

L'OVOCÉNÈSE CHEZ *PHASCOLOSO SOMA VULGARE*IV. ÉTUDE CHROMATOGRAPHIQUE DES SUCRES DU PLASMA,  
ACTION DE DIFFÉRENTS SUBSTRATS ET DU MALONATE  
SUR LA RESPIRATION DE L'OVOCYTE

PIERRE H. GONSE\*

*Station Biologique de Roscoff, Finistère (France)*

Nos observations sur les ovocytes de *Phascolosoma vulgare* (Blainv.) ont porté sensiblement sur tous les stades de la croissance et de la différenciation de ces cellules dont le volume passe de 2 à  $200 \cdot 10^{-6} \mu\text{l}$ . On a mis en évidence des variations de la respiration exogène, dans le plasma de l'animal, qui sont en rapport avec des changements de l'aspect cytologique des cellules ou de leur vitesse de croissance<sup>1</sup>. Il semble y avoir une corrélation entre les fortes intensités respiratoires et la synthèse de protéines, associée à une colorabilité accrue par la pyronine. La respiration endogène a été étudiée en plaçant les cellules dans de l'eau de mer pure et on a mis ainsi en évidence une relation nouvelle, de type linéaire, qui lie cette variable à la respiration exogène. Enfin on a montré que le passage des ovocytes dans l'eau de mer entraîne la disparition irréversible, pendant la durée des expériences, des pics de la respiration exogène. On a donc reconnu l'existence d'une respiration exogène sensible à l'eau de mer (extra-respiration), d'une respiration exogène non sensible (respiration fondamentale) et de la respiration endogène dont l'intensité est liée à celle de la respiration exogène totale.

Il nous a paru intéressant de chercher à analyser qualitativement les systèmes enzymatiques qui entrent en jeu dans ces différents types d'oxydations. Cette étude a été faite en plaçant les cellules dans de l'eau de mer additionnée de différents substrats, c'est à dire dans des conditions telles que seul le métabolisme stable en eau de mer soit actif. On a étudié d'autre part l'effet de l'acide malonique sur les trois niveaux d'oxydation: normal, exogène insensible à l'eau de mer et endogène. Au préalable, afin d'orienter le choix des substrats, une analyse chromatographique des sucres du plasma a été effectuée.

## MÉTHODES

*Etude chromatographique*

Les animaux ont été récoltés au cours de la saison de reproduction. Les liquides coelomiques, après avoir été examinés individuellement au microscope, sont groupés selon le sexe de l'animal dans des tubes de centrifugeuse refroidis dans un mélange de glace et de sel. La récolte terminée, on centrifuge à 3,500 tours, pendant 20 minutes et à  $0^\circ\text{C}$ . Le plasma est alors recueilli et lyophilisé ou dialysé.

FLORKIN<sup>2</sup>, WILBER<sup>3</sup> ont montré que ce plasma renferme 0.3 à 0.1 mg/ml de substances réductrices chez *Sipunculus nudus* et *Phascolosoma gouldii*. Il y aurait 0.5 mg/ml de protéines

\* Adresse actuelle: Laboratoire de Chimie biologique, Faculté des Sciences, Paris.

Bibliographie p. 531.

coagulables par la chaleur en milieu acide chez le siphoncle<sup>4</sup>. Le plasma, qui est isotonique à l'eau de mer, renferme donc très peu de matières organiques et sa composition saline élémentaire est probablement assez voisine de celle de l'eau de mer<sup>5</sup>.

Afin d'éliminer les sels, 10 ou 20 ml de plasma frais ou reconstitué à partir de 500 mg d'un échantillon lyophilisé sont dialysés à 5° C en tube de cellophane contre 3 volumes d'eau distillée (3 x 800 ml) pendant 48 heures. La dialyse est prolongée jusqu'à l'absence de réaction au  $\text{AgNO}_3$ . Le dialysat est centrifugé, le surnageant est étudié à part; le culot de centrifugation est repris par  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.3 N et hydrolysé au bain marie pendant 8 heures en tube fermé. On effectue ensuite une neutralisation au carbonate de plomb, le précipité étant éliminé par centrifugation et lavé à plusieurs reprises. La solution est concentrée au bain marie et chromatographiée.

Les chromatogrammes descendants ont été exécutés sur papier Whatman No. 1 (40 x 15 cm) dans deux systèmes de solvants: butanol-acide acétique-eau (4-1-5) et s-collidine saturée d'eau. Nous avons suivi les indications données par PARTRIDGE<sup>6</sup>. La s-collidine doit être purifiée avant son utilisation comme solvant par la méthode de Martin<sup>6</sup>. Les bandes destinées à être développées au butanol sont découpée en dents de scie à leur bord inférieur et on laisse le solvant s'écouler pour obtenir de meilleures séparations. Sur chaque bande on place 2 témoins: du glucose et un sucre à migration plus rapide comme le rhamnose. Les valeurs de référence sont calculées en  $R_F (G) = \frac{\text{migration de } X}{\text{migration du glucose}}$ . Des tests ont été faits avec les substances suivantes: méso-inositol, acide ascorbique, acide galacturonique, glucurone, glucosamine (HCl), galactose, glucose, mannose, fructose, rhamnose, arabinose (Hoffmann-Laroche). Le fucose a été préparé à partir de l'algue *A scophyllum nodosum*<sup>7</sup>. Les migrations du ribose et du désoxyribose ont été déterminées avec des hydrolysats des acides nucléiques correspondants.

On a employé les révélateurs suivants: (I)  $\text{AgNO}_3$  dans l'acétone et NaOH dans l'éthanol<sup>8</sup>. Ce réactif est le plus sensible de tous ceux essayés, les sucres sont colorés en brun sauf le désoxyribose et les nucléotides qui sont roses. (II) Pour les aldopentoses (roses), aldohexoses et méthylpentoses (bruns), le phthalate acide d'aniline<sup>9</sup>. (III) Pour les sucres aminés, le réactif d'ELSON et MORGAN<sup>8,10</sup>. (IV) Les acides aminés et les sucres aminés non acétylés sont colorés par la nynhydrine à 1 % dans le butanol. (V) La benzidine<sup>11</sup> donne des colorations très variées mais est peu sensible. (VI) la résorcine<sup>12</sup> a été utilisée pour vérifier l'absence de fructose. Pour le travail courant on dispose, outre le témoin, 4 spots de la solution à étudier; après développement la feuille est découpée en bandes qui sont vaporisées chacune avec l'un des réactifs (I, II, III ou IV). Les résultats, exprimées en  $R_F (G)$ , obtenus dans chacun des solvants sont portés sur un diagramme à 2 dimensions (Fig. 1).

#### Mesures respiratoires

La technique du micro-ludion a été utilisée dans les conditions déjà décrites<sup>1,13</sup>. On a étudié l'effet sur la respiration des substrats suivants: galactose, glucose, mannose, pyruvate de Na (Hoffmann-Laroche), ribose, fucose (Light), succinate de Na (B.D.H.), acide glutamique (Eastman Kodak). Les solutions mères ont été préparées dans l'eau bidistillée ou dans l'eau de mer, neutralisées éventuellement par du bicarbonate de Na, et diluées de façon à obtenir des solutions finales 0.01 à 0.02 M en substrat, dont la molarité totale ne diffère pas de plus de 1 % de celle de l'eau de mer pure.

Les cellules après avoir été triées et lavées dans l'eau de mer pure séjournent pendant 2 à 3 heures dans la solution à étudier et étaient relavées et transférées dans de la solution fraîche juste avant le remplissage du ludion.

Les solutions de malonate sont préparées dans l'eau bidistillée à partir d'acide malonique (Light) et de bicarbonate de Na et sont 0.51 M en malonate. Suivant les cas cette solution est diluée par l'eau de mer ou ajoutée au plasma à raison de 10 à 20  $\mu\text{l}$  pour 500  $\mu\text{l}$  (pipettes de Carlsberg), soit une molarité finale en malonate de 0.01 à 0.02. Dans les expériences effectuées avec un mélange de plasma et de malonate, les cellules n'ont été mises en présence de malonate qu'au moment du remplissage du ludion.

Au cours de chaque expérience on dispose d'un ludion témoin contenant des cellules de taille voisine placées dans de l'eau de mer ou du plasma purs.

#### RÉSULTATS

##### Analyse chromatographique

Le plasma ayant été au préalable dialysé contre de l'eau distillée, les sucres que nous avons mis en évidence sont ceux qui sont liés au protéines ainsi précipitées. Le surnageant a cependant été chromatographié et nous y avons trouvé après hydrolyse des quantités faibles de glucose. Les sucres et composés voisins déterminés dans le

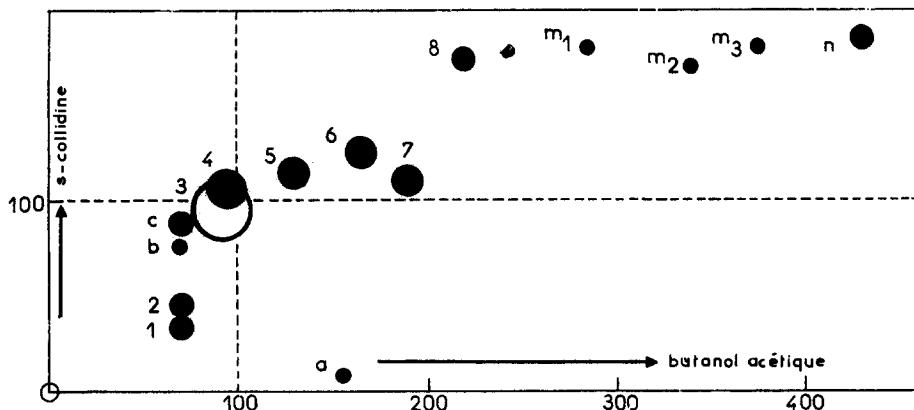


Fig. 1. Chromatographie des sucres et composés voisins liés aux protéines du plasma. Valeurs de référence rapportées à celle du glucose = 100. a - N-acétyl glucosamine, b - galactosamine, c - glucosamine. 1 - acide galacturonique, 2 - acide glycuronique, 3 - galactose, 4 - glucose, 5 - mannose, 6 - ribose, 7 - fucose, 8 - désoxyribose.  $m_1$ ,  $m_2$ ,  $m_3$ , n: produits d'hydrolyse incomplète de nucléoprotéines, nucléotides.

précipité de dialyse après hydrolyse sont groupés dans un diagramme où chaque axe de coordonnée porte les valeurs de référence dans un des deux systèmes de solvants utilisés (Fig. 1).

A partir de volumes égaux de plasma de mâle et de femelle, nous n'avons pas observé de différences importantes qualitatives ni même quantitatives d'après la surface des taches. On note seulement une quantité plus grande de désoxyribose et de nucléotides chez les mâles. Les sucres mis en évidence de façon générale sont le glucose, le galactose, le mannose, le ribose et le fucose. On a trouvé également des sucres aminés et des acides uroniques.

#### *Consommation d'oxygène*

Avant d'analyser les résultats obtenus il convient de faire un certain nombre de remarques sur leur portée et leur signification.

Toutes les mesures ont été faites sur des cellules normales, non homogénéisées; elles représentent donc le résultat d'effets globaux dans lesquels peuvent intervenir des phénomènes de perméabilité différentielle. Tous les substrats ont été testés isolément; les cellules se trouvaient donc dans des conditions assez anormales par rapport au plasma qui est un milieu complexe et équilibré. Du point de vue cinétique, on a cherché à éviter toute influence des concentrations ou du temps afin d'obtenir des effets maximum. Les cellules étaient donc placées au moins 3 heures avant les premières lectures dans des solutions 0.02 M des substrats à essayer.

Nous avons constaté au cours de certaines de ces expériences une stabilité assez médiocre de la respiration. D'une façon générale la consommation d'oxygène n'est stable que si elle est proche d'un des 3 niveaux précédemment reconnus: respiration endogène, respiration exogène non sensible à l'eau de mer ou respiration exogène totale. Ces irrégularités sont dues pour une part à des facteurs saisonniers et les mesures ne sont bien reproductibles que pendant la pleine période de croissance des ovocytes (Avril à Juillet).

Pour simplifier l'exposé des résultats nous avons cru bon d'adopter une certaine terminologie caractérisant le fonctionnement physiologique des ovocytes dans les diverses conditions expérimentales. On parlera donc de métabolisme endogène, de métabolisme fondamental, et d'extra-métabolisme. Le métabolisme endogène correspond à la respiration dans l'eau de mer pure, le métabolisme fondamental à la respiration dite fondamentale obtenue dans du plasma après traitement des cellules par l'eau de mer, l'extra-métabolisme aux deux pics respiratoires, c'est à dire à la différence entre la respiration exogène maximum dans du plasma et la respiration fondamentale.

#### *Effet du malonate sur la respiration*

Ces expériences ont été faites dans les conditions qui permettent de distinguer les 3 types de métabolisme.

Dans le plasma pur, sans traitement préalable des cellules par l'eau de mer, le malonate a un effet activateur très net au cours de la première phase à forte respiration exogène (Fig. 2a). L'examen des résultats obtenus dans les mêmes conditions mais après traitement par l'eau de mer (Fig. 2b) montre que cet effet correspond quantitativement à un accroissement de la respiration fondamentale.

Dans les ovocytes de taille moyenne, l'effet du malonate est nul dans les conditions normales (Fig. 2a) et variable après traitement par l'eau de mer (Fig. 2b). Ces variations quand elles ont été observées au cours d'une même expérience sont traduites par des flèches sur le diagramme. Elles vont toujours dans le sens d'une diminution de la respiration contrairement à ce que l'on observe dans les cellules de volume inférieur à  $50 \cdot 10^{-5} \mu\text{l}$ . Cette inhibition possible survient généralement 2 heures après l'addition de malonate et persiste 30 à 90 minutes, après quoi la respiration remonte spontanément et se rétablit à son niveau normal. Les ovocytes n'ont donc été mis en présence de malonate qu'au dernier moment, juste avant le remplissage du ludion. Il est bien évident que dans la cellule complète un certain nombre de compensations, telles que la synthèse de fumarate, peuvent s'effectuer qui rétablissent plus ou moins rapidement le taux des oxydations à son niveau normal.

Au cours de la dernière phase à respiration exogène forte les résultats sont irréguliers (Fig. 2a) et ne permettent pas de formuler une conclusion précise. A ce stade ils sont, en outre, peu significatifs en raison de l'écart assez faible entre les différents niveaux respiratoires.

Aux stades de croissance antérieurs, l'interprétation n'est pas moins délicate car l'on constate que le malonate en solution dans l'eau de mer a un effet considérable sur la respiration (Fig. 2c), soit qu'il active la respiration endogène, soit qu'il agisse comme substrat du métabolisme exogène fondamental. Cette dernière hypothèse n'est pas invraisemblable car l'ovocyte oxyde l'acide succinique à un taux très voisin de celui de l'acide malonique (Fig. 3a). D'autre part la respiration dans l'eau de mer en présence de malonate  $0.02 M$  est stable pendant toute la durée des expériences. Les résultats ne sont pas différents si les ovocytes sont placés dans la solution de malonate dans l'eau de mer au moment du remplissage du ludion ou 2 ou 3 heures auparavant. Ces faits sont à rapprocher des expériences effectuées sur les mammifères dont les tissus, au contraire du plasma, seraient capables de décarboxyler l'acide malonique<sup>14</sup>. L'administration d'acétate, de lactate ou de malonate marqués entraîne l'excrétion de succinate marqué chez le rat<sup>15</sup>. Il se pourrait donc que dans les ovocytes,

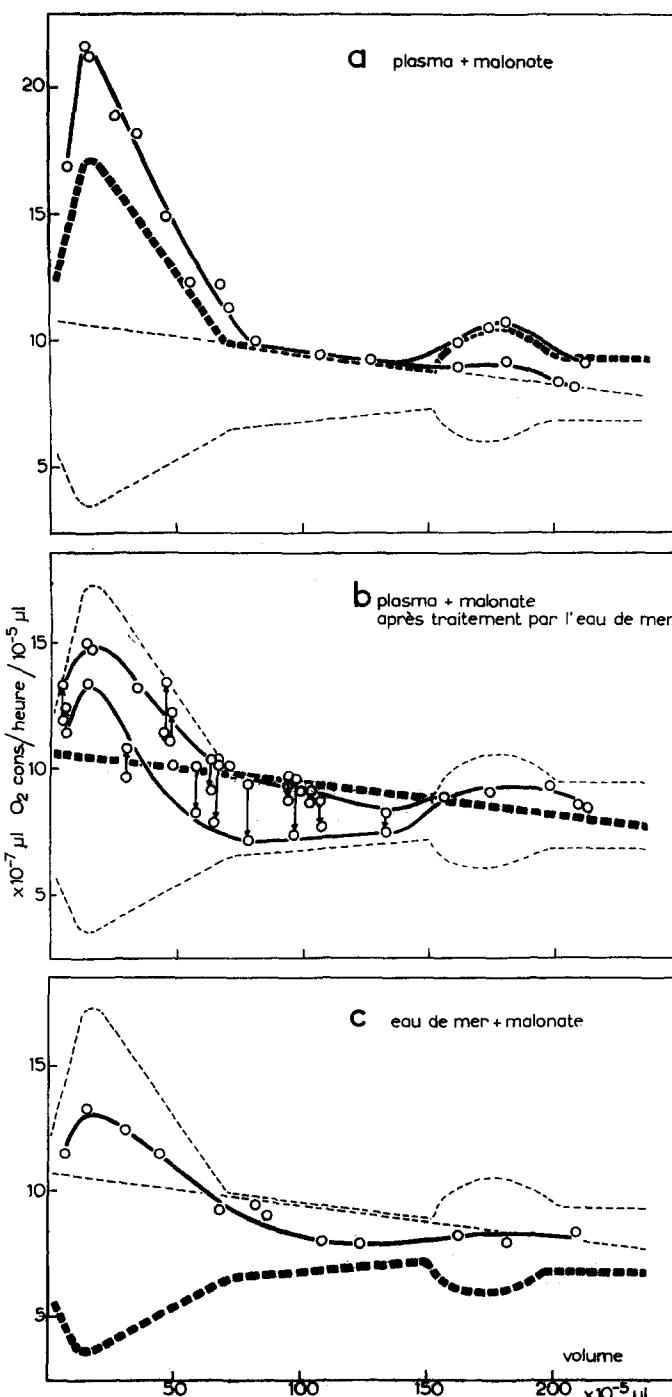


Fig. 2. Respiration des ovocytes en présence de malonate ( $0.02 M$ ), dans différentes conditions. Les courbes en tirets indiquent les niveaux respiratoires standards; soient, dans l'ordre croissant; endogène, fondamental et exogène total. En tirets épais: le niveau témoin correspondant à un effet nul du malonate sur la respiration, dans les conditions expérimentales adoptées. Un changement de la consommation d' $\text{O}_2$  se produisant au cours d'une expérience est indiqué par une flèche joignant les valeurs dans l'ordre où elles ont été enregistrées.

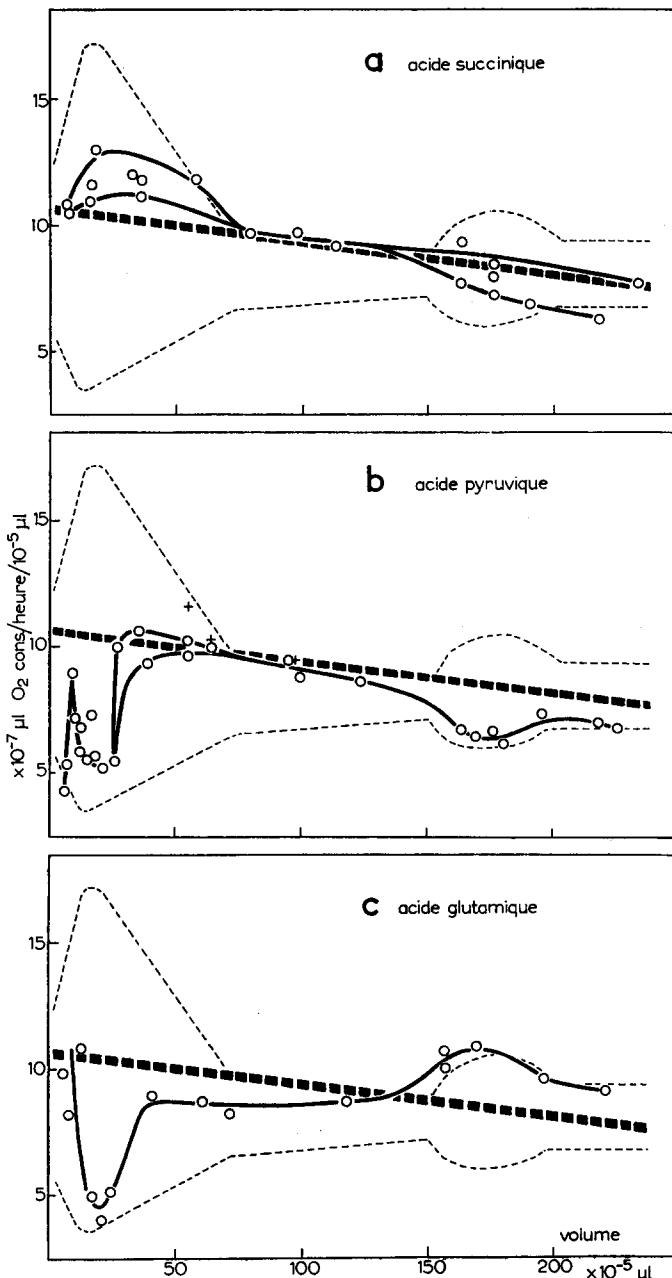


Fig. 3. Respiration des ovocytes en présence d'intermédiaires ( $0.02 M$ ) en solution dans l'eau de mer. Les courbes en tirets indiquent les niveaux respiratoires standards; soient, dans l'ordre croissant: endogène, fondamental et exogène total. En tirets épais: le niveau (respiration fondamentale) qui est atteint dans le plasma dilué par de l'eau de mer. Fig. 3b: les croix indiquent le résultat d'expériences effectuées en présence de pyruvate et de malonate en solution dans l'eau de mer.

sinon l'acide malonique, du moins ses produits de transformation soient oxydés.

L'effet inhibiteur, encore que non certain ici, s'exercerait sur le métabolisme fondamental lorsque celui-ci est seul en cause, c'est à dire pendant la période intermédiaire à respiration exogène faible (Fig. 2b). Le renversement de l'effet du malonate selon le stade de croissance des cellules est manifeste sur le diagramme 2b. En comparant les diagrammes 2b et 2c on constate que quantitativement tout se passe comme si le malonate inhibait entièrement la respiration fondamentale pour lui substituer une respiration due à la seule oxydation du malonate ou de ses dérivés. Ceci expliquerait le caractère rapidement réversible de l'inhibition ou son absence dans les cellules de taille moyenne (Fig. 2b).

Dans l'une ou l'autre hypothèse: que l'on considère la respiration fondamentale comme activée dans les petits et les gros ovocytes et inhibée dans ceux de taille moyenne (Fig. 2b), ou bien comme inhibée à tous les stades pour être remplacée par l'oxydation du malonate (Fig. 2c), il se dégage une conclusion d'ensemble de ces mesures: c'est une nette opposition entre les phases à respiration exogène élevée et celle à respiration exogène faible. Ceci semble indiquer que le développement momentané de l'extra-métabolisme, auquel correspondent les pics de respiration exogène, retentit sur le métabolisme fondamental et modifie ses caractéristiques.

#### *Respiration en présence des acides succinique, pyruvique, glutamique*

Dans leur ensemble ces trois substrats et en particulier l'acide succinique sont à même de rétablir la respiration fondamentale à son niveau normal (Fig. 3). Comme nous avons précédemment noté l'indication d'un effet inhibiteur du malonate sur cette respiration à certains stades, il semblerait que le cycle de Krebs ou un système comparable soit présent dans les ovocytes. La respiration fondamentale serait donc liée à son fonctionnement.

L'acide succinique paraît saturer ce système de façon normale et rétablit la respiration fondamentale à son niveau maximum à tous les stades (Fig. 3a).

Les résultats obtenus avec les acides pyruvique et glutamique sont très différents et montrent que le système enzymatique en cause subit des changements qualitatifs en rapport avec le développement de l'extra-respiration (Fig. 3b et c). Dans les cellules de  $15 \text{ à } 20 \cdot 10^{-5} \mu\text{l}$  l'oxydation de ces deux composés cesse presque entièrement; elle se rétablit ensuite au niveau maximum; enfin dans les ovocytes de stade 3 le pyruvate cesse à nouveau d'être oxydé alors que l'acide glutamique, au contraire, rétablit la respiration exogène totale malgré les conditions expérimentales défavorables (Fig. 3c). A ce dernier stade l'acide glutamique pourrait donc être un intermédiaire, dans la chaîne des réactions de l'extra-métabolisme, se situant en deçà de l'étape inhibée par le lavage à l'eau de mer.

Ces changements très marqués dans la capacité d'oxydation du pyruvate et du glutamate rappellent les variations qui ont été observées en présence de malonate, surtout lorsque l'on compare les effets d'une de ces substances pour les différents stades de croissance. D'autre part, au cours d'un même stade, on observe l'existence d'antagonismes: c'est ainsi que pendant la première phase à respiration exogène forte, la respiration fondamentale dépasse la normale en présence de succinate et de malonate (Fig. 3a, 2b, 2c) tandis que l'oxydation du pyruvate et du glutamate diminue considérablement (Fig. 3b, 3c).

Signalons ici que l'acétate de Na a été testé en solution dans l'eau de mer sui-

des cellules de 7 à  $46 \cdot 10^{-5} \mu\text{l}$  sans aucun résultat positif. D'autre part trois expériences ont été effectuées en présence de pyruvate et de malonate sans que l'on observe un résultat différent de celui qui avait été obtenu en présence de pyruvate seul ou de plasma additionné de malonate (Fig. 3b).

#### Respiration en présence des hexoses et des pentoses du plasma coelomique

En présence de glucose, galactose, mannose, ribose et fucose en solution  $0.02 M$  dans l'eau de mer la respiration n'est pas significativement différente de la respiration endogène (Fig. 4a et b). Ces sucres ne seraient donc pas oxydés normalement par l'ovocyte à moins que leur oxydation ne soit à l'origine de l'extra-respiration dont on sait qu'elle est supprimée après un lavage par l'eau de mer.

La sélectivité très marquée de ce phénomène d'inhibition nous a déjà conduit à supposer qu'il était d'ordre enzymatique. Il semble assez vraisemblable, en fonction de ces dernières expériences, qu'il y ait inhibition d'une ou plusieurs des réactions qui conditionnent le transport ou la pénétration des sucres dans la cellule. On sait que c'est exclusivement au cours des stades à forte respiration exogène que des poly-

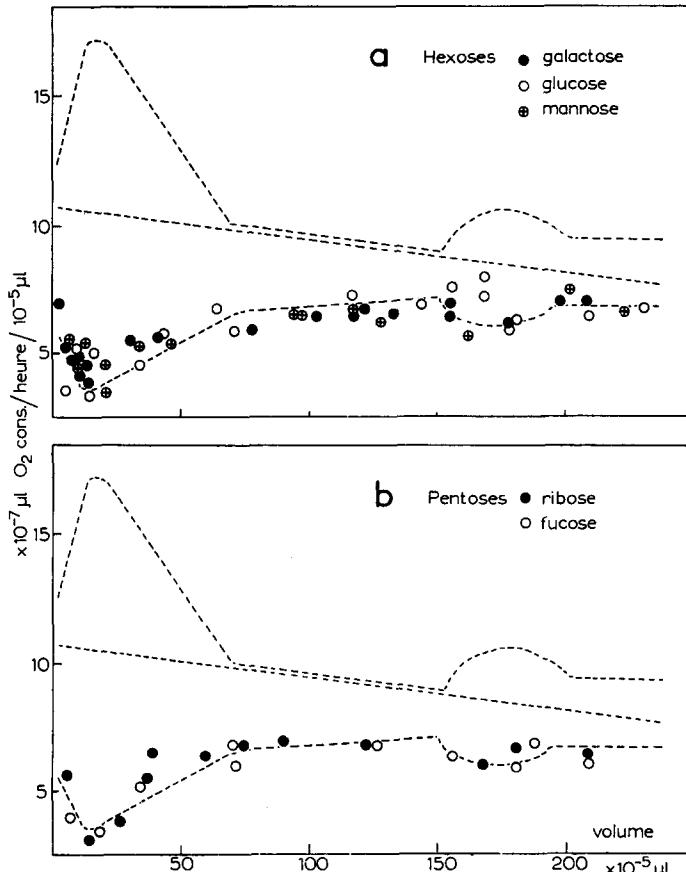


Fig. 4. Respiration en présence de sucres ( $0.02 M$ ) en solution dans l'eau de mer. Les courbes en tirets indiquent les niveaux respiratoires standards; soient, dans l'ordre croissant: endogène, fondamental et exogène total.

saccharides s'accumulent dans la cellule. Dans les plus petits ovocytes le galactogène apparaît au niveau des mitochondries, à la périphérie du cytoplasme. Pendant la deuxième phase à respiration exogène accrue, du glycogène, à l'état diffus, est localisé autour du noyau, à la surface de quelques amas mitochondriaux et par places contre la membrane cellulaire. On a trouvé du galactose dans les ovocytes après hydrolyse. Il paraît donc assez logique d'attribuer aux ovocytes la possibilité d'oxyder ces sucres au cours des stades en question.

On a vu d'autre part que la pénétration des intermédiaires comme le succinate, le pyruvate et le glutamate n'est pas perturbée par l'eau de mer. Une situation analogue s'observe dans les cellules de levure après l'action de l'ion uranyl; la pénétration du glucose, du mannose, du fructose et du galactose dans une souche adaptée, est bloquée mais la respiration en présence d'acétate, de pyruvate et de lactate n'est pas modifiée. Dans la levure de nombreux facteurs contrôlent la perméabilité aux hexoses: l'hexokinase, l'adénosine triphosphate, des cations bivalents, l'orthophosphate. Le résultat serait la phosphorylation des hexoses et leur entrée dans le métabolisme général<sup>16</sup>. Pour les hématies on a proposé l'existence d'un transporteur se combinant avec les sucres pendant la traversée de la membrane<sup>17</sup>. Dans les œufs d'invertébrés les résultats obtenus jusqu'à présent sont en faveur d'un mécanisme assez analogue à celui proposé pour la levure, avec un rôle important dévolu aux composés phosphorylés<sup>18</sup>.

Les ovocytes de phascolosome semblent, en tout cas, posséder un système bien défini, enzymatique ou non, qui est sensible à certains ions de l'eau de mer. D'après nos diverses observations il paraît raisonnable de considérer que cette sensibilité se situe à la surface de la cellule et que l'effet inhibiteur consiste en une inactivation ou un déplacement d'éléments essentiels à la pénétration des sucres. Il se peut enfin qu'il y ait un lien entre ce phénomène et l'activation des ovocytes que déclenche l'eau de mer; ce lien se placerait au niveau du cortex cellulaire qui contrôle la perméabilité au sucres et par là le métabolisme général de l'ovocyte.

#### CONCLUSION

Cette série d'expériences a été entreprise pour essayer de définir qualitativement les trois systèmes oxydatifs mis en évidence précédemment dans les ovocytes. Les résultats obtenus sont généralement assez nets mais l'interprétation d'ensemble n'en est pas moins délicate. Nous essayerons cependant de proposer quelques conclusions préliminaires après avoir comparé les capacités oxydatives des ovocytes à faible et à forte respiration exogène.

Dans les cellules de taille moyenne on sait que le métabolisme fondamental est seul actif. Or la respiration exogène peut être rétablie entièrement par l'acide succinique, l'acide pyruvique et, quoique à un degré moindre, par l'acide glutamique. Le malonate paraît avoir dans certaines conditions un effet inhibiteur. Le métabolisme oxydatif fondamental semble donc avoir certaines caractéristiques du cycle de Krebs. Ceci n'est vrai, toutefois, que dans les cellules de taille moyenne et si nous prenons les résultats obtenus dans celles-ci comme terme de comparaison, nous constatons que dans les petits et les gros ovocytes, lorsque l'extra-respiration se développe, les capacités du métabolisme fondamental sont très différentes. Dans les cellules de  $20 \cdot 10^{-5} \mu\text{l}$ , par exemple, l'acide succinique est préférentiellement oxydé alors que

les acides pyruvique et glutamique ne le sont que très peu. Il faut noter, cependant, que la respiration liée au fonctionnement du métabolisme fondamental est sensiblement constante quelle que soit la taille des cellules ( $10$  à  $8 \cdot 10^{-7} \mu\text{l O}_2$ ); ce n'est donc pas l'activité globale du système enzymatique qui varie mais seulement son degré d'adaptation momentanée à l'oxydation de tel ou tel intermédiaire.

L'extra-métabolisme respiratoire pourrait correspondre à l'oxydation de produits de transformation des sucres. Nous admettons, en effet, que c'est la perméabilité aux hexoses ou aux pentoses qui est supprimée par le contact avec l'eau de mer, ce qui a pour effet d'annuler l'activité de l'extra-métabolisme.

Dans un article précédent<sup>1</sup>, nous avons déjà mis en évidence un antagonisme entre la respiration exogène totale de la cellule et sa respiration endogène. Ce phénomène nous semblait lié à l'un des mécanismes fondamentaux par lesquels ces cellules adaptent momentanément leur capacité globale d'oxydation soit aux substrats exogènes soit aux substrats endogènes. Mais, d'après ces dernières observations, il semble que, à l'intérieur de cet antagonisme général qui affecte probablement les

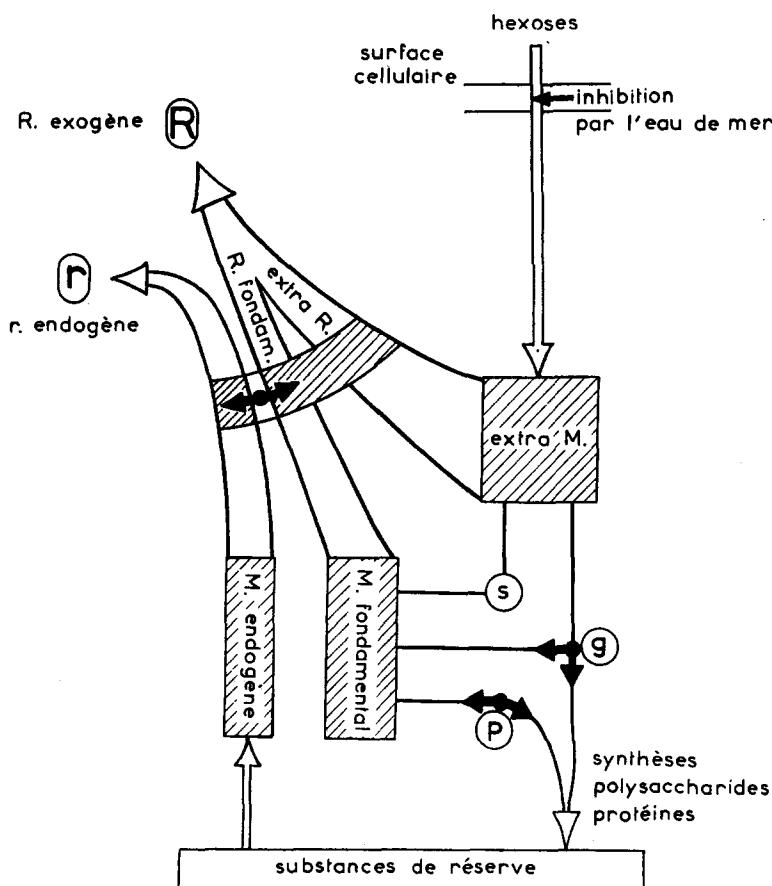


Fig. 5. Organisation possible du métabolisme respiratoire de l'ovocyte de *Phascolosoma*. s – succinate, g – glutamate, p – pyruvate. M – métabolisme, R, r – respiration. Les flèches opposées indiquent des antagonismes. Zones hachurées: systèmes enzymatiques.

termes ultimes des oxydations, tels que transport d'hydrogène ou d'électrons, il se manifeste une série d'autres antagonismes au niveau cette fois des intermédiaires du métabolisme. Cette notion n'est pas sans rappeler les résultats de BÁNHIDI ET KAVANAU<sup>19</sup>. Ces auteurs ont mis en évidence, au cours du développement de *Para-centrotus lividus*, des changements cycliques du taux de panthoténate libre qui évolue parallèlement à celui des acides aminés liés aux protéines et en opposition avec celui des acides aminés libres. Ces variations synchrones sont en rapport avec des phases successives de synthèse et de dégradation dans la cellule.

Bien que d'un tout autre ordre, les résultats obtenus sur la respiration des ovocytes de phascolosome suggèrent un tableau d'ensemble assez analogue, conforme, par ailleurs, à certaines des conceptions de LINDBERG ET ERNSTER<sup>20</sup>. Les antagonismes que nous avons relevés entre l'oxydation de différents substrats impliquent l'existence de réactions communes au cours de leur métabolisme. C'est à leur niveau que se produirait une compétition entre l'oxydation complète de ces intermédiaires et leur utilisation pour des synthèses. En fait la synthèse des protéines est vraisemblablement intense au moment où le pyruvate et le glutamate cessent d'être oxydés. Le schéma que nous proposons est destiné à grouper et à rendre plus claires ces quelques conclusions et hypothèses concernant le métabolisme des ovocytes de phascolosome au cours de leur croissance.

#### REMERCIEMENTS

J'exprime toute ma gratitude à Mr. le Professeur FROMAGEOT pour son appui au cours de ce travail. Je remercie pour leurs conseils et l'aide qu'ils m'ont apportée: Mme CHAIX, MM les Professeurs WURMSER, FAURÉ-FREMIET et DRACH. Beaucoup de ces expériences sont inspirées des discussions que j'ai eues avec Mr. le Professeur P. E. LINDAHL, le Dr. E. ZEUTHEN, le Dr. B. SWEDMARK auxquels j'exprime ma reconnaissance. Mr. le Professeur BOCQUET a bien voulu me guider pour le traitement biométrique. Enfin je remercie Mr. le Professeur TESSIER de son accueil à la Station Biologique et tous ceux qui, au laboratoire, ont amicalement aidé à la réalisation de ce travail.

Ce travail a bénéficié de subventions du Centre National de la Recherche Scientifique et du Centre National de Coordination des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation.

#### RÉSUMÉ

Dans le plasma coelomique de *Phascolosoma vulgare* on a caractérisé, par chromatographie, les substances suivantes: galactose, glucose, mannose, ribose, fucose, désoxyribose, acides glycuronique et galacturonique, des sucres aminés et plusieurs nucléotides.

On a cherché à définir les différents niveaux d'oxydation dans l'ovocyte en cours de croissance. La respiration a été mesurée en présence des hexoses et pentoses du plasma, de succinate, pyruvate, glutamate. On a étudié l'effet du malonate aux trois niveaux respiratoires.

L'extra-respiration (pics de la respiration) serait liée au métabolisme des hexoses ou des pentoses. Le traitement par l'eau de mer l'inhiberait en supprimant la perméabilité vis à vis de ces composés. La respiration fondamentale (non sensible à l'eau de mer), sous sa forme normale, correspond à l'oxydation du succinate, du pyruvate et du glutamate, elle paraît être inhibée par le malonate.

A l'intérieur de l'antagonisme entre oxydations exogènes et endogènes, il y a compétition au niveau de l'utilisation des intermédiaires. Dans les cellules de taille moyenne, où n'apparaît

que la respiration fondamentale, le cycle de Krebs fonctionnerait normalement. Aux stades où il y a une extra-respiration le métabolisme fondamental est profondément modifié: le pyruvate cesse d'être oxydé, le malonate devient un activateur. Seul le succinate est oxydé à une intensité à peu près égale à tous les stades.

### SUMMARY

By chromatography the following compounds have been determined in the coelomic plasma of *Phascolosoma vulgare*: galactose, glucose, mannose, ribose, fucose, desoxyribose, glycuronic and galacturonic acids, amino-sugars and several nucleotides.

In an attempt to define the different levels of oxidation in the growing oöcyte, the respiration has been measured in the presence of the hexoses and pentoses of the plasma, succinate, pyruvate, and glutamate. The effect of malonate on the three respiratory levels has been studied.

The extra-respiration (peaks of respiration) seems to be coupled with the metabolism of hexoses or pentoses. It is inhibited by treatment with sea water, owing to loss of permeability to these compounds. The fundamental respiration (unaffected by sea water), in its normal state, is correlated with the oxidation of succinate, pyruvate, glutamate. It seems to be inhibited by malonate.

In the antagonism between endogenous and exogenous oxidations, there is competition in the utilization of intermediates. In medium sized cells, with only fundamental respiration, the Krebs cycle functions normally. When there is extra-respiration, the fundamental metabolism is strongly modified: pyruvate ceases to be oxidized, malonate behaves like an activator. Only succinate is oxidized with about the same intensity at all stages.

### BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> P. H. GONSE, *Biochim. Biophys. Acta*, 24 (1957) 267.
- <sup>2</sup> M. FLORKIN, *Compt. rend. soc. biol.*, 123 (1936) 1022.
- <sup>3</sup> C. G. WILBER, *J. Biol. Chem.*, 173 (1948) 141.
- <sup>4</sup> A. DAMBOVICEANU, *Compt. rend. soc. biol.*, 95 (1926) 115.
- <sup>5</sup> W. H. COLE, *J. Gen. Physiol.*, 23 (1940) 575.
- <sup>6</sup> S. M. PARTRIDGE, *Biochem. J.*, 42 (1948) 238.
- <sup>7</sup> V. GRIGNARD, G. DUPONT ET R. LOCQUIN, *Traité de Chimie Organique*, Vol. 8, Masson & Cie., Paris, 1947, p. 454.
- <sup>8</sup> W. E. TREVELYAN, D. P. PROCTER ET J. S. HARRISON, *Nature*, 166 (1950) 444.
- <sup>9</sup> S. M. PARTRIDGE, *Nature*, 164 (1949) 443.
- <sup>10</sup> D. AMINOFF ET W. T. J. MORGAN, *Nature*, 162 (1948) 579.
- <sup>11</sup> R. H. HORROCKS, *Nature*, 164 (1949) 444.
- <sup>12</sup> W. G. C. FORSYTH, *Nature*, 161 (1948) 239.
- <sup>13</sup> P. H. GONSE ET E. ZEUTHEN, (expériences inédites).
- <sup>14</sup> N. LIFSON ET J. A. STOLEN, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 74 (1950) 451.
- <sup>15</sup> J. S. LEE ET N. LIFSON, *J. Biol. Chem.*, 193 (1951) 253.
- <sup>16</sup> A. ROTHSTEIN, *Protoplasmatologia*, Vol. II, E4, Springer-Verlag, Vienne, 1954.
- <sup>17</sup> P. G. LEFEVRE, *Symposia Soc. Exptl. Biol.*, 8 (1954) 118.
- <sup>18</sup> R. OKAZAKI, *Exptl. Cell Research*, 10 (1956) 476.
- <sup>19</sup> Z. G. BÁNHIDI ET J. L. KAVANAU, *Exptl. Cell Research*, 10 (1956) 405.
- <sup>20</sup> O. LINDBERG ET L. ERNSTER, *Protoplasmatologia*, Vol. III, A4, Springer-Verlag, Vienne, 1954.

Reçu le 9 novembre, 1956