

2° *Lapins sans lésions chorioretiniques.* Des anomalies du tracé ERG ont été décelées seulement chez des lapins dont la courbe de glycémie a été perturbée de façon notable; en revanche, les animaux réfractaires, qui n'ont pas réagi à l'injection de dithizone par des phénomènes d'hypoglycémie ou chez lesquels on n'a observé qu'une élévation tardive de la glycémie, n'ont pas montré d'altérations ERG.

C'est seulement au cours de la première journée que se manifestent des anomalies du tracé, et plus spécialement de l'onde *b* (Fig. 2). L'onde *a* en revanche n'est pas toujours modifiée de façon significative. Elle peut être abolie. On observe régulièrement un abaissement du potentiel *b*, parfois après une très brève phase d'élévation; ce phénomène devient manifeste dès la première heure, il s'accentue par la suite. Le minimum est obtenu au cours de la première journée, chez un animal dès la fin de la 2^e heure, chez un autre seulement après 20 h. A cette diminution du potentiel *b* succède un retour lent et régulier à la courbe normale. Dans les jours suivants, le tracé n'a plus révélé d'anomalies significatives de l'ERG, même lorsqu'il s'est établi une hyperglycémie durable. La diminution du potentiel *b* est très importante, elle varie de 40 à 70% selon les cas.

Conclusions. Ces recherches faites chez le lapin intoxiqué au dithizone mettent en évidence deux faits:

a) Chez les lapins atteints de lésions chorioretiniques, visibles à l'ophthalmoscope dès la 12^e h, et au microscope dès la 8^e h (BUTTURINI¹), une diminution très précoce de l'ERG qui est aboli en l'espace de 3-4 h. Ceci correspond à une phase aiguë d'hypoglycémie car un certain nombre d'animaux sont morts dans la première journée, mais avec une glycémie abaissée jusqu'à 0,60 g/l seulement. Il est donc clair que la seule hypoglycémie ne suffit pas mais que d'autres phénomènes métaboliques interviennent chez les animaux traités au dithizone. On peut supposer par analogie avec ce que l'on observe sous l'influence du monoiodacétate qu'il faille incriminer comme cause essentielle à ces altérations fonctionnelles, puis anatomiques, un blocage enzymatique (qui est d'ailleurs admis aussi par BUTTURINI *et al.*¹).

b) Chez les animaux non atteints de lésions chorioretiniques visibles, l'abaissement significatif du potentiel *b* (40-70%) survient au cours de la première journée, c'est-à-dire au cours de la phase aiguë d'hypoglycémie. Cet abaissement de la glycémie a été constaté chez nos lapins (jusqu'à 0,50 g/l). En revanche, au cours d'un diabète établi, chez les mêmes animaux, plusieurs jours plus tard, l'aspect de l'ERG est de nouveau tout-à-fait normal. Le même fait a été constaté dans les diabètes allophaniques (observations personnelles).

On est donc fondé à admettre que la cause essentielle du dysfonctionnement rétinien mis en évidence par l'ERG chez les lapins traités au dithizone, et observé au cours de la première journée qui suit l'injection, doit être mis en relation étroite d'une part avec une hypoglycémie et d'autre part avec des modifications des systèmes enzymatiques.

J. BABEL et B. ZIV

Clinique Ophthalmologique de l'Université de Genève, le 21 août 1956.

Summary

Dithizone provokes chorio-retinal lesions in the rabbit, visible ophthalmoscopically after 12 h and microscopically after 8 h. The ERG reveals much earlier alterations, the

b wave diminishes rapidly and the ERG is abolished in 3 to 4 h. In the cases where no durable lesions are noted, the ERG is nevertheless pathological, the *b* wave being diminished 40 to 70% of its initial value during the first day, but becoming normal once again even if a permanent diabetes results. These anomalies of the ERG are related to acute hypoglycaemia and enzymatic blockage.

L'action de l'hypoglycémie sur l'électrorétogramme du lapin*

Des recherches antérieures ayant mis en évidence l'importance du métabolisme hydrocarboné pour le maintien d'une activité électrique normale de la rétine (études de l'action du blocage de la glycolyse par le monoiodacétate, ou des perturbations de la glycémie par le dithizone: BABEL et ZIV¹), nous avons recherché quelle était l'action d'une hypoglycémie brusque et massive provoquée par une injection d'insuline.

L'expérience a été faite chez des lapins de 2 à 2 1/2 kg qui ont reçu par voie intraveineuse une dose de 20 unités d'insuline. L'abaissement de la glycémie ainsi obtenu atteint rapidement 0,30 g/l en l'espace d'une demi-heure, au maximum d'une h. Elle persiste plusieurs heures et s'élève ensuite lentement si l'on n'intervient pas par une injection de glucose. Chez un animal la mort est survenue au cours de cette hypoglycémie.

Ces recherches confirment l'interdépendance étroite existant entre l'amplitude du potentiel *b* et le taux de la glycémie. Nous avons pu mettre en évidence les phénomènes suivants:

1° La diminution du potentiel *b* est parallèle à l'abaissement de la glycémie. Cette diminution atteint chez nos animaux 55 à 80%.

2° Cette diminution n'est pas immédiate, mais atteint son maximum entre 2 et 3 h; comme l'abaissement de la glycémie survient dans la deuxième demi-heure, il existe donc un décalage important entre le maximum de l'abaissement de la glycémie et le maximum de l'abaissement de l'onde *b*.

3° Le potentiel *b* réaugmente presque parallèlement à l'élévation de la glycémie.

En effet si l'on injecte une solution de glucose au moment où la glycémie est abaissée au maximum, ce qui la normalise plus rapidement que ne le fait le processus physiologique de reconstitution, l'onde *b* s'élève de nouveau très rapidement (Fig. 1).

C'est donc bien la glycémie qui règle l'importance du potentiel *b*.

4° Il apparaît fréquemment une déflexion négative importante qui suit l'onde *b*. Ce phénomène est d'interprétation délicate; toutefois il apparaît avec une trop grande régularité pour devoir être considéré comme une simple coïncidence ou un artefact. L'onde *a* est parfois augmentée quand la glycémie est très basse.

5° Chez l'animal mort en phase aiguë d'hypoglycémie, 1 h 30 min après l'injection, l'ERG devient totalement négatif, l'onde *b* est abolie et il ne subsiste qu'une inversion de l'ERG. Ce phénomène persiste encore 30 min plus tard, peu avant la mort de l'animal. Il est possible que

* Travail subventionné par la Fondation EMIL BARELL (Bâle).

¹ J. BABEL et B. ZIV, *Ophthalmologica (sous presse); Exper. 13, 122 (1957).*

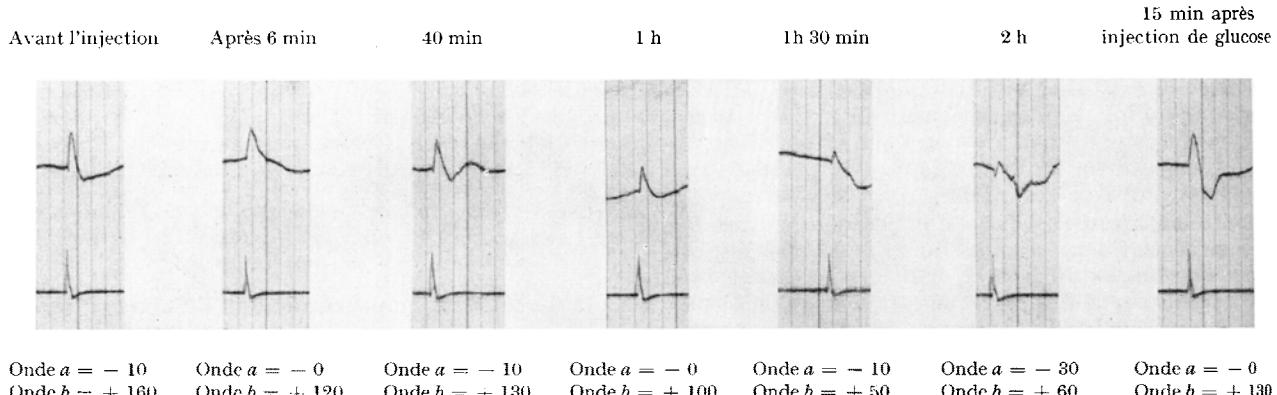


Fig. 1. ERG chez le lapin avant et après injection intraveineuse d'insuline.

dans ce cas intervienne un collapsus circulatoire qui ajoute son effet à celui de l'hypoglycémie. Chez les animaux qui ont surmonté leur hypoglycémie et chez lesquels, pour compenser un collapsus circulatoire éventuel, une injection de coramine a été faite, celle-ci n'a exercé aucune action sur l'ERG.

Conclusions. L'action de l'insuline montre clairement que l'activité bioélectrique normale de la rétine est en corrélation étroite avec le taux de la glycémie. Un autre fait est à relever: c'est l'importance des réserves énergétiques de la rétine, qui sont tout d'abord épuisées avant que l'action de l'hypoglycémie sur l'ERG se manifeste. Le décalage dans le temps entre le minimum de la glycémie et le minimum de l'onde *b* s'explique par le fait que les réserves de glycogène rétinien permettent tout d'abord de compenser l'insuffisance d'apport de glucose. Après épuisement des réserves, l'onde *b* s'abaisse rapidement. Leur reconstitution permet à l'activité électrique normale de la rétine de se manifester à nouveau.

Par des moyens un peu différents, en combinant les effets de l'anoxie et de l'hypoglycémie, PABST² est parvenu récemment aux mêmes conclusions concernant l'importance du maintien du taux normal de la glycémie pour la conservation de l'activité bioélectrique normale de la rétine ainsi que du cerveau du lapin.

J. BABEL et B. ZIV

Clinique Ophthalmologique de l'Université de Genève, le 21 août 1956.

Summary

Hypoglycaemia in the rabbit due to an intravenous injection of insulin results in an important diminution of the value of the *b* wave in the ERG (up till 80%). Nevertheless, this phenomenon does not follow directly upon the lowering of the blood glucose level but takes place, on the average, about 2 h later. This fact is explained by the enormous energy reserves of the retina, the lowering of the ERG taking place only when these reserves are exhausted.

² W. PABST, Graefes Arch. 187, 122 (1955).

PRO EXPERIMENTIS

An Optically Clear Egg-yolk Diluent for Bull-Spermatozoa¹

All investigations with optical means about the motility or the movements of spermatozoa are complicated by the difficulties of securing the right diluent. The egg-yolk-citrate diluent, which has proved since 1939 to be excellent in preserving motility during cooling and storing, is not suitable for use in optical measurements, because it is not clear. The simple citrate or phosphate buffers (without the addition of egg-yolk) are sufficiently clear, but they often give bad motility after dilution and cooling, and results can not be repeated.

In the course of an investigation about the movements of spermatozoa with optical devices, we came across that problem also in our Institute. Some experiments showed, however, that it was possible to clear a 15–20% egg-yolk-citrate buffer while maintaining its protecting properties. The procedure was as follows: first centrifugating for 1 h at 150,000 g in a Sphincto preparative ultracentrifuge. The emulsion of the egg-yolk then floated and could be removed with a Pasteurian pipette. The remaining fluid (about 80%) was now fairly clear. Further clearing was obtained by filtering in successive stages through membrane filters. The filters used were a Schleicher & Schull 1121 (pore width ca. 1 μ) followed by M.G.S. 'mittel 6' (ca. 500 m μ) and finally by M.G.S. 'fein 9' (ca. 250 m μ).

After this process, a clear yellow solution remained, although it still showed a weak Raleigh scattering. In carrying out the desired measurements this can however be eliminated by means of a yellow glassfilter.

The diluent thus obtained showed a very satisfactory protective action after dilution and cooling. Electrophoretic analyses of the diluter gave no remarkable differences in content of lipoproteins (which are probably responsible for the protective action (KAMPFSCHEIMITT²), between the treated and non-treated solution. The results of an estimation of the N and P content of a treated 15% egg-yolk diluent were: N = 0.38% and P =

¹ 98th Publication of the Research Institute for Animal Husbandry T.N.O., Utrecht, Netherlands.

² R. F. KAMPFSCHEIMITT, D. T. MAYER, and H. A. HERMAN, J. Dairy Sci. 36, 733 (1953).