

Pour conclure il nous semble que l'uromucoïde existe dans les urines sous forme de toute une série de polymères qui dérivent d'une substance parfaitement soluble dans le NaCl concentré et migrant à l'électrophorèse comme une  $\alpha_1$ -globuline rapide. De petits polymères formeraient le second sommet électrophorétique mis en évidence par nos expériences. Les hauts polymères seraient insolubles dans le NaCl 0,58 M et constituerait la «urinary mucoprotein» de TAMM et HORSFALL *sensu stricto*. Les grands agrégats pourraient constituer les «cylindroides» observables au microscope, tandis qu'une agrégation encore plus poussée produirait les «nubécula» visibles à l'œil nu dans toute urine, peu de temps après son émission. Il est même possible qu'au moment même de son émission, l'urine ne renferme que de l'uromucoïde soluble au dépens duquel les formes ci-dessus décrites pourraient progressivement apparaître.

Les auteurs remercient Mlle C. JACOT de son aide technique.

J. P. VAERMAN et J. F. HEREMANS

Cliniques Universitaires St-Pierre, Service de Médecine interne A, Louvain (Belgique), le 11 mars 1959.

### Summary

Concentrated normal urines were investigated by an immuno-electrophoretic technique using specific anti-serum directed against uromucoid (= TAMM and HORSFALL's urinary mucoprotein).

A single precipitation line was observed, which, however, presented two distinct maxima. The faster antigen appeared to be situated between albumin and  $\alpha_1$ -globulin, while the slower antigen seemed to be an  $\alpha_2$ -globulin. Both antigens were immunologically identical with uromucoid, although the latter had been eliminated by salt precipitation from the urines used in this experiment.

The above findings can best be explained by assuming the occurrence of a polymer series of uromucoid, of which the lower members would be soluble in 0.58 M NaCl, while the higher terms would represent TAMM and HORSFALL's mucoprotein *sensu stricto*. It is suggested that cylindroids and nubecula represent visible forms of uromucoid.

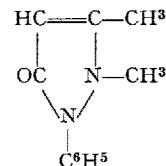
### Végétativisation de l'œuf de l'oursin par la Phénazone

HERBST<sup>1</sup> a montré, chez l'oursin, que le lithium possède la remarquable propriété de déplacer l'équilibre entre les tendances ectodermiques et entomésodermiques en faveur de ces dernières. Ce phénomène est connu sous le nom de végétativation ou végétalisation. A la suite des travaux de LINDHAL<sup>2</sup> montrant que le lithium exerce des effets inhibiteurs sur le métabolisme glucidique, différentes tentatives ont été faites en vue de provoquer la végétativation à l'aide d'inhibiteurs de la glycolyse et de la respiration. Aucun effet végétativisant net n'a toutefois pu être obtenu. Récemment, HÖRSTADIUS<sup>3</sup> a obtenu la végétativation de moitiés animales isolées de l'œuf d'oursin, traitées par des dinitrophénols. L'œuf entier n'est que

très rarement végétativisé dans ces conditions. Le lithium reste ainsi pratiquement le seul agent efficace permettant d'induire la végétativisation dans l'œuf entier d'oursin.

Nous avons étudié les possibilités de provoquer la végétativation par des méthodes nouvelles. La découverte d'un nouvel agent outre le fait qu'elle permet de préciser l'hypothèse mise en œuvre pour sa recherche présente en outre l'incontestable intérêt de permettre une analyse comparée des méthodes de végétativisation et d'apporter quelques éclaircissements tant sur le phénomène lui-même que sur le mode d'action des agents utilisés.

Nous avons orienté nos recherches en fonction des données expérimentales suivantes: des travaux antérieurs ont montré que l'animalisation, c'est-à-dire l'extension des territoires ectodermiques aux dépens des territoires entomésodermiques, peut être aisément obtenue en traitant les œufs entiers par des sels de zinc<sup>4</sup> ou différents dérivés sulfoniques<sup>5</sup>. Or, ces agents présentent une affinité pour les groupes basiques des protéines. Parmi ceux-ci les groupes imidazoles présentent un intérêt particulier en raison de leur affinité marquée pour les ions zinc. Nous avons donc recherché si l'addition au milieu de culture de dérivés de l'imidazole pouvait entraîner des modifications spécifiques de la détermination embryonnaire. Les dérivés de l'imidazole ou diazole 1-3 étudiés jusqu'ici se sont montrés très toxiques. Par contre les dérivés du diazole 1-2 sont particulièrement intéressants et l'un de ceux-ci, la phénazone ou diméthyl-2-3 phényl-1 pyrazolone, dont nous donnons la formule ci-dessous, est capable d'induire la végétativation des œufs entiers de *Paracentrotus lividus*. La phénazone plus connue sous le nom d'antipyrine est utilisée en thérapeutique pour ses propriétés antipyrrétiques et analgésiques. Les concentrations efficaces sont 0,0275 M, 0,0250 M et 0,0225 M pour des traitements d'une durée de 18 à 20 h à la température de 19°C à 20°C. La végétativation peut encore être obtenue avec des concentrations plus élevées, 0,0300 M par exemple, la durée du traitement étant diminuée. Avec des concentrations plus élevées enfin, le développement est bloqué au cours de la segmentation. Ce blocage est d'autant plus précoce que la concentration est plus élevée. Inversement l'activité de la phénazone disparaît rapidement lorsque la concentration diminue.



Phenazone (Formule de Knorr)

Les effets d'un traitement permanent et d'un traitement temporaire étant différents, nous les examinerons séparément.

Dans les cultures permanentes en présence de 0,0275 M de phénazone, le développement est arrêté au stade blastula. La gastrulation est ébauchée aux concentrations 0,0250 M, mais le développement de petits plutei n'est obtenu qu'avec des concentrations plus faibles de l'ordre de 0,0100 M. La végétativation n'est pas observée dans ces conditions.

<sup>1</sup> C. HERBST, Z. wiss. Zool. 55, 446 (1892).

<sup>2</sup> P. E. LINDAHL, Acta zool. 17, 179 (1936).

<sup>3</sup> S. HÖRSTADIUS, J. Embryol. exp. Morphol. 1, 327 (1953).

<sup>4</sup> R. LALLIER, Arch. Biol. 66, 75 (1955).

<sup>5</sup> R. LALLIER, Exp. Cell Res. 9, 232 (1955). — Pubbl. Staz. zool. Napoli 30, 185 (1957).

Avec les traitements temporaires, la végétativisation est observée. A cet effet, les œufs fécondés sont mis dans une solution de phénazone 0,0275 M à 0,0225 M et après un séjour de 18 à 20 h, les embryons sont transférés, après lavage, dans l'eau de mer normale où ils se développent en présentant les aspects caractéristiques de la végétativisation. La vésicule entodermique volumineuse à parois épaisses est entièrement évaginée, de forme simple ou différenciée en trois segments. La vésicule ectodermique très petite, à parois minces, est le plus souvent sphérique et dépourvue de spicules. L'épaisseur apical est réduit à une aire minuscule. La vésicule ectodermique porte quelquefois des ébauches de bras soutenus par de grands spicules. On observe également des embryons moins végétativisés à forme plurétique caractéristique avec leur archentéron volumineux à parois épaisses, partiellement ou complètement invaginé. Ils sont dépourvus de bouche. Les embryons provenant d'une même femelle et traités dans les mêmes conditions présentent le plus souvent des degrés variés de végétativation. Ces différences s'observent tout particulièrement lorsque la concentration en phénazone et la durée du traitement sont diminuées. Toutes conditions étant égales par ailleurs, les effets du chlorure de lithium sont plus homogènes que ceux de la phénazone. Les marges de concentrations efficaces étant 0,0275 M à 0,0225 M pour la phénazone et 0,0260 M à 0,0130 M pour le chlorure de lithium, sont donc plus larges pour ce dernier. La phénazone apparaît ainsi légèrement moins active que le chlorure de lithium. Des modifications portant sur la structure de la molécule de phénazone peuvent entraîner des changements d'activité. Il est ainsi possible de concevoir l'existence de dérivés plus actifs que la phénazone elle-même. Des recherches préliminaires nous ont déjà montré des modifications de l'activité chez certains dérivés de la phénazone tels que l'amino-4 phénazone et la diméthyl-amino-4 phénazone.

La phénazone, comme le lithium, modifie les propriétés des surfaces des cellules embryonnaires. Les embryons traités adhèrent en effet facilement entre eux. Cette adhérence peut être superficielle. Des remaniements intervenant au niveau des zones de contact entraînent fréquemment le fusionnement des parois et la coalescence des blastocèles. A l'origine, des contacts accidentels entre embryons permettent d'observer ce phénomène. Mais la fréquence des contacts peut être augmentée par une légère centrifugation et l'on peut ainsi obtenir des agrégats constitués d'une dizaine d'embryons. Les zones d'adhérence intéressent toujours les régions végétativisées. Ce phénomène est d'autant plus accentué que la végétativisation est plus forte. Ces faits constituent une utile indication sur les relations déjà maintenues entre la différenciation cellulaire et les changements structuraux des surfaces cellulaires. La phénazone et le lithium peuvent constituer d'intéressants agents pour analyser ces relations.

Examinons maintenant les hypothèses relatives au mode d'action de la phénazone. Cette substance peut agir soit directement, soit après transformation sous l'influence du métabolisme de l'embryon. Le fait que la phénazone agisse à concentrations relativement élevées plaide toutefois en faveur d'une action directe. Le rôle des produits de transformation de la phénazone ne peut toutefois être complètement écarté avant que ceux-ci aient été identifiés et leur activité étudiée séparément. Dans le cas le plus probable d'une action directe de la phénazone, on peut concevoir que la formation de combinaisons plus ou moins stables entre la phénazone et les protéines clefs en voie d'élaboration, en altérant leur configuration, dé-

tourne la détermination embryonnaire de son cours normal.

R. LALLIER

*Centre National de la Recherche Scientifique, Villefranche-sur-Mer, le 4 mars 1959.*

### Summary

Phenazone employed in various concentrations on the eggs of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*, has a powerful vegetalizing effect on their development. The role of the interference between phenazone and synthetic process of specific proteins is considered.

### Pyridoxine and Pyridoxal Phosphate Concentrations in the Liver and Heart of Thyroxinized Animals

It has recently been ascertained<sup>1,2</sup> that an inhibiting action can be exerted, both *in vitro* and *in vivo*, by thyroxine upon certain enzymatic systems requiring pyridoxal-5-phosphate as a coenzyme. The synthesis of this coenzyme is performed by a kinase and calls for a normal availability of pyridoxal and adenosintriphosphate<sup>3</sup>. It may therefore be assumed that thyroxine might act both by lowering the availability of adenosintriphosphate<sup>4,5</sup> and by stepping up the consumption, and therefore the requirements, of vitamin B<sub>6</sub> by the animal organism<sup>6</sup>.

As no data are found in the existing literature on the concentrations of pyridoxal phosphate in hyperthyreotic animal tissues, a research program was undertaken to assess the effects of thyroxin treatment on the pyridoxal-5-phosphate content of the liver and heart of rats.

Our experiments were performed on a total of 120 rats (average weight: 100 to 120 g), from our own breeding stock and kept, beginning one week before the test and until its completion, on a special diet, administered *ad libitum* and consisting of 16% casein, 6% maize oil, 4% salt mixture IV, 5% vitamins in lactose, and 67% sucrose. The lactose included adequate amounts of all vitamins, among which were choline and inositol. Vitamin B<sub>6</sub> (pyridoxine hydrochloride) was incorporated in the amount of 10 mg/100 g lactose, equal to 0.5 mg vitamin per 100 g of feed.

Thyroxinization was induced by intramuscular injection of sodium D,L-Thyroxine in an aqueous solution at the daily rate of either 0.1 or 0.2 mg/kg body weight. Two other lots of animals treated with this hormone dosage also received daily intramuscular injections of sodium adenosintriphosphate (5 mg/kg) or pyridoxine hydrochloride (8 mg/kg body weight) respectively.

At the end of a 10-day treatment, all the animals were killed by decapitation. Their liver and heart were removed aseptically, weighed, and tested for their pyridoxal phosphate and pyridoxine content by the methods de-

<sup>1</sup> G. LITWACK, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 93, 13 (1956).

<sup>2</sup> A. HORVATH, Nature 179, 968 (1957).

<sup>3</sup> W. K. MAAS and D. G. NOVELLI, Arch. Biochem. Biophys. 43, 236 (1953).

<sup>4</sup> E. MASCITELLI-CORIANDOLI and R. BOLDRINI, Nature 179, 1196 (1957).

<sup>5</sup> L. ANGELUCCI, R. BOLDRINI, and E. MASCITELLI-CORIANDOLI, Nature 181, 419 (1958).

<sup>6</sup> V. A. DRILL and R. OVERMAN, Amer. J. Physiol. 135, 474 (1942).