suivie de la tendance de revenir au normal, phase de l'accoutumance. Probablement, en cas d'excitation continue a lieu une sommation des deux premières phases (fig. 1).

Les modifications de l'équilibre du milieu interne dans l'installation du phénomène d'accoutumance ont été étudiées par l'analyse du taux du  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ , du glucose et du cholestérol dans le sang artériel et veineux, à différents moments : un prélèvement initial, 15 à 20 minutes après la préparation de l'animal (épreuve témoin), et un prélèvement individuel dans les phases I et III.

Les modifications du taux du  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ , du glucose et du cholestérol pendant les deux phases I et III, présentaient dans la majorité des cas, un caractère linéaire : modifications plus petites dans la phase I et

plus grandes dans la phase III, exception faisant l'expérience par l'excitation électrique du nerf pneumogastrique et de l'hypothalamus, pour quelques-uns des cinq éléments observés. Ainsi, par exemple, en cas d'excitation électrique du nerf pneumogastrique dans la première phase il y avait une baisse du taux du sodium, du glucose et du cholestérol dans le sang artériel, tandis que dans la phase de l'installation de l'accoutumance les mêmes éléments marquaient une hausse.

Le caractère non linéaire des composés sanguins étudiés, en cas d'excitation de l'hypothalamus, affecte uniquement le potassium et le glucose, qui augmentent dans la première phase et marquent une tendance vers le normal dans la phase III.

Les résultats obtenus mettent en évidence une chose : c'est que l'accoutumance s'installe sur un fond modifié de l'équilibre homéostatique et homéorapique [30], dont les particularités qualitatives sont en fonction de la nature de l'excitant respectif. Certaines modifications avaient eu lieu à l'excitation du nerf pneumogastrique et d'autres en cas d'accoutumance à des injections répétées de NaCl, KCl et  $\text{CaCl}_2$  ou bien dans les expériences par l'excitation électrique de l'hypothalamus.

L'équilibre homéostatique et homéorapique au niveau duquel apparaît l'accoutumance en cas d'action répétée de solutions de NaCl, KCl et  $\text{CaCl}_2$ , se caractérisait, en premier lieu, par la hausse du taux du cation injecté dans le sang artériel et veineux ( $\text{Na}^+ = 13\%$ ;  $\text{K}^+ = 89,4\%$ ;  $\text{Ca}^{++} = 170,5\%$ ); de plus, par les modifications de l'équilibre rapiqué spécifique pour chaque cas à part. La stabilité relative de ces modifications a été mise en évidence par les déterminations effectuées 40 minutes après l'installation de l'accoutumance et la cessation effective de l'expérience, fait qui constitue, selon notre avis, un argument de plus en faveur de l'hypothèse énoncée.

Nous avons effectué également une série d'expériences qui ont porté sur des rats albinos, chez lesquels on a élaboré, quatre jours consécutifs, un réflexe de défense au courant électrique. Le quatrième jour les animaux, mis dans le dispositif d'expérience, se déplaçaient automatiquement vers la plate-forme électriquement isolée, sans en appliquer le courant électrique. Lorsque le comportement réflexe était stable, après une série de six épreuves répétées, l'expérience était considérée terminée, et on sacrifiait les animaux en vue des analyses.

Quoique cette forme d'« apprentissage » soit différente de l'« apprentissage » par l'extinction et la disparition de la réaction, très souvent comprise sous la dénomination d'accoutumance, ces deux formes de comportement possèdent des éléments communs. Premièrement, dans chaque cas, ainsi que par ailleurs Pieron [25] l'avait remarqué en 1910, il s'agit d'un comportement adaptatif par lequel s'établit un nouvel équilibre à l'égard du facteur du milieu. Dans l'un des cas l'équilibre s'établit grâce à une adaptation négative, manifestée par la disparition graduelle de la réponse, tandis que dans l'autre cas grâce à une adaptation positive, manifestée par l'amplification ou la modification de la réponse. En ce sens on pourrait, croyons-nous, considérer le phénomène de l'adaptation du rythme et de l'automatisation de certaines formes de réaction ou de comportement comme des formes d'adaptation positive, ou d'« accoutumance positive ». Dans chacun des cas le passage d'un état initial de repos vers un nouvel

état stationnaire d'équilibre est précédé d'une phase critique de déséquilibre dans la réaction du système [27], [28], [33]. Les aspects communs des deux formes d'adaptation n'excluent nullement l'existence de certains mécanismes physiologiques différents. Ainsi qu'il résulte aussi de nos expériences, des mécanismes différents entrent en jeu également dans le cadre de l'adaptation négative.

La différence essentielle dans les deux formes d'accoutumance, signalées ci-dessus, consisterait, selon notre opinion, avant tout, dans la signification du facteur excitant. En cas d'accoutumance négative l'établissement de l'équilibre a lieu par manque de signification, tandis qu'en cas d'accoutumance positive c'est par la fixation de la signification du facteur du milieu. Pour le motif que la réaction (automatique) « apprise », qui est celle d'éviter un facteur nocif du milieu, devient, à un moment donné, une forme de l'accoutumance positive — l'animal s'habitue à l'éviter — nous avons effectué les expériences mentionnées ci-dessus sur des rats albinos. Ces expériences ont porté sur des lots parallèles de 20 rats, dont on a déterminé après leur sacrifice les mêmes composés du sang.

Il nous a paru intéressant de remarquer le fait que les modifications de l'équilibre homéostatique dans le cadre de ces expériences sont similaires, quant à leur sens, à celles que nous avons obtenues dans les expériences sur des chats concernant l'accoutumance à l'excitation par le courant électrique.

De nos expériences effectuées jusqu'à présent il résulte que l'accoutumance a un caractère actif et qu'elle est accompagnée de modifications du milieu interne. Ces données paraissent plaider en faveur de l'hypothèse que l'accoutumance, au sens large du mot, est un nouvel état stationnaire du système excité. C'est un phénomène analogue à celui de l'adaptation générale de l'organisme, dont les lois avaient été mises en évidence par de nombreux chercheurs [17], [23], [31, etc.] sur diverses espèces d'animaux aquatiques et terrestres.

## BIBLIOGRAPHIE

1. АНИКИНА Н. А., Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1960, 50, 8, 24.
2. АНОХИН П. К., *Внутреннее торможение как проблема физиологии*, Moscou, 1958.
3. БЕРИТОВ И. С., *Общая физиология мышечной и нервной системы*, Moscou—Leningrad, 1948, стр. 2.
4. БОКША В. Г., Физиол. журн. СССР, 1957, 43, 12, 1147.
5. BRAZIER M. A., *The Electrical Activity of Nervous System* (en russe), Moscou, 1955.
6. SAVAGGIONI A., GIANELLI G. et SANTEBANES G., Arch. ital. biol., 1959, 97, 3, 266.
7. SAVAGGIONI A., GIANELLI G. et SANTEBANES G., Arch. ital. biol., 1959, 35, 3, 301.
8. ЧАЙЛАХИЯН Л. М., Журн. высшей нервной деят., 1957, 7, 5, 767.
9. ЕРШОВА Л. И., Физиол. журн. СССР, 1964, 50, 4, 479.
10. ФРОЛКИС В. В. и ФРОЛКИС А. В., Физиол. журн. СССР, 1956, 42, 10, 854.
11. ФРОЛКИС В. В., БУШМАКИНА Э. И. и ЩЕГОЛЕВА И. Г., Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1961, 60, 1, 8.
12. FAUCON G. et BOULANGÉ M., C. Rend. Soc. Biol., 1960, 154, 12, 2336.
13. ФРОЛКИС В. В., Журн. высшей нервной деят., 1954, 4, 5, 7071.
14. HARGITT G. W., Journ. of experim. zool., 1906, 3, 295.
15. HORN G. et HILL M. R., Nature, 1964, 202, 4929, 296.
16. JENNINGS H. S., Journ. of experim. zool., 1905, 2, 458.
17. JEAN C. F., Nature, 1952, 3211, 341.
18. LAVORIT H., *Du Soleil à l'Homme*, Paris, 1963.
19. МАТЮШКИН Д. П., Физиол. журн. СССР, 1956, 42, 8, 639.

20. MORUZZI G., Nuovo Cimento, 1959, 13, suppl. 2, 532.
21. MORUZZI G., Rassegna Clin. sci. ist. biochim., 1958, 34, 147.
22. МУСЯЩЕВА С. С., Физиол. журн. СССР, 1951, 37, 6, 718.
23. KINNE OTTO, Helgol. Wiss. Meeresunters., 1964, 9, 1-4, 433.
24. ПАВЛОВ И. П., *Лекции о работе больших полушарий мозга*. М—Л, 1927.
25. PIERON H., *L'évolution de la mémoire*. Paris, 1910.
26. ПОЛЯКОВ Г. И., *Проблема происхождения рефлекторных механизмов мозга*. Moscou, 1964.
27. PORA O., *Homeostasis, Evolution and Adaptation*. Prague, 1961, p. 23.
28. POP M. et SĂHLEANU V., Revista de Filozofie, 1963, 12, 2, 184.
29. PORA A. E., POP M. et FABIAN N., Experientia, 1965, 21, 343.
30. PORA A. E., Journ. de Physiol., 1958, 50, 2, 464.
31. PROSSER C. L., *Physiological Adaptation*, symposium, Washington, 1958, p. 167.
32. РОЙТБАК А. И., Науч. зап. киевск. ин-та, 1957, 16, 17, 167.
33. ROBERT HEATH, *Pavlovian Conference on Higher Nervous Activity*. New York, 1961, 265.
34. SĂHLEANU V., 2<sup>nd</sup> Intern. Sympos. on Quant. Biol. of Metabol. Biol. Anstalt Helgoland, 1965, Abstracts, p. 10-11.
35. SAGER O., MAREȘ A. et NEȘTIANU V., *Formația Reticulată*. Bucarest, 1965.
36. СОКОЛОВ Е. Н., Журн. высшей нервной деят., 1963, 13, 5, 816.
37. SOKOLOV E. N., *Central Nervous System and Behaviour*. New York, 1960, p. 187.
38. УГОЛЕВ А. М., ХАЮТИН В. М. и ЧЕРНИГОВСКИЙ В. Н., Физиол. журн. СССР, 1950, 36, 1, 117.
39. УТКИН И. А., *Сборн. физиол. и патол. высшей нервной деят.*, Сухуми, 1960., стр. 7.
40. ВИНОГРАДОВА О. С. и СОКОЛОВ Е. Н., Журн. высшей нервной деят., 1955, 5, 3, 344.
41. ВИНОГРАДОВА О. С., *Ориентировочный рефлекс и его нейрофизиологические механизмы*. Moscou, 1961.
42. ВИНОГРАДОВА О. С. и СОКОЛОВ Е. Н., *Сборн. Ориентиров. рефлекс и пробл. рецепции в норме и патол.* Moscou, 1964, стр. 173.
43. ВОЛОХОВ А. А., НИКИТИНА Г. М. и НОВИКОВА Е. Г., Журн. высшей нервной деят., 1959, 9, 3, 420.
44. WESTERMANN R. A., Science, 1963, 140, 3567, 676.

Université Babeş-Bolyai, Cluj  
Chaire de Physiologie animale

LE DÉVELOPPEMENT DE LA RÉACTIVITÉ IMMUNOLOGIQUE PENDANT L'ONTOGÉNÈSE ET LE TRANSFERT DES ANTICORPS DE LA MÈRE AU NOUVEAU-NÉ CHEZ LES RUMINANTS \*

PAR

D. POPOVICI, G. JURENCOVA et N. VERMEŞAN

Electrophoretic and immunoelectrophoretic analyses of blood tests collected from veals and of colostrum from cows show that the passage of colostral immunoglobulins through the intestinal wall in new-born ruminants takes place particularly during the first 12 hours after birth. This process does not lead to the loss of the immunochemical characteristics of the immunoglobulins, which are protected against trypsin action by the antitryptic factor present in the colostrum. During the 24 hours—2 months period the gamma-globulins concentration in blood decreases permanently. The one-day-old kids, immunized by human serum, develop antibodies only in presence of the alpha-globulin fraction, while the 3-week-old kids develop antibodies also in presence of the beta-globulin fraction. These data indicate that the functional maturity of the formations producing antibodies grow progressively, fact proved also by the nature of the gamma-globulins curve in veals, showing a gradual increase of their concentration in blood, beginning with the age of 2 months.

Le développement de la réactivité immunologique pendant l'ontogénèse chez différentes espèces constitue aujourd'hui l'objet de nombreuses études destinées à contribuer à la résolution des problèmes d'intérêt théorique et pratique. Par leur contenu, ces recherches peuvent être groupées autour des principaux problèmes suivants :

1. Le développement de la réactivité immunologique pendant l'ontogénèse chez différents mammifères déterminée par la maturité fonctionnelle des formations génératrices d'anticorps contre les antigènes produites par différents agents pathogènes du médium avec lesquels l'animal est venu en contact.
2. L'étude des rapports immunologiques entre la mère et le fœtus au cours du développement intra-utérin et dans la période de l'alimentation avec

\* Travail présenté à la Première Session de Physiologie animale (Cluj, 25—28 mai 1965).

du colostrum et avec du lait après l'accouchement. Dans le cadre de ces problèmes, nous présentons dans cette communication les résultats obtenus concernant le transfert d'anticorps de la mère chez le nouveau-né et le développement de la réactivité immunologique chez les ruminants en partant de deux faits essentiels résultés de nos communications antérieures [7—8]: le colostrum de la première traite a la valeur biologique la plus élevée entre les  $\gamma$ -globulines du sang de la mère et les immuno-globulines colostrales il y a un apparentage immuno-chimique, ce qui démontre que les premières passent du sang dans le colostrum sans subir de profondes transformations de structure.

#### LE MATÉRIEL ÉTUDIÉ ET LES MÉTHODES DE TRAVAIL

Les expériences ont été effectuées sur des chèvres, des chevreaux, des vaches et des veaux.

On a récolté des épreuves de sang des veaux immédiatement après l'accouchement, avant d'être alimentés avec du colostrum, puis après 2—12—24 heures et dix jours après l'accouchement et ultérieurement chaque mois jusqu'à l'âge de dix mois. Après la coagulation du sang, le sérum obtenu a été centrifugé (3000 tours par minute) pendant 15 minutes. Pour les analyses on a utilisé du sérum frais.

Les protéines sériques totales ont été calculées en se basant sur l'indice de réfraction déterminé avec le réfractomètre Abbe à la température de 17,5°C.

Les fractions protéiques ont été déterminées à l'aide de l'électrophorèse sur papier en tampon véronal — acétate de sodium avec une force ionique  $\mu = 0,05$  et  $\text{pH} = 8,6$ , en utilisant un courant électrique de 3,5 v/cm et 0,15 m A/cm pendant 18 heures. Les spots électrophorétiques colorés avec du bleu de bromophénol et élués en solution alcoolique (alcool méthylique) de carbonate de sodium, ont été mesurés à l'aide du photocolorimètre Lange sans filtres. En se basant sur l'extinction obtenue pour chaque fraction protéique et sur les protéines totales on a calculé leurs concentrations dans le sérum, exprimées en g/ml de sérum. Pour les analyses immuno-électrophorétiques on a utilisé du sérum de veau, du sérum de vache, du sérum colostrale, de l'antisérum colostrale, et du sérum antibœuf. Le colostrum trait immédiatement après l'accouchement a été écrémé par centrifugation et la caséine a été précipitée avec 15% acide acétique jusqu'à  $\text{pH} 4,6$ . La purification du sérum colostrale quant à l'acide acétique, après la précipitation de la caséine, a été faite par dialyse.

On a obtenu les anti-sérums par l'immunisation des lièvres avec du sérum de vache et du sérum colostrale (5 injections consécutives sous-cutanées à un intervalle de 5 jours, en doses croissantes en commençant avec la dose de 25 mg protéine à la première inoculation et finissant par 250 mg protéine à la dernière. Pour établir la capacité de formation d'anticorps on a immunisé un groupe de 3 chevreaux avec du sérum d'homme dès le deuxième jour de vie. Un autre groupe formé de 4 chevreaux, âgés de 3 semaines, a été immunisé selon la même technique avec du sérum d'homme. Pour déterminer l'activité antitrypsique du colostrum, on a employé la technique de Gross-Fuld adaptée à notre but, en utilisant comme substratum pour la digestion, de la caséine Hammersten d'après Kunitz [9], [11].

#### LES RÉSULTATS OBTENUS ET LEUR DISCUSSION

Dans les expériences effectuées sur des veaux et des chevreaux on a confirmé le fait établi, il y a quelques années, par Smith et collaborateurs, que ces animaux, après la naissance, avant de recevoir du colostrum, ne possèdent pas dans le sang la fraction  $\gamma$ -globulinique.

Dans la figure l'on voit que l'électrophorégramme du sérum sanguin chez le veau immédiatement après la naissance présente seulement 3 fractions protéiques: les albumines, les  $\alpha$  et  $\beta$  globulines, les  $\gamma$  globulines étant absentes.

Mais cette fraction apparaît dans le sang du nouveau-né, peu de temps après l'alimentation avec du colostrum et atteint la concentration maximale à 12 heures après la naissance. L'absence des  $\gamma$  globulines dans le sang du nouveau-né est prouvée par les résultats des analyses immunoélectrophorétiques. En analysant l'immuno-électrophorégramme présentée dans la fig. 2 on voit que le sérum du veau, récolté immédiatement après la naissance et après l'alimentation avec du colostrum, après l'électrophorèse en gel d'agar, mis en réaction de précipitation avec le sérum antibœuf, donne des lignes de précipitation différentes, ainsi que pour le sang récolté du veau, 24 heures après la naissance, apparaissent dans la zone de globulines les lignes de précipitation autant pour les fractions que pour les fractions  $\gamma$  globuliniques tandis que le sang récolté immédiatement après la naissance ne donne pas les lignes de précipitation dans la zone des  $\gamma$  globulines.

Quoique le fait que la fraction des  $\gamma$  globulines du sang des veaux et des chevreaux après la naissance provient du colostrum ingéré soit évident, le problème se pose si leurs propriétés immuno-chimiques restent invariables pendant le passage par l'appareil digestif et par la paroi de l'intestin dans le sang. Seulement en ces conditions on pourrait affirmer que les  $\gamma$ -globulines, reçues de la mère par le colostrum, peuvent assurer au nouveau-né une immunité passive élevée. L'analyse immuno-électrophorétique du sérum colostrale et du sérum de veau récolté à 24 heures après avoir reçu le colostrum, mis en réaction de précipitation avec le sérum antibœuf, démontre complètement l'identité antigénique laquelle existe entre les immuno-globulines colostrales et les  $\gamma$ -globulines apparues dans le sang des veaux et des chevreaux après l'alimentation avec du colostrum (fig. 3). Cette thèse est encore soutenue par le fait que, par suite de la double immuno-diffusion, les lignes de précipitation des  $\gamma$  globulines du sang des veaux après l'alimentation avec du colostrum, et des immuno-globulines colostrales, se réunissent à la côte (fig. 4). On a constaté, ayant recours à une autre variante expérimentale, l'existence d'un apparentage immuno-chimique entre les  $\gamma$ -globulines du sérum de la mère et celui du nouveau-né, après le premier jour de vie (fig. 5). Par ces analyses on a démontré que les  $\gamma$ -globulines du sang de la mère passent sans être modifiées dans le colostrum et de là, toujours sans être modifiées, par la paroi intestinale, dans le sang du nouveau-né. En clarifiant ces aspects, une série de problèmes se pose concernant la durée de la période du passage des immuno-globulines par la paroi intestinale, les facteurs qui favorisent ce procès et la sélectivité de la muqueuse intestinale par rapport aux protéines du sérum colostrale. De nombreux auteurs [6] considèrent que le passage des immunoglobulines de l'intestin dans le sang, est dû exclusivement à la perméabilité élevée de la paroi de l'intestin, propriété conservée pendant 24—36 heures après la naissance. La courbe de la variation des globulines (fig. 6) du sang, nous démontre que la concentration de cette fraction protéique s'accroît seulement dans les premières 12 heures de l'alimentation avec du colostrum et que dans l'inter-

valle suivant, de 12 à 24 heures, leur concentration dans le sang garde un niveau relativement constant. Cela veut dire que le passage massif des immuno-globulines de l'intestin dans le sang a lieu surtout à un intervalle de 12 heures après la naissance, et ultérieurement l'intensité de ce procès diminue sensiblement. Probablement, seulement dans les conditions expérimentales, lorsque l'animal n'est pas nourri avec du colostrum immédiatement après la naissance, le passage des immuno-globulines peut encore avoir lieu en quantités massives même après 24 heures depuis la naissance. Une telle expérience a été faite par Deutsch et Smith [2] lesquels n'ont pas alimenté les veaux pendant 48 heures et ils ont constaté qu'en ces conditions les  $\gamma$ -globulines, du sérum sanguin de l'homme, ingérées par les veaux, traversent la barrière intestinale aussi bien dans l'intervalle de 12—24 heures après la naissance. Mais dans des conditions normales, quand les veaux sont alimentés immédiatement avec du colostrum, il résulte de nos données que cette période est beaucoup plus courte.

Est-ce que par la paroi intestinale passent seulement les immuno-globulines colostrales ou encore d'autres fractions protéiques du colostrum? Bangham et collaborateurs [1] considèrent que l'intestin chez les veaux nouveaux-nés ne manifeste pas une sélectivité élevée en rapport avec certaines protéines sériques et qu'il absorbe en quantités égales autant les albumines que les globulines.

Les résultats des analyses électrophorétiques présentées graphiquement dans la figure 6 ne justifient pas complètement ce point de vue puisque dans la période de 0 à 12 heures, on ne constate pas une augmentation de la concentration des albumines dans le sang du nouveau-né, mais au contraire, une diminution de la valeur de cet indice. Les  $\gamma$ -globulines et les  $\beta$ -globulines sont les seules fractions protéiques dont la concentration dans le sang du nouveau-né ne s'accroît pas sensiblement dans les premières 12 heures de vie. Par conséquent il résulte que chez les veaux la muqueuse intestinale absorbe d'une manière sélective seulement certaines fractions des protéines du sérum colostrale et nommément les immuno-globulines.

L'analyse des facteurs qui favorisent le passage de ces macromolécules protéiques, sans modification, par la paroi intestinale, ont déterminé certains auteurs à tirer des conclusions contradictoires ou unilatérales. Hill considère que l'arrêt de l'absorption intestinale des immuno-globulines du colostrum, chez différentes espèces, coïncide avec le développement de la digestion gastrique des protéines. Schmidt et Ewin [13] considèrent que le rôle décisif dans ce procès est détenu par la modification de la perméabilité intestinale. Lascowski [5] a découvert dans le colostrum, la présence d'un facteur antitrypsique qui protège les protéines colostrales contre l'action hydrolytique de la trypsine.

Les recherches effectuées par nous jusqu'à présent dans cette direction nous déterminent à supposer que l'arrêt du passage des immuno-globulines par la paroi intestinale est déterminé par un complexe de facteurs, parmi lesquels les facteurs cités plus haut, ont leur rôle spécifique. Des données obtenues par nous dans cette direction il résulte la variation de l'activité antitrypsique du colostrum, de différentes traites consécutives, sur la capacité hydrolytique de la trypsine. Dans le tableau nous pouvons voir que chez certaines vaches, le colostrum de la première

traite (expérience *in vitro*) bloque l'activité de la trypsine sur la caséine en proportion de 79% tandis que le colostrum de la 4<sup>e</sup> traite à un intervalle de 12 heures après l'accouchement, bloque l'activité trypsique seulement en proportion de 18,4%.

L'activité antitrypsique (inhibitrice) du colostrum, le premier jour après l'accouchement (x)

Preuve N° matr.	Première traite	2 <sup>e</sup> traite	3 <sup>e</sup> traite	4 <sup>e</sup> traite (12 heures)
2046	75	60	37	23,5
771	79,6	67,4	47,8	18,4
671	67,4	47,4	18,4	18,4
61/3	71,9	64,2	53,9	24,2

Cela signifie que, dû à la diminution de la concentration du facteur antitrypsique dans le colostrum obtenu de traites successives à intervalles de 4 heures, après 12 heures, les  $\gamma$ -globulines peuvent être plus facilement dégradées par la trypsine pancréatique, avant qu'elles soient absorbées dans le sang.

On ne peut ignorer les faits concernant la modification de la perméabilité intestinale. Nous avons effectué dans cette direction une série d'expériences sur des chevreaux âgés de 24—36 heures, lesquels ont été alimentés normalement avec du colostrum, dès la première journée après la naissance. Chez ces animaux, sous anesthésie locale, on a isolé par ligatures une portion du duodénum sur une distance de 30 cm (l'innervation et la circulation se sont maintenues intactes). Le bout distal de cette anse a été sectionné et l'intestin a été lavé avec du sérum physiologique. On a obstrué le canal pancréatique, évitant ainsi l'accumulation du suc pancréatique dans l'intestin. Après cela on a obstrué aussi le bout distal et on a introduit dans la cavité de l'intestin 10 cm<sup>3</sup> de sérum d'homme, après cela on a récolté des épreuves de sang à chaque 1/2 heure, pendant 2 heures. Dans les épreuves de sang récoltées, nous n'avons découvert, à l'aide de l'analyse immunoélectrophorétique, aucune des fractions du sérum introduit dans le duodénum. Cela signifie que la perméabilité de l'intestin, chez les animaux du même âge, est très réduite sinon complètement absente.

De ces données, il résulte que les nouveau-nés reçoivent par le colostrum, une immunité passive élevée contre différents agents pathogènes, avec lesquels la mère est venue en contact pendant son développement individuel et contre lesquels ils ont acquis une immunité active seulement dans les premières 12 heures de vie. En partant de cette conclusion et des données présentées dans les communications antérieures, lesquelles ont démontré que la concentration la plus élevée en  $\gamma$ -globulines est dans le colostrum de la première traite, nous avons alimenté un lot de veaux, dans les premières 12 heures avec du colostrum trait immédiatement après l'accouchement. Ces animaux, par rapport aux témoins, n'ont eu aucune affection chronique, gastrique ou pulmonaire.

Après 24 heures et jusqu'à l'âge d'un mois, la concentration des  $\gamma$ -globulines et partiellement des  $\beta$ -globulines, comme il résulte du graphique (fig. 6) diminuent rapidement, ce qui démontre que la synthèse de cette fraction protéique dans l'organisme des veaux est très réduite et que les formations responsables de la synthèse des anticorps ne sont pas encore arrivées à la maturité fonctionnelle nécessaire. Il est probable que dans cette période a lieu aussi un métabolisme intense des  $\gamma$ -globulines reçues par le colostrum. La concentration des fractions  $\gamma$ -globuliniques dans le sang se maintient à un niveau réduit aussi dans le deuxième mois de vie. Cette période peut être considérée comme une période critique dans le développement des veaux, quand le niveau de la concentration des  $\gamma$ -globulines reçues de la mère a atteint des valeurs minima et le processus de néogamma-globulinogénèse se déploie toujours à un niveau réduit. Par une observation faite par nous, il résulte que les affections gastriques et pulmonaires, chez les veaux qui ont reçu, immédiatement après la naissance, des quantités suffisantes de colostrum, ont lieu justement dans cette période. Ces affections peuvent apparaître assez fréquemment aussi dans les premiers mois de vie, si les veaux n'ont pas été alimentés avec du colostrum dans les premières 12 heures après la naissance.

Le fait que dans le premier mois de vie, la synthèse des  $\gamma$ -globulines se déploie à un niveau bas résulte aussi des faits suivants : un groupe de chevreaux à l'âge de 1-2 jours immunisés avec du sérum d'homme ont formé des anticorps seulement contre la fraction  $\alpha$ -globulinique du sérum humain (fig. 8). Un autre groupe de chevreaux âgés d'un mois, immunisés avec le même sérum, ont formé des anticorps contre les fractions  $\alpha$  et  $\beta$ -globuliniques tandis que les animaux adultes forment des anticorps contre toutes les fractions protéiques du sérum humain. Par conséquent la capacité de défense de l'organisme, contre les agents pathogènes du médium, se développe progressivement. Ce phénomène résulte aussi de l'analyse de la courbe des  $\gamma$ -globulines dans la période de 2-10 mois, ce qui démontre que dans cet intervalle de temps, la concentration des  $\gamma$ -globulines dans le sang s'accroît progressivement en arrivant au niveau le plus élevé dans le septième mois de vie. Cela signifie que les processus de maturation des formations génératrices d'anticorps chez les veaux ont un caractère prononcé, en commençant avec le deuxième mois de vie. Jusqu'à cet âge, les moyens de défense du nouveau-né consistaient en grande partie dans l'immunité passive reçue de la mère par le colostrum.

Des données présentées on a tiré les conclusions suivantes :

1. Dans les premières 12 heures après la naissance, chez les veaux nouveau-nés, a lieu un processus intense de passage des immuno-globulines du colostrum ingéré, de l'intestin dans le sang. A la suite de ce phénomène, les processus immuno-chimiques des immuno-globulines ne subissent pas de modifications.
2. On a montré que la concentration du facteur antitrypsique dans le colostrum diminue très vite d'une traite à l'autre, ainsi qu'à la 4<sup>e</sup> traite, 12 heures après l'accouchement, le colostrum bloque l'activité seulement en proportion de 18%.
3. Dans les premiers 2 mois de vie, la concentration des globulines dans le sang des vaches diminue très vite, phénomène dépendant probablement de la synthèse baissée de cette fraction protéique. La concentration des

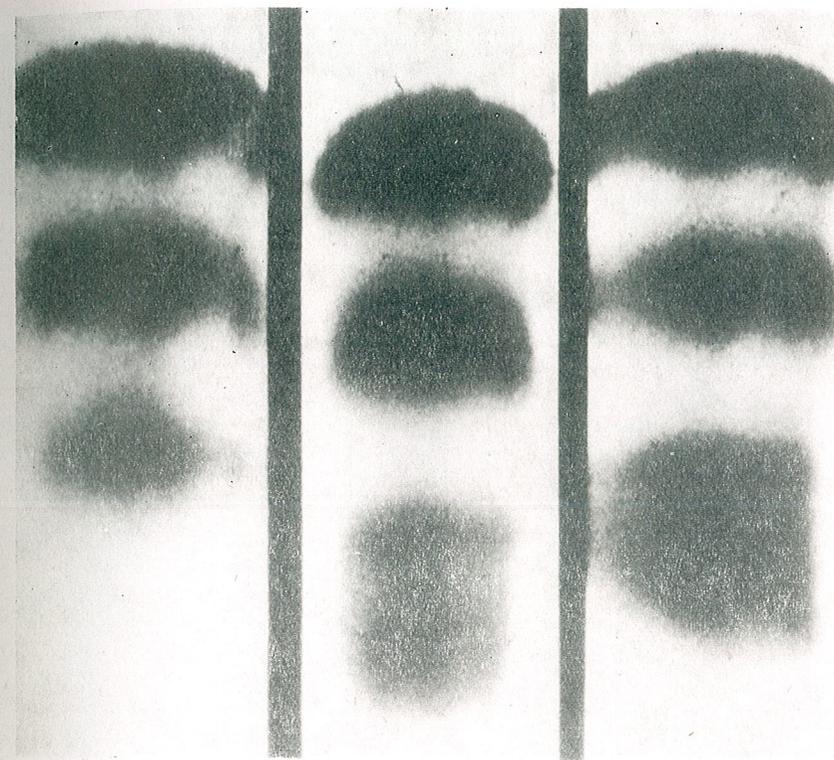


Fig. 1. — Les électrophorégrammes du sérum sanguin chez les veaux dans le premier jour de vie.

$V_0$  = immédiatement après la naissance, avant d'avoir reçu du colostrum.  
 $V_{2h}$  = 2 heures après avoir reçu du colostrum.  
 $V_{24h}$  = 24 heures après avoir reçu du colostrum.

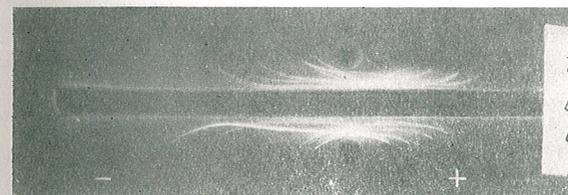


Fig. 2. — Immuno-électrophorégramme : le sérum antibœuf (b) en rapport avec le sérum de veau immédiatement après la naissance, avant de recevoir du colostrum (a) et en rapport avec le sérum de veau, 24 heures après la naissance.

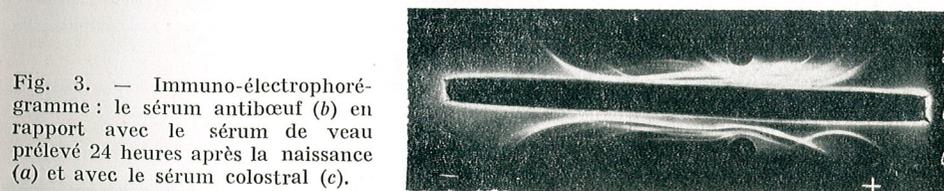


Fig. 3. — Immuno-électrophorégramme : le sérum antibœuf (b) en rapport avec le sérum de veau prélevé 24 heures après la naissance (a) et avec le sérum colostrale (c).

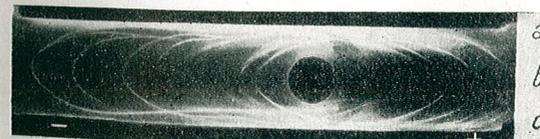


Fig. 4. — Immuno-électrophorégramme : le sérum antibœuf (a) et le sérum antisérum colostrale en rapport avec le sérum de veau prélevé 24 heures après la naissance.

Fig. 5. — Immuno-électrophorégramme : le sérum antibœuf en rapport avec le sérum de vache (a) et le sérum de veau (c) prélevé 24 heures après l'accouchement.

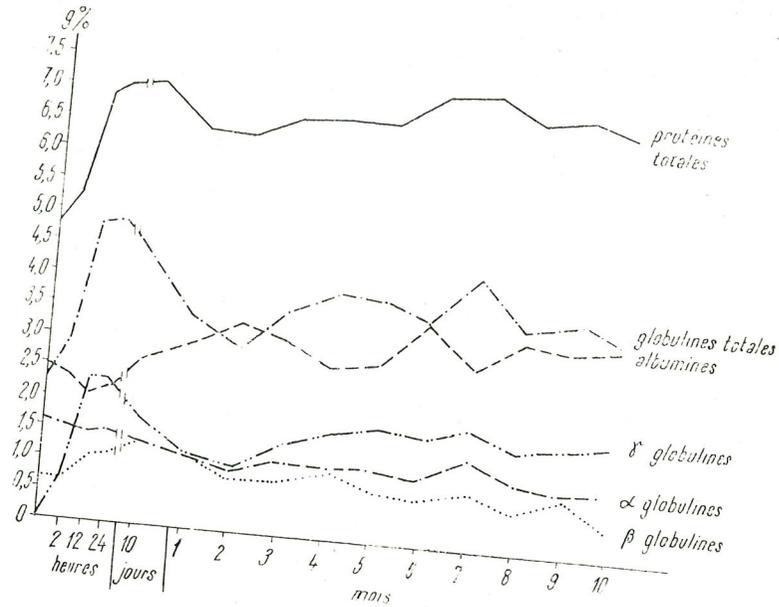
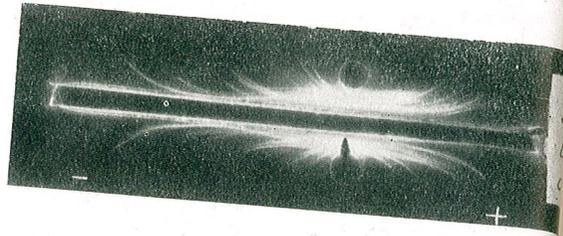


Fig. 6. — Les variations des protéines et des fractions protéiques du sérum sanguin chez les veaux dans les premiers 10 mois de vie.

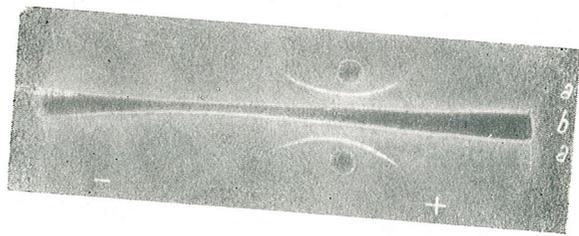


Fig. 7. — Immuno-électrophorégramme : le sérum antihomme chevreau (b) en rapport avec le sérum d'homme (a).

Fig. 8. — Immuno-électrophorégramme : le sérum antihomme (b) en rapport avec le sérum d'homme.



globulines commence à s'accroître seulement 8 semaines après la naissance et atteint la valeur maximale dans le 7<sup>e</sup> mois.  
 4. Les chevreaux âgés de 2 jours immunisés avec du sérum d'homme, ont formé des anticorps seulement contre la fraction γ-globulinique du sérum humain. Les chevreaux âgés d'un mois, immunisés avec le même sérum ont formé des anticorps aussi contre la fraction globulinique.

BIBLIOGRAPHIE

1. BANGHAM D. R., INGRAM R. L., ROY J. H. B., Proc. Roy. Soc. Ser. B, 1958, **149**, 184-191.
2. DEUTSCH H. F., SMITH W. R., Am. J. Physiol., 1957, **191**, 271.
3. HILL K. J., Quant. J. Exptl. Physiol., 1956, **41**, 421.
4. IDU S. M., CÎMPEANU S., *Electroforeza*, Ed. Medicală, Bucarest, 1957, 35-65, 99-120.
5. LASKOWSKI M. JR., LASKOWSKI M., J. Biol. Chem., 1951, **190**, 563.
6. LUCAS I. A. M., *Nutrition of pig and poultry*, Edited by J. T. Morgan, London, 1962.
7. POPOVICI D., VERMEȘAN N., JURENCOVA G., Rev. de zootehnie și med. veterinară, 1964, **6**.
8. — Lucr. științ. ale I.C.Z. 1965, **22**.
9. PRETECENSCHI V. E., BOROVSKAIA V. M., MARGOLINA. L. T., *Metode de laborator clinic* (Trad. du russe). Bucarest, 1953.
10. SCHEIDDEGGER I. I., Int. Arch. Allergy., 1955, **7**, 103.
11. SINDEY P. COLOWICK, NATHAN O. KAPLAN, *Methods in enzymology*, Academic Press, New York, 1955, **2**, 32-36.
12. SMITH L. E., HOLM A., J. Biol. Chem., 1949, **175**, 349.
13. SMITH R., EWING E. S., J. Dairy Sci., 1959, **42**, 2, 364.

Institut de recherches zootechniques  
 Section de Physiologie  
 Bucarest

MODIFICATIONS RÉFLEXES DU SODIUM  
ET DU POTASSIUM SANGUINS,  
DUES AUX EXCITATIONS DES ENTÉROCEPTEURS  
INTESTINAUX \*

PAR

EUGÈNE A. PORA et N. CRISTEA

Le changement du rapport Na/K par l'augmentation du taux de potassium du sang qui circule dans une anse intestinale du chien, provoque des modifications réflexes de type compensatoire, dans le contenu sanguin de ces ions; le sodium augmente et le potassium baisse, déjà une minute après l'irrigation de l'anse. Ce résultat dénote une mise en marche très rapide des mécanismes qui assurent la constance de la composition sanguine. Ces mécanismes ont comme point de départ les entérocepteurs intestinaux.

Des recherches concernant certains aspects de l'action des ions sur les entérocepteurs intestinaux et la modification de certains réflexes entéroceptifs intestinaux ont été entreprises spécialement par Nikitina [16], Dzidzidgurt et Lebedeva [6], Baraz [1-2], Ilinskii et Lebedeva [8], mais on n'a pas posé le problème de leur excitation par perfusion avec des solutions dans lesquelles le rapport cationique est modifié, ni étudié l'effet de ce rapport sur l'ionogramme sanguin.

On sait que les entérocepteurs interviennent dans la modification de la composition du sang [4]. Loghinov et Dadaseva [13] ont suivi la modification de l'ionogramme à la suite de l'excitation spécifique des entérocepteurs. Natchev et Dobrova [14] ont montré le rapport entre les valeurs osmotiques du sang et l'excitation des entérocepteurs.

Dans le présent travail nous nous sommes proposé d'étudier l'intervention éventuelle des entérocepteurs intestinaux dans le maintien de l'homéostasie sanguine, étant donné qu'au niveau de l'intestin ont lieu de nombreux processus d'absorption dont dépend en grande partie le niveau de nombreuses substances du sang.

\* Travail présenté à la Première Session de Physiologie animale (Cluj, 25-28 mai 1965).

Méthode de travail. Nous avons utilisé la méthode de Tchernigovski [3], ce qui signifie la perfusion d'une anse intestinale, en utilisant le dispositif de perfusion de M. Popescu [18]. Dans la première étape, pendant la perfusion de l'anse isolée par du sérum Tyrode normal (dans lequel le rapport Na/K exprimé en mEq/l est de 53,67), nous avons recueilli du sang de la veine fémorale de 16 chiens. Sur une série de 6 animaux, en plus du sang veineux, nous avons recueilli aussi du sang de l'artère fémorale. Tout de suite après la coagulation, le sang a été centrifugé et on a séparé le sérum.

Préalablement nous nous sommes convaincus de la présence de la réactivité entéroceptive par l'administration d'acétylcholine dans l'anse perfusée et de l'apparition du réflexe de pression.

Dans une deuxième étape, au bout de 10 minutes, nous avons substitué au sérum normal, un sérum dans lequel le rapport K/Na était élevé quatre fois (il était maintenu isotonique avec celui normal, au détriment du Sodium). Ainsi le rapport Na/K dans le sérum de perfusion était devenu beaucoup plus petit (exprimé en mEq/l il était de 11,41). Une minute et douze minutes après la commutation de la perfusion, nous avons recueilli de nouveau du sang veineux et artériel, puis nous avons séparé le sérum et les cations  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  ont été déterminés au photomètre à flamme.

#### RÉSULTATS OBTENUS

Les modifications apparues dans le sérum sanguin 12 minutes après la commutation de la perfusion avec un sérum quatre fois plus riche en potassium, seront reproduites suivant la même succession dans tous les tableaux.

On peut constater les modifications du sodium dans le sérum veineux une minute après la commutation de la perfusion; la quantité de Na croît en moyenne de +4,03%. Seulement dans 3 cas sur 16 expériences on a observé une diminution de sodium. Douze minutes après, le sodium reste encore à un niveau assez élevé, de 3,6%, ce qui dénote déjà une tendance de revenir vers la concentration initiale. On constate une situation à peu près semblable dans le sérum du sang artériel: +4,01% au bout d'une minute et +2,81% douze minutes après.

En même temps le potassium subit une légère diminution chez tous les animaux soumis à l'expérience, surtout à une minute après la commutation de la perfusion, quand il a -6,08% de moins vis-à-vis de la valeur initiale du sérum veineux et -3,94% moins que dans le sérum artériel. Au bout de 12 minutes nous observons une tendance vers les valeurs normales: la diminution du potassium est de -3,63% pour le sang veineux et de -2,15% pour le sang artériel.

Les modifications sériques du sodium et du potassium exprimées en mEq/l pour 100, sont représentées graphiquement sur la fig. 1.

Le rapport Na/K exprimé en mEq/l est en moyenne de 45,40 pendant la perfusion avec le sérum normal et augmente jusqu'à 49,90 dans le sérum veineux, une minute après la commutation de la perfusion et de

40,95 à 44,70 pour le sérum artériel. Nous constatons que 12 minutes après, ces rapports restent encore élevés, mais avec une tendance de diminution, étant de 48,29 dans le sérum veineux et de 43,18 dans celui artériel.

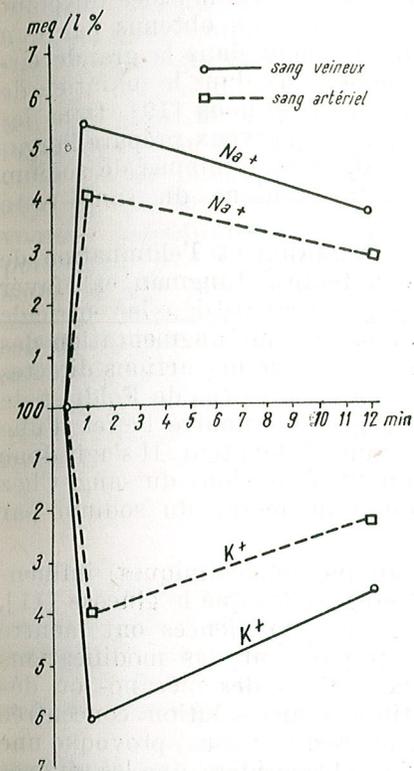


Fig. 1. — Modifications quantitatives du sodium ( $\text{Na}^+$ ) et du potassium ( $\text{K}^+$ ) du sérum sanguin, exprimées en pourcentage de mEq/l, une minute et 12 minutes après la perfusion d'une anse intestinale avec du sérum physiologique à rapport ionique modifié ( $4 \times \text{K}$ ).

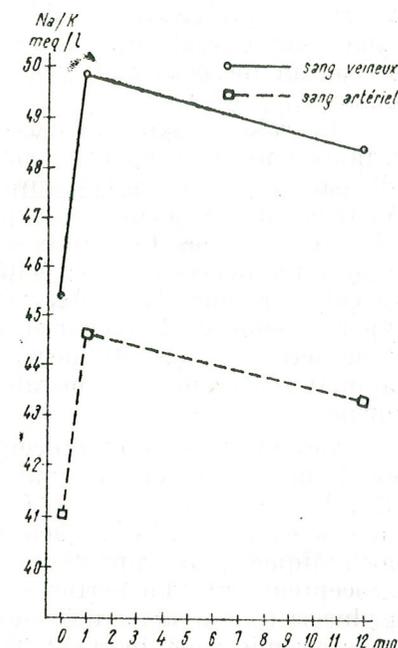


Fig. 2. — Modifications du rapport Na/K, exprimé en mEq/l du sérum sanguin, une minute et 12 minutes après la perfusion d'une anse intestinale avec du sérum physiologique à rapport ionique modifié ( $4 \times \text{K}$ ).

Les variations des valeurs du rapport Na/K exprimées en mEq/l pour 100, sont représentées graphiquement sur la fig. 2.

#### DISCUSSION DES RÉSULTATS

Après la commutation de la perfusion avec un sérum qui a un rapport cationique modifié en faveur du potassium ( $4 \times \text{K}$ ), dans lequel le rapport Na/K est de 11,41 mEq/l (au lieu de 53,67 du sérum Tyrode

normal), on constate que dans le sérum, tant veineux qu'artériel, apparaît une augmentation du sodium et une diminution du potassium. Comme une conséquence, le rapport Na/K apparaît plus grand que dans la perfusion normale (voir le tableau 5). Ce phénomène se produit par l'intermédiaire de l'analyseur entéroceptif, l'anse perfusée étant isolée du point de vue de la circulation. Ces résultats confirment ceux obtenus par l'un d'entre nous [20] en injectant du ClNa directement dans la grande circulation chez les chiens. Le rôle du système nerveux dans le maintien de l'homéostasie a été aussi montré par l'un d'entre nous [19]. Dans les expériences présentes il semblerait que le système nerveux prépare l'organisme pour une absorption accrue de potassium et diminuée de sodium (du sérum de perfusion) pour que l'équilibre ionique du sang reste constant.

Le rôle du système nerveux dans la rétention et l'élimination de certains ions du sang est connu depuis longtemps. Jungman et Mayer (cité par [10]), répétant la piqûre pratiquée par Cl. Bernard dans le ventricule IV, trouvent en dehors de la polyurie, également une augmentation des chlorures sodiques. Ces effets sont interprétés comme des actions directes du système nerveux sur la cellule rénale. Les expériences de Földi et de ses collaborateurs [7] faites sur la tête isolée, ont montré l'effet d'une hypernatrémie sur la teneur en sodium de l'animal donateur. Il s'agit donc d'une action du système nerveux sur la quantité des ions du sang. Chez l'animal récepteur on constate une élimination accrue du sodium par l'urine.

Les excitations entéroceptives (mécaniques ou chimiques) influencent le niveau de certaines substances du sang, telles que le glucose [11], [21], les protéines [12], le Calcium [13]. Les expériences ont montré que les excitations des chemorécepteurs provoquent des modifications biochimiques plus importantes que les excitations des mécanorécepteurs [9]. La perfusion de l'intestin par une solution concentrée de glucose (par la même méthode que celle utilisée par nous) provoque une hypoglycémie sanguine [17]. Tchernigovski [4] considère que les réflexes des organes internes doivent jouer un rôle important dans la régulation du système sanguin, car le sang doit se trouver en concordance avec l'activité des organes internes. Il suppose que la composition du sang est réglée en permanence par les organes internes, à la suite des excitations qui arrivent continuellement des entérocepteurs au système nerveux. Baraz [1] considère que la fonction des récepteurs tissulaires est précisément celle de signaler la composition du liquide intercellulaire. Il montre [2] qu'une très faible augmentation du taux du potassium sanguin est subie par les récepteurs tissulaires comme un signe de l'activité accrue de l'organisme. Nicolaïdis [15] observe que l'application d'eau pure sur les récepteurs bucaux, provoque une modification de la diurèse à 30 secondes, tandis que les solutions salines concentrées sont antidiurétiques.

Tout cela pourrait nous conduire à l'hypothèse de la présence de différents types de récepteurs spécifiques au niveau de l'intestin. Des observations de cette nature ont été faites depuis longtemps. En 1943 Hahn (cité par [5]) a démontré que le déficit en fer chez l'homme et chez les chiens, est suivi d'une absorption plus grande du fer radioactif, que chez les individus normaux. Il s'agirait donc d'un récepteur spécifique

pour le fer. Conrad et Crosby [5] ont pu mettre en évidence histologiquement la présence de ces récepteurs.

On pourrait supposer, comme suite des nos résultats, la présence de récepteurs pour le sodium, pour le potassium et probablement pour d'autres cations, au niveau de l'intestin. Ces ionoccepteurs contribuent au maintien de l'équilibre ionique constant dans le sang, donc au maintien de l'homéostasie. Au niveau de l'intestin, où il existe des possibilités d'absorption différente d'ions, et par conséquent la modification du rapport normal de ces ions, il existe un mécanisme réflexe qui peut compenser l'excès d'un ion quelconque par l'augmentation du taux de l'ion, qui au point de vue fonctionnel est un antagoniste de l'autre. Ainsi on pourrait expliquer qu'une diminution du sodium dans le liquide de perfusion provoque l'augmentation du sodium dans le sang, et que l'augmentation du potassium dans le liquide de perfusion provoque la diminution du potassium dans le sang. Les ionoccepteurs étant excités par un déséquilibre minéral déclenchent des réactions de compensation qui aboutissent à établir de nouveau l'équilibre normal. Les modifications que nous avons obtenues dans nos expériences ne sont pas grandes, mais il faut tenir compte que nous avons utilisé, pour la perfusion avec des solutions déséquilibrées, une petite portion d'anse intestinale, d'environ 8 à 10 cm de longueur.

#### CONCLUSIONS

1. Le passage de la perfusion d'une anse intestinale isolée (les liaisons nerveuses étant maintenues) avec du sérum Tyrode à rapport ionique normal, au sérum à rapport ionique modifié en faveur du potassium ( $4 \times K$ ), provoque une diminution du potassium et une augmentation du sodium, par voie réflexe, dans le sang.
2. Ces résultats mettent en évidence l'existence de certains ionoccepteurs qui, semble-t-il, contribueraient au maintien de l'équilibre ionique dans le sang; ils auraient donc un rôle homéostatique.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. БАРАЗ А. Л., 1961, Докл. АН СССР, **139**, 1, 234—237.
2. БАРАЗ А. Л., 1961, Докл. АН СССР, **140**, 5, 1213—1216.
3. ЧЕРНИГОВСКИЙ Н. В., 1943, *Афферентные системы внутренних органов*. Москва.
4. ЧЕРНИГОВСКИЙ Н. В., 1960, *Интероцепторы*. Медгиз, Moscou.
5. CONRAD E. M. et CROSBY H. W., 1963, Blood J. Hematol., **22**, 4, 406—415.
6. ЛЕБЕДЕВА А. В., 1961, Докл. АН СССР, **139**, 1, 238—241.
7. FÖLDI M., KOVACS A., ROHEIN P., RAPP N. et KOLTAY E., 1957, Ztschr. ges. exp. Med., **15**, 129.
8. ИЛЬИНСКИЙ Б. О. et ЛЕБЕДЕВА А. В., 1963, Физиол. журн. СССР, **49**, 751—759.
9. КАРАЕВ А. Н., 1959, Тр. I конф. забав. ун-тов, Баку, Азерб. ун-та, 103.
10. KERPEL E.—FRONIUS, 1959, Pathologie und Klinik des Salz und Wasseraushalten. Verl. Ung. Akad. d. Wissensch.
11. KRULICH L., 1962, Casop. lekaru cesk., **101**, 21, 663—667.
12. ЛОГИНОВ А. А. et ЕРШОВА Н. Д., 1955, Уч. зап. Азерб. ун-та, **6**, 63—72.

13. ЛОГИНОВ А. А., ДАДАШЕВ А. Г., Сб. Физиол. Вопр. физиол. Т. п. Баку, АН Азерб. ССР, 55—62.
14. NATCHEV N. et DOBREVA N., 1955, Dokl. Bolgar. A. N., 8, 1, 69—72.
15. NICOLAIDIS S., 1963, Journ. Physiol., 55, 2, 309—310.
16. НИКИТИНА И. И., 1950, Физиол. журн. СССР, 36, 4, 480—495.
17. PASCALOV STOENESCU LIDIA, 1962, St. cerc. fiziol., 2, 245—255.
18. POPESCU M., 1956, Rev. Fiziol. norm. patol., 1, 116—118.
19. PORA A. E., 1958, Journ. Physiol., 50, 462—464.
20. PORA A. E. et ROŞCA I. D., WITTENBERGER C., STOICOVICI FL. et RUŞDEA D., 1960, Com. Acad. R.P.R., 10, 839.
21. СИХАРИЛИДЗЕ А., 1957, Сообщ. АН Груз. ССР, 18, 1, 103—108.

Centre de recherches biologiques  
Cluj

## INFLUENCE DE L'ATHYMIE EXPÉRIMENTALE ET DE L'ADMINISTRATION D'UN EXTRAIT PROTÉIQUE DU THYMUS SUR LE Fe PLASMATIQUE, SUR L'ACTIVITÉ DE LA CATALASE HÉPATIQUE, SUR L'HÉMOGLOBINE CHEZ LE RAT \*

PAR

ISABELA POTOP et ELENA JUVINĂ

Les auteurs ont étudié les variations du Fe plasmatique, de l'activité de la catalase hépatique et de l'hémoglobine chez le rat éthymsé et normal après l'administration d'un extrait thymique (TP) de nature polypeptidique. On remarque une diminution concomitante de ces paramètres chez les animaux éthymsés et une augmentation après l'administration de l'extrait. Les résultats soulignent le rôle du thymus sur le métabolisme du Fe.

Le thymus est un organe beaucoup discuté mais pas autant étudié au point de vue de sa nature endocrine et de la séparation de ses hormones. Les résultats obtenus par différents auteurs sur ce problème ont été contradictoires, fait qui a déterminé que l'étude de cette glande soit peu abordée pendant un nombre d'années. Dans la dernière décade les expériences ont été reprises et les connaissances sur le thymus ont progressé. Dans la littérature actuelle de nombreux travaux s'occupent du thymus au point de vue immunologique, endocrino-oncologique, ou de ses corrélations avec le système endocrinien. On a séparé du thymus un nombre de facteurs actifs à diverses compositions chimiques.

Bien que le thymus soit étudié sous différents aspects, son rôle sur les métabolismes a été peu abordé. Dans le problème du thymus, l'école roumaine d'endocrinologie et le laboratoire de Physiologie animale de Cluj ont apporté des contributions importantes.

Depuis 1935 C. I. Parhon [1] a publié une monographie concernant l'importance du thymus au point de vue endocrinologique.

\* Travail présenté à la Première Session de Physiologie animale (Cluj, 25—28 mai 1965).

Ultérieurement C. I. Parhon, S.-M. Milcou et certains d'entre nous ont entrepris l'étude biochimique et antinéoplasique de cette glande.

En administrant plusieurs extraits du thymus de veau isolés par nous, nous avons démontré des actions spécifiques diverses : une action anticancérogène d'un extrait de nature protéique et surtout d'un extrait de nature lipidique. Ces extraits inhibent le développement des différentes formes de tumeurs expérimentales chez le rat, la souris, dans l'embryon de poule et les cultures de cellules tumorales [2-5]. Par contre, un extrait de nature lipoprotéique stimule le développement tumoral chez la souris et dans l'embryon de poule [6]. S.-M. Milcou et certains d'entre nous ont démontré des actions métaboliques diverses des extraits isolés du thymus. Les résultats obtenus jusqu'à présent ont montré entre autres : l'influence de l'athymie expérimentale et de l'administration d'une fraction protéique du thymus sur la teneur minérale des os et des cartilages [Ca, P, K et Na] parallèlement au développement des animaux [7], [8]. Ces résultats confirment la participation du thymus dans l'ostéogénèse, fait signalé antérieurement par Parhon, Lucien et coll. [9].

Nous avons montré ailleurs l'action spécifique du thymus sur le métabolisme protéique [10] et sur le métabolisme du phosphore chez les rats et les lapins éthymisés et traités par un extrait protidique de thymus [11]. S.-M. Milcou et nous avons établi des corrélations d'ordre biochimique entre le thymus et le métabolisme lipidique et hydrique dans le cerveau [12]. Nous avons montré l'influence des extraits thymiques de nature protéique et lipidique sur la respiration du foie et du muscle diaphragmatique [13].

Pora et coll. ont montré l'action du thymus sur certains phénomènes mécano-musculaires [14]. Les auteurs ont montré qu'après éthymisation il se produit une atrophie du muscle et une réduction de l'ergogramme et de la chronaxie [15]. Ce fait qui indiquerait une hyperexcitabilité du muscle, peut être corrigé par l'administration d'un extrait protéique (commercial, CIF) du thymus. Pora et coll. [16] observent un accroissement de l'élimination du  $^{32}\text{P}$  chez les animaux éthymisés. En étudiant les caractéristiques biochimiques pendant l'involution du thymus, Pora et coll. [17] trouvent des modifications des groupements-SH. Le même auteur [18] observe des transformations biochimiques du thymus qui se produisent dans la bourse de Fabricius pendant l'ontogénèse, chez la poule.

Les données de la littérature concernant l'influence des facteurs hormonaux sur le niveau du Fe plasmatique sont réduites, bien que cet oligoélément participe dans les réactions chimiques et catalytiques les plus diverses. Dans un travail antérieur [19] nous avons montré que l'administration des extraits thymiques déterminent une augmentation du Fe plasmatique, et parallèlement un accroissement de l'activité de la catalase hépatique chez les rats et les souris porteurs de tumeurs, chez lesquels ces indices biochimiques sont diminués de manière significative.

En partant de ces constatations, dans le présent travail nous avons suivi l'action de l'athymie expérimentale et celle de l'administration d'un extrait thymique de nature protéique (TP) sur le Fe plasmatique, l'activité de la catalase hépatique et l'hémoglobine.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Nous avons utilisé comme modèle d'expérience l'éthymisation par voie chirurgicale et l'administration d'un extrait thymique TP chez les rats éthymisés et intacts.

Les expériences ont été effectuées sur 120 rats albinos mâles, adultes, Wistar, pesant 100-110 gr. Les animaux ont été divisés en 7 lots : 1<sup>er</sup> lot, témoins normaux ; 2<sup>e</sup> lot - éthymisés ; 3<sup>e</sup> lot, faux éthymisés ; 4<sup>e</sup> lot, normaux, traités avec TP ; 5<sup>e</sup> lot, normaux, traités avec un extrait de nature protéique préparé du muscle dans les mêmes conditions (MP) ; 6<sup>e</sup> lot - éthymisés, traités avec TP ; 7<sup>e</sup> lot - éthymisés, traités avec MP. L'éthymisation a été effectuée par voie opératoire, parallèlement à la fausse athymie pour vérifier si le traumatisme opératoire ne modifie pas, lui seul, les métabolismes. Le traitement avec TP et MP a été effectué le 2<sup>e</sup> jour après l'éthymisation : en tout, 6 injections souscutanées à 1 ml extrait/100 gr du poids d'animal, correspondant à 0,5 gr glande fraîche. L'extraction et l'analyse des fractions TP et MP a été faite par nous suivant des méthodes publiées dans un travail antérieur [20]. En utilisant l'appareil de Tiselius, l'extrait TP montre à l'électrophorèse une seule fraction de nature polypeptidique contenant 115 mg N total pour 100 ml extrait. L'extrait MP contient 1,43 mg N total pour 100 ml extrait. Pour le dosage du Fe plasmatique nous avons utilisé la méthode de Heilmeyer [21], pour l'activité de la catalase hépatique la méthode de von Euler [22].

Les résultats calculés et interprétés au point de vue statistique sont consignés dans les tableaux ci-joints.

## RÉSULTATS

Les résultats obtenus montrent des modifications significatives du niveau du Fe plasmatique, de l'activité de la catalase hépatique et de la valeur de l'hémoglobine chez les animaux éthymisés et chez ceux éthymisés et traités avec TP.

1. Le Fe plasmatique (tableau 1) est diminué de manière significative de 17 pour 100 chez les rats éthymisés. Il augmente de manière statisti-

Tableau 1  
Variations du Fe plasmatique chez les rats éthymisés et traités avec (Fe en  $\mu\text{g}/100\text{ ml pl}$ )

N <sup>o</sup> des lots	Lots	Nombres d'animaux	Fe pl.	Rapports	p
1	normal contrôle (N)	20	304 ± 4	—	—
2	éthymisé (-T)	20	251 ± 10	-T/N	p < 0,05
3	faux éthymisé (F - T)	13	300 ± 9	F - T/N	p > 0,05
4	normal + TP (N + TP)	13	311 ± 6	N + TP/N	p > 0,05
5	normal + MP (N + MP)	14	334 ± 9	N + MP/N	p > 0,05
6	éthymisé + TP (-T + TP)	20	373 ± 4	-T/-T + TP	p < 0,05
7	éthymisé + MP (-T + MP)	20	305 ± 1,8	-T/-T + MP	p < 0,05

quement significative de 40% après l'administration du TP; les variations observées ne sont pas spécifiques, étant donné que l'extrait de contrôle MP produit un effet similaire: une augmentation de 21 pour 100 du Fe plasmatique. La fausse éthymisation ne produit pas de modifications sur le Fe plasmatique en comparaison avec les témoins normaux. On doit souligner que l'administration du TP et du MP chez les rats intacts ne produit pas de modifications du Fe par rapport aux rats normaux.

Tableau 2

N° des lots	Lots	Nombres d'animaux	activité de la catalase	rapport	p
1	normal contrôle (N)				
2	éthymisé (-T)	20	153 ± 2,31	-	-
3	éthymisé + TP (-T+TP)	20	50 ± 2,50	-T/N	p < 0,05
4	éthymisé + MP (-T+MP)	20	150 ± 2,89	-T+TP/N	p > 0,05
		20	50 ± 3,20	-T+MP/N	p < 0,05

2. L'activité de la catalase hépatique (tableau 2). Parallèlement à la diminution du Fe, il se produit chez les rats éthymisés une diminution statistiquement significative de l'activité de cette enzyme de 68 pour cent. Après l'administration du TP chez les rats éthymisés il se produit une augmentation significative de l'activité de la catalase de 100 pour 100. Les variations de la catalase hépatique ont un caractère de spécificité, par ce que l'extrait en vue du contrôle MP n'augmente pas l'activité de cette enzyme chez les rats éthymisés.

Tableau 3

No de lots	Lots	Nombres d'animaux	Valeurs de l'hémoglobine	Rapports	p
1	normal contrôle				
2	éthymisé	20	98,5 ± 1	-	-
3	faux	20	92 ± 1,3	-T/N	p < 0,05
4	éthymisé normal + TP	13	100 ± 2	F-T/N	p > 0,05
5	normal + MP	13	97,5 ± 2,5	N+TP/N	p > 0,05
6	éthymisé + TP	14	97 ± 0,1	N+MP/N	p > 0,05
7	éthymisé + MP	20	107 ± 1	-T/-T+TP	p < 0,05
		20	103 ± 1,4	-T/-T+MP	p < 0,05

3. L'hémoglobine (tableau 3). Les valeurs de l'hémoglobine diminuent de manière statistiquement significative de 6 pour 100 chez les rats éthymisés et augmentent après administration de TP de 16 pour 100. Les variations

ne sont pas spécifiques car l'extrait MP produit des modifications dans le même sens: un accroissement de 11 pour 100 chez les animaux éthymisés et traités par cet extrait. La fausse éthymisation ne produit pas de modification des valeurs de l'hémoglobine par rapport aux rats normaux. L'administration du TP et du MP chez les rats normaux ne produit pas de variations des valeurs de l'hémoglobine.

## DISCUSSIONS

Les données obtenues montrent la participation du thymus dans le métabolisme du Fe, de l'activité de la catalase hépatique, enzyme qui contient du Fe et de l'hémoglobine.

L'éthymisation expérimentale et l'administration de l'extrait thymique produisent des modifications de sens contraire. Ce phénomène démontre l'activité de l'extrait TP dans le sens de suppléer la glande absente dans les métabolismes étudiés. Ainsi après l'éthymisation il se produit en même temps une diminution de ces indices biochimiques, et par l'administration de TP leur augmentation concomitante. Etant donné que l'extrait de contrôle MP produit des variations dans le même sens sur le Fe plasmatique et de l'hémoglobine, l'activité de l'extrait TP est spécifique uniquement sur l'activité de la catalase hépatique, qui n'est pas influencée par l'administration de MP.

En ce qui concerne le mécanisme qui contrôle le niveau du Fe plasmatique, dans la littérature on a souligné le rôle des glandes cortico-surrénales et du système réticulo-endothélial. On a constaté une diminution du Fe plasmatique dans l'hypophysectomie et après l'administration des extraits corticaux et d'ACTH. Il a été démontré plus récemment par Vassenbrock [23] que la folliculine, la testostérone et la cortisone produisent une diminution du niveau ferrique dans le foie du rat. Dans un travail antérieur [24] nous avons démontré que le thymus influence l'hématologie et la leucopoïèse. La liaison entre le Fe et l'hémoglobine a été souvent démontrée en littérature par divers auteurs. La majorité des auteurs sont d'avis que le Fe serait par lui-même un activateur de la synthèse de l'hémoglobine en exerçant une sorte de pression érythropoïétique; il existe un rapport direct entre l'importance de l'érythropoïèse et la teneur en Fe (Paoletti, 1955). Vanotti et coll. [26] s'arrêtent à 2 hypothèses: soit que le Fe exerce une activation sur certaines enzymes qui jouent un rôle dans l'érythropoïèse, soit que le Fe en petite quantité aide à la reconstitution de cytochromoxydase et à d'autres enzymes héminiques disparues dans les anémies ferri-privées. Flexner et coll. [27] admettent l'existence dans la synthèse de l'hémoglobine de certains systèmes enzymatiques complexes. Récemment, Robinson et coll. [28] ont montré une relation entre l'absorption du Fe et le niveau de l'hémoglobine chez le rat. La répartition et le rôle du Fe dans l'organisme sont bien connus, mais les mécanismes qui règlent ces processus ne sont pas bien définis.

Les résultats obtenus dans nos expériences d'après lesquels par administration du TP on observe un accroissement parallèle du Fe plasmatique et de l'hémoglobine, soulignent le rôle stimulateur du thymus dans ces processus. En même temps ils confirment l'idée que le Fe serait lui-même

un activateur de l'hémoglobine. L'augmentation parallèle du Fe et de l'activité de la catalase hépatique après le traitement avec TP chez les rats éthymisés, où l'activité de cette enzyme est réduite, confirmerait l'hypothèse d'après laquelle le Fe actionne sur la reconstitution des enzymes héminiques, qui ont un rôle en érythropoïèse et en même temps souligne le rôle stimulateur du thymus dans ces processus.

#### CONCLUSIONS

Les résultats obtenus apportent certaines contributions à l'étude biochimique du thymus.

L'éthymisation expérimentale produit une diminution statistique significative et concomitante du Fe plasmatique, de l'activité de la catalase hépatique et de l'hémoglobine.

L'administration de TP produit une augmentation significative de ces indices biochimiques.

Les augmentations sont spécifiées seulement pour l'activité de la catalase, par ce que l'extrait MP de contrôle produit des modifications dans le même sens que le TP pour le Fe et l'hémoglobine.

On doit souligner la participation du thymus dans le métabolisme du Fe; et sur l'activité de la catalase et son rôle stimulateur dans l'hémoglobinogénèse.

Les résultats permettent d'envisager l'existence d'un ou de plusieurs principes actifs dans le thymus agissant sur les métabolismes.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. PARHON G. I., Cernăușul Medical, 1935, 6, 403-407.
2. PARHON G. I., POTOP I., BABEȘ A., PETREA I., JUVINĂ E., FELIX E., BOERU V., *Acțiunea timusului și a unor substanțe neurotrope în cancerul experimental*, Ed. Acad. R.P.R., Bucarest, 1955.
3. POTOP I., CIOCÎRDIA C., JUVINĂ F., LUPULESCU A., BIENER J., MREANĂ G., Acta biol. et medica germanica, 1960, 5, 205.
4. POTOP I., BIENER J., LUPULESCU A., MREANĂ G., Neoplasma, 1961, 8, 2, 157.
5. POTOP I., BIENER J., BĂLĂCEANU M., LUPULESCU A., Neoplasma, 1962, 9, 6, 563.
6. POTOP I., BOERU V., BIENER J., Rev. Roum. d'Endocrinol., 1965, 2, 1, 41.
7. MILCOU St.-M., POTOP I., FELIX E., COSTIN F., Com. Acad. R.P.R., 1951, 1, 6, 483.
8. MILCOU St.-M., POTOP I., FELIX E., COSTIN F., Com. Acad. R.P.R., 1951, 1-2, p. 201.
9. LUCIEN M. - PARISSOT T. et RICHARD G., *Traité d'Endocrinologie. Les parathyroïdes et le thymus*, Paris, 1927.
10. MILCOU St.-M., POTOP I., CIOCÎRDIA C., NEACȘU C. și SIMIONESCU N., Acta biol. med. germ., 1963, 11, 371-377.
11. POTOP I., FELIX E., CIOCÎRDIA C., Biochimia, 1959, 24, 2.
12. MILCOU St.-M., POTOP I., Buletin științific - secția St. Med., 1955, 4, 1187.
13. MILCOU St.-M., POTOP I., CIOCÎRDIA C., MREANĂ G., SIMIONESCU N., *Comunic. Congres. V Biochimie (Communication au V<sup>e</sup> Congrès de Biochimie)*, Moscou, 1961.
14. PORA E. und TOMA VIRGIL, Revue de Biologie, 1962, 7, 1, 113.
15. TOMA V. și PORA E., Studia Universitatis Babeș Bolyai 1960, 2, 2, Biologia, pag. 237.
16. PORA E., TOMA V. et OROS J., Journal Physiol. Paris, 1962, 54, 2, 400.
17. PORA E., TOMA V., FABIAN N., Acad. Science Paris, 1962, 255, 2010.
18. PORA E., TOMA V., ABRACHAM A., Acad. Science Paris, 1962, 255, 2010.
19. POTOP I., JUVINĂ E., Comunicată la Simpozionul de Biochimia cancerului (Communication au symposium de biochimie du cancer), novembre 1964, Jassy.

20. POTOP I., BOERU V., MREANĂ G., Com. Acad. R.P.R., 1963, 17, 10, 921.
21. HEILMEYER-PLÖTNER, dans *Les diagnostics biologiques et fonctionnels*, Fiessinger N., Olivier H., Herbain M., Paris, 1949, p. 377.
22. VON FULER, dans *Methods in Enzymology*, Colowick Sidney, P. Kaplan, Acad. Paris. Ny., 1955, 2, 709.
23. VLASSEMBROCK, Ann. endocrin. Paris, 1964, 25, 100.
24. POTOP I., BOERU V., Com. Acad. R.P.R., 1951, 1, 7, 641.
25. PAOLETTI Cl. M., Journal de médecine de Bordeaux, 1955, mai, 132, 1.
26. VANOTTI A. et DELACHAUX A., apud Paoletti, Journ. médecine, Bordeaux, 1955, 132, 1.
27. FLEXNER L. R., VOSBURGH J., COWIE D., Amer. J. physiol., 1948, 153, 503.
28. ROBINSON E. J., HORESTAN F. G., Tex. Rep. Biol. Med., 1964, 22, 170.

Institut d'Endocrinologie  
Bucarest

INVESTIGATIONS ON GLYCOREGULATION  
IN HOUSE-SNAKE

(*NATRIX NATRIX* L.)\*

BY

C. VLĂDESCU and MARGARETA BALTAC

Investigations on snake *Natrix natrix* L. were carried out regarding glycemia, depending on season, inanition, evolution of induced hyperglycemia, as well as on hepatic and muscular glycogen. No significant variations of glycemia were detected depending on season and inanition. Induced hyperglycemia is re-established in less than 24 hours. Glycogen is very low in animals kept in prolonged inanition. The results obtained lead us to the conclusion that glyco-regulating mechanisms in this species of ophidians are capable of ensuring glycemie homeostasis.

Enlarging upon our investigations regarding the regulation of glucidic metabolism in reptiles, we undertook certain experiments on glycemia in house-snake (*Natrix natrix*). These investigations were all the more imperative as, so far, literature data in connection with glycemia in ophidians are generally very scarce [1], [2], [6], [8], [9], [10], a fact which does not offer the possibility of a sufficiently clear orientation in this problem.

The object of our investigations was the study of normal glycemia, on the one hand, during the period of activity, and on the other, that of rest in the course of one year, as well as the evolution of induced hyperglycemia; besides these, we have effected glycogen determinations (hepatic and muscular).

MATERIAL AND METHOD

The studied specimens were captured in the neighbourhood of Bucharest. Their weight varied between 50 and 200 g. In the laboratory they were kept at a temperature of +20 to +25°C.

Blood was taken from the tail, on Na F. Glycemia was determined by the Hagedorn-Jensen method.

\* Work presented at the First Session of Animal Physiology (Cluj, May 25-28, 1965).

Hyperglycemia was induced by injection with glucose in proportion of 1 g/kg. Blood samples were taken at: 1, 3, 6, 12, 24, 48 hours from glucose administration.

The effect of insulin on induced hyperglycemia was watched after administration of hormone at: 0, 3, 6, 12, 24 hours. Glycemia in pre-insulinized animals was determined 3 hours after i. p. administration of glucose. Biofarm (1 ml = 40 UI) insulin was used.

Experiments were carried out on several lots of animals, so that in one category of experiments the animals were used only once.

Glycogen was determined by Kemp's and Kit's [7] method, from muscles and liver, both in normal animals and in those treated with glucose.

#### RESULTS OBTAINED

*Glycemia in the course of the year.* From the analysis of the data presented in figure 1, it may be seen that glycaemic values obtained by us in a total number of 119 specimens, are comprised between 30–100 mg/100 ml blood, the average being of  $66 \pm 2.8$  (21–111). Exceptions are few and insignificant (4 specimens having values above 100, and 2 below 30 mg).

Another fact is that during the year no modifications were found in relation to the activity or rest periods of animals; average values and individual variations being about the same in all seasons: in summer  $66 \pm 1.2$  (34–96); in autumn  $69 \pm 5.3$  (21–111); in winter  $61 \pm 5.3$  (38–97) and in spring  $67 \pm 2.8$  (34–96).

*Glycemia during inanition.* In figure 2 glycaemic values in the snakes studied by us are presented, in different stages of inanition. It is to be observed that in this case either, no notable modifications in connection with the degree of inanition were recorded. After 1–7 days of inanition, glycemia was  $71 \pm 5.4$  (32–109); after 7–15 days,  $64 \pm 3.1$  (35–109); while after 15–75 days,  $66 \pm 2.8$  (21–111).

*Evolution of induced glycemia.* Analysing figure 3 it may be seen that after administration of glucose (1 g/kg), an evident hyperglycemia sets in, both in activity and hibernation periods, though of short duration, with a maximum effect within the first 6 hours. Between 12–24 hours glycemia returns within normal limits.

During winter, though the animals were kept at a constant temperature, almost equal to that of the activity period, hyperglycaemic values were higher in the first 6 hours; subsequently, the return to normal was more rapid.

After a previous insulinization (100 UI/kg) of the animals (Fig. 4), a blocking of the hyperglycaemic effect of glucose was only obtained in case the hormone had been administered 24 hours previously. At 6–12 hours the effect is merely attenuated but not blocked.

*Hepatic and muscular glycogen.* Glycogen was determined in recently gathered animals (5–6 days) — lot I, and in animals in a state of prolonged inanition (40–50 days) — lot II.

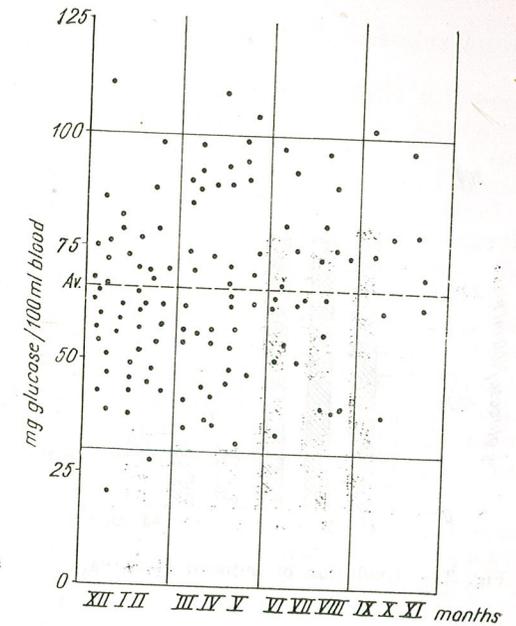


Fig. 1. — Glycemia in the course of the year.

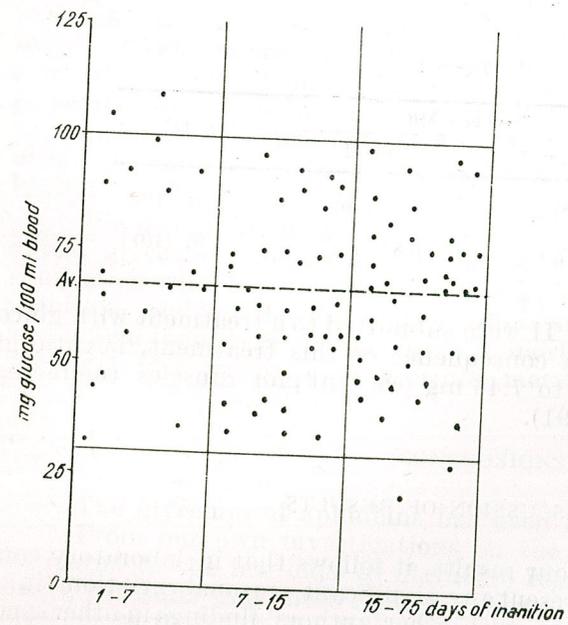


Fig. 2. — Glycemia during inanition.

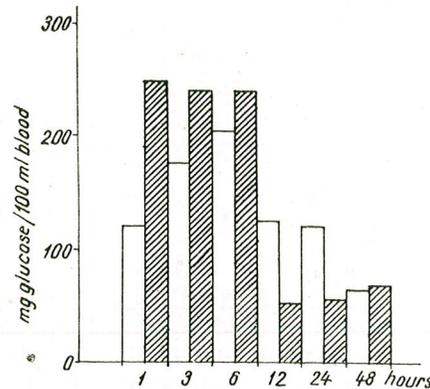


Fig. 3. — Evolution of induced glycemia.

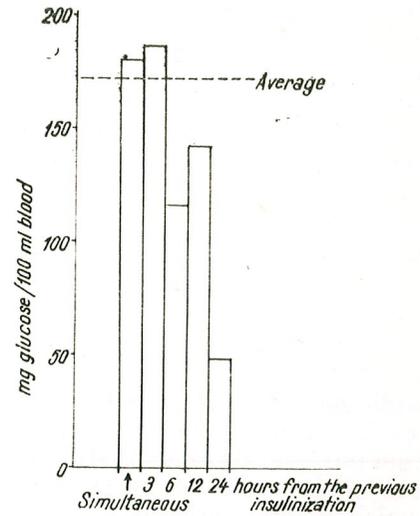


Fig. 4.—Evolution of induced glycemia in the pre-insulinized animals.

## HEPATIC AND MUSCULAR GLYCOGEN IN NATRIX

In the first lot of animals (table 1), hepatic glycogen was 3.6 mg per cent while the muscular one, 1.77 mg per cent. In animals of lot II, hepatic glycogen was 1.78 mg per cent while the muscular one 0.87 mg

Table 1

	Glycogen Mg %		Lot III
	Lot I	Lot II	
Liver	3.6 (10)	1.78 (10)	7.46 (10)
Muscle	1.77 (10)	0.87 (10)	0.91 (10)

per cent. The animals of lot II were submitted to a treatment with glucose for 5 days (1 mg/kg). As a consequence of this treatment, hepatic glycogen increased from 1.78 to 7.46 mg per cent; for muscles the increase was insignificant (0.87—0.91).

## DISCUSSION OF RESULTS

From the analysis of our results, it follows that in laboratory conditions, glycemia does not present any significant seasonal variations in the house-snake. The fact agrees with other authors' findings in other species

of aphidians such as: *Bothrops* and *Phylodyas* (quot. [8]), *Crotalus horridus* [3], and *Vipera aspis* [4].

During inanition we noticed a slight tendency towards a lowering of glycemic level, but even after a 75-day-fast, no real hypoglycemia was produced. Similar findings were made in *Vipera aspis* and *Vipera berus* [1], [10]. In *Lampropeltus getulus* Rhaney (quot. [8]) it was noticed that 58 days were necessary for a relative decrease in glycemic level.

As far as the hyperglycemic effect induced by the i.p. administration of a dose of glucose (1 g/kg) is concerned, we found that it reached a maximum level after about 6 hours, the return to normal occurring at less than 24 hours. Similar results were obtained in other species as well. Thus in *Bothrops* [9], after the administration of a 0.5 g/kg dose of glucose, glycemia rises rapidly, and after 24 hours it begins to fall. Houssay [6] has shown that in *Xenodon merremii*, after 1—3 g/kg glucose a considerable hyperglycemic effect is obtained, but in the case of normal animals the return to basal value occurs within 24 hours, while in pancreatectomized ones after 48 hours.

In pre-insulinized animals an attenuation of the hyperglycemic effect was obtained at 6 and 12 hours, while at 24 hours a total blocking of the effect was achieved. In other species of aphidians this aspect of the problem was, as far as we know, not studied. Hepatic and muscular glycogen is very low in animals kept fasting, as against non-inanitated animals. Exogenous glucose settled in considerable quantities in the liver, but not in muscles.

Examining the results shown in the present work, one finds in consequence that in aphidians there are quicker and more efficient self-regulating mechanisms than those possessed by lower reptiles [11], [12] and by other poikilothermic vertebrates. The absence of some seasonal variations (in laboratory conditions and at an approximatively constant temperature), the preservation of an almost constant glycemic level during a lengthy period of inanition and the rapid re-establishment of normal glycemia after the inducing of an intense hyperglycemia, are, according to us, conclusive arguments of the fact that glycemic self-regulating mechanisms in aphidians are more evolved than in other poikilothermic vertebrates, approaching those found in homeotherms.

We do not know the material sources which contribute to ensuring a real glycemic homeostasis in *Natrix*, but variations found by us in connection with hepatic and muscular glycogen, on the one hand during inanition, and on the other after administration of glucose, constitutes a valuable indication of the great importance of liver in maintaining glycemia and therefore of glucidic metabolism.

## CONCLUSIONS

The glycemia of aphidians has been but little studied.

From our own investigations on the glycemia of the house-snake, compared to the few data in literature regarding other species of aphidians, it results that these reptiles possess glyco-regulating mechanisms so efficient as to ensure for themselves a real glycemic homeostasis. This is

due, on the one hand, to the higher degree of development of self-regulating mechanisms, and on the other, to the metabolic activity of the liver.

## REFERENCES

1. AGID R., DUDUY R., MARTOJA M., HUBERT S. G., C. R. Acad. Sci., 1962., 252, 13, 2007—2009.
2. APOSTOL GH., St. cerc. biol. Seria biol. animală, 1962, 14, 2, 253—265.
3. CARMICHEL E. B., PETCHE P. W., J. Biol. Chem., 1945, 161, 693.
4. IZARD V., DETRAIT J., BOQUET P., Ann. Inst. Pasteur, 1961, 100, 4, 529—545.
5. LUCK J. M., KEELER L., J. Biol. Chem., 1929, 82, 703—707.
6. HOUSSAY B. A., PENHOS C. I., Acta End., 1960, 35, 656.
7. KEMP A., KITS A. M., Biochem. J., 1954, 56, 4, 646—648.
8. MILLER R. M., *Comparative Physiology of Carbohydrate Metabolism in Heterothermic Animals*, A. W. Martin, 1963, 125—146, Washington.
9. MOTELICĂ I., MATEI C., Rev. roum. Biol., Série de Zool., 1964, 9, 4, 279 — 289.
10. PRADO I. L., Rev. Canad., 1946, 5, 564.
11. VLĂDESCU C., Rev. roum. Biol., Série de Zool., 1965, 10, 1, 43—46.
12. — Rev. roum. Biol. Série de Zool., 1964, 9, 6, 413—420.
13. — Rev. roum. Biol., Série de Zool., 1965, 10, 5.

Bucharest University  
Faculty of Biology  
Chair of Animal Physiology

LA REVUE ROUMAINE DE BIOLOGIE — SÉRIE DE ZOOLOGIE — paraît 6 fois par an. Toute commande de l'étranger (fascicules ou abonnements) sera adressée à CARTIMEX, Boîte postale 134—135 Bucarest, Roumanie, ou à ses représentants à l'étranger :

ALBANIE, **Ndermarja Shtetnore e Botimeve** — Tirana ■ R. D. ALLEMANDE, **Deutscher Buch-Exp. und -Import**, GmbH, Leninstrasse 16—701 — Leipzig ■ R. F. ALLEMANDE, **Kubon & Sagner**, POB 68 — 34 Munich ; **W. E. Saarbach**, POB 1510—6, Cologne ■ AUTRICHE, **Globus Buchvertrieb**, Selzgries 16 — Vienne XX ■ BELGIQUE, **Du Monde Entier**, 5, Place St.-Jean — Bruxelles ■ R. P. de BULGARIE, **Raznoiznos**, 1, rue Tzar Assan — Sofia ■ R. P. de CHINE, **Waiwen Shudian**, POB 88 — Pékin ■ R. P. D. CORÉENNE, **Chulphanmul** — Pyong-Yang ■ CUBA, **Cubartimpex**, Calle Ermita 48 San Pedro — La Havane ■ ESPAGNE, **Libreria Herder**, Calle de Balmes 26 — Barcelone ■ ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE, **Fam Book Service**, 69 Fifth Avenue Suite 8 F — New York 10003, N.Y. ; **Continental Publications**, 111, South Mernanee Ave., St. Louis, Missouri 63105 ■ FINLANDE, **Akatemenen Kirjakauppa**, POB 128 — Helsinki ■ FRANCE, **Messageries de la Presse Parisienne**, 111, Rue Réaumur — Paris 2 ■ GRANDE BRETAGNE, **Collet's Holdings Ltd.**, Denington Industrial Estate, Wellingborough, Northants ■ HONGRIE, **Kultura**, POB 149 — Budapest 62 ■ ISRAËL, **Haiflepac Ltd.**, 11 Arlesoroff Street — Haifa ; **Lepac**, 15 Rambom Street — Tel-Aviv ■ ITALIE, **So. Co. Lib. Ri. Export-Import**, Piazza Margana 33 — Rome ■ JAPON, **Nauka Ltd.**, 2 Kanda Zimbocho, 2 Chome Kiyoda-Ku — Tokyo ■ R. P. MONGOLE, **Mongolgosknigotorg**, Ulan Bator ■ NORVEGE, **Norsk Bogimport**, POB 3267 — Osla ■ PAYS-BAS, **Meutenhoff**, Beulingstraat 2 — Amsterdam ■ POLOGNE, **Ruch**, ul. Wilcza 46 — Varsovie ■ PORTUGAL, **Libreria Buchholz**, Avda. Liberdade — Lisbonne ■ SUÈDE, **D. C. Fritze**, Fredgatan 2 — Stockholm 16 ■ SUISSE, **Pinkus & Cie**, Froschaugasse 7 — Zurich ■ TCHÉCOSLOVAQUIE, **Artia**, Ve Smeckach 30 — Prague I ■ U.R.S.S., **Mejdunarodnaia Kniga**, Moscou — G-200 ■ R. D. VIETNAM, **So Xunt Nhap, Khap Sach Bao**, Hai Ba Trung 32 — Hanoï ■ R. S. F. de YOUGOSLAVIE, **Jugoslovenska Knjiga**, Terazije 27 — Belgrade ; **Forum**, Vojvode Misica — Novisad ; **Prosveta**, Terazije 16/1 — Belgrade.

En Roumanie, vous pourrez vous abonner par les bureaux de poste, chez votre facteur ou directement par les services de presse des entreprises et institutions.

Une livraison prompte vous sera assurée.

NOUS VOUS PRIONS DE RENOUELER VOTRE ABONNEMENT POUR L'ANNÉE 1967

## AVIS AUX AUTEURS

La « Revue Roumaine de Biologie — Série de Zoologie » publie des articles originaux d'un haut niveau scientifique de tous les domaines de la biologie animale : morphologie, physiologie, génétique, écologie, taxonomie, etc. Les sommaires des revues sont complétés par d'autres rubriques comme : 1. La vie scientifique, qui traite des manifestations scientifiques du domaine de la biologie ; symposiums, conseils, etc. 2. Comptes rendus des travaux de spécialité parus en Roumanie.

Les auteurs sont priés d'envoyer leurs articles, notes et comptes rendus dactylographiés à double intervalle (31 lignes par page), en quatre exemplaires.

Les tableaux et l'explication des figures seront dactylographiés sur pages séparées et les diagrammes exécutés à l'encre de Chine noire, sur du papier calque.

Les tableaux et les illustrations seront numérotés avec des chiffres arabes. La répétition des mêmes données dans le texte, les tableaux et les graphiques seront évités. Les références bibliographiques citées par ordre alphabétique des auteurs comporteront le nom de l'auteur, l'initiale, le titre de la revue, abrégé conformément aux usances internationales, l'année, le tome, le numéro, la page. Les travaux seront accompagnés d'un court résumé, de maximum 10 lignes. Les textes des travaux ne doivent pas dépasser 15 pages dactylographiées (y compris les tableaux, la bibliographie et l'explication des figures).

Les auteurs ont droit à 50 tirés à part gratuits.

La responsabilité concernant le contenu des articles revient exclusivement aux auteurs.

La correspondance relative aux manuscrits, à l'échange de publications, etc. sera adressée au Comité de rédaction, 296, Splaiul Independenței, Bucarest.