

while being drifted backwards for final sloughing off, sometimes breaks into small pieces.

Zusammenfassung. Die von früheren Autoren als «Chromatoidkörper» bezeichnete Struktur der Spermatozoiden von Skorpionen, *Palamnaeus bengalensis*, ist kein wirk-

licher «Chromatoidkörper», sondern ein Hilfskörper lipoproteischer Natur ohne jegliche RNA.

USHA BEDI

Department of Zoology, Panjab University, Chandigarh (India), October 22, 1962.

La glycolyse anaérobie au niveau des lobes optiques isolés de l'embryon de poulet

Dans une série de recherches il a été avancé que la différenciation structurale et biochimique au niveau des lobes optiques (mésencéphale) chez l'embryon de poulet¹ pouvait être mise en parallèle avec la différenciation fonctionnelle². En ce qui concerne plus particulièrement la différenciation biochimique, il a été mis en évidence, *in vitro*, un accroissement de l'activité du métabolisme oxydatif (consommation d'oxygène, inhibition de cette consommation d'oxygène par l'azide de sodium, activité du système de la succinoxydase) sensiblement à partir du dixième jour (stade morphologique 35-36 selon la terminologie de HAMBURGER et HAMILTON³) de développement du mésencéphale embryonnaire^{1,4}. D'autre part, on sait qu'en absence d'oxygène, la glycolyse accomplie par le tissu cérébral isolé est importante, comme elle l'est également par le cerveau intact *in vivo*⁵.

Dans le présent travail, nous avons évalué, au niveau des lobes optiques, isolés de l'embryon de poulet, l'intensité de la glycolyse anaérobie directement, par la mesure de la quantité d'acide lactique libérée à partir du glucose utilisé comme substrat.

Méthodes. A l'aide des techniques décrites précédemment¹ le mésencéphale est isolé, à partir d'embryons de poulet de la race Rhode Island, dès le cinquième jour d'incubation (stade 27) jusqu'au deuxième jour après l'éclosion. Jusqu'au stade 37, le tissu isolé est conservé intact, et, à partir du stade 38 il est soumis à la technique de compression de ROMANOFF⁶ que l'un de nous avait utilisée dans la mesure de l'activité respiratoire de ce même tissu embryonnaire¹. La solution physiologique utilisée pour la mesure de la glycolyse a la composition suivante: NaCl 0,125 M, KCl 0,005 M, CaCl₂ 0,001 M, MgCl₂ 6H₂O 0,001 M, NaHCO₃ 0,014 M, glucose 0,1 M; elle est saturée de CO₂ et le pH est ajusté à 7,4. Des essais préliminaires, exécutés en présence de concentrations en glucose égales à 0,01 M et à 0,1 M, ont montré que la concentration élevée en ce substrat ne modifiait pas la valeur de l'activité glycolytique du tissu.

Le dégagement de CO₂ est mesuré par la méthode manométrique de Warburg, en utilisant des fioles à un appendice latéral, en atmosphère constituée par un mélange de 95% d'azote et de 5% de CO₂, et à la température de 38°C. La durée totale des évaluations est de 80 min; à la vingtième minute on arrête l'activité glycolytique dans la moitié des fioles en expérience par adjonction d'une solution d'acide trichloracétique contenue dans l'appendice latéral, et, 60 min plus tard on exécute la même opération sur le reste des fioles en expérience. La concentration en acide trichloracétique dans la solution où baigne le tissu est de 10%. Le contenu de chaque fiole, à chaque opération, est recueilli quantitativement et l'acide lactique est dosé par la méthode colorimétrique de BARKER et SUMMERSON⁷. La quantité d'acide lactique, produite en 60 min d'incubation à 38°C, est rapportée soit à la quantité d'azote total tissulaire soit à celle de phosphore de

l'acide désoxyribonucléique tissulaire prises comme unité. L'azote total et le phosphore de l'acide désoxyribonucléique des lobes optiques sont évalués selon les méthodes décrites antérieurement par l'un de nous¹.

Résultats et Discussion. Le Tableau résume l'ensemble des résultats obtenus. Il indique le stade morphologique embryonnaire, le nombre d'expériences réalisées pour chaque stade, la quantité d'acide lactique exprimée en microgrammes (µg) produite en 60 min et rapportée soit à un mésencéphale (deux lobes optiques), soit à 1 µg d'azote total, soit à 1 µg de phosphore de l'acide désoxyribonucléique.

Tout d'abord, on constate que la production d'acide lactique, par mésencéphale, du stade 28 jusqu'au deuxième jour après l'éclosion est multipliée par 6 environ, alors que l'un de nous avait montré antérieurement¹ que la con-

Activité de la glycolyse anaérobie au niveau des lobes optiques (mésencéphale) isolés de l'embryon de poulet en fonction du stade de développement

Stades morphologiques	Nombre d'expériences	µg d'acide par més-encéphale en 60 min	lactique libéré pour 1 µg d'azote total en 60 min	pour 1 µg de P-ADN* en 60 min
27	1	41		
28	6	66,7	0,300	10,4
29	10	74,4	0,225	11,4
30	5	86,5	0,194	12,2
32	1	79	0,133	
35	7	96,9	0,104	10,3
35-36	3	125		
36	7	121	0,109	11,9
37	6	106	0,078	
38	3	177	0,089	
39	13	166	0,086	15,5
40	17	202,4	0,099	18,5
41	5	211,8	0,086	
43	9	278	0,094	23,8
44	7	392	0,100	29,8
46	14	363	0,099	27,8
2 jours après l'éclosion	6	406,5	0,090	

* P-ADN = phosphore de l'acide désoxyribonucléique.

¹ J. GAYET et A. BONICHON, in *Regional Neurochemistry* (ed. by S. S. KETY and J. ELKES, Pergamon Press, Oxford 1961).

² J. J. PETERS, A. R. VONDERAHE et T. H. POWERS, *J. exp. Zool.* 133, 505 (1956); 139, 459 (1958).

³ V. HAMBURGER et H. L. HAMILTON, *J. Morphol.* 88, 49 (1951).

⁴ A. BONICHON, Thèse de Doctorat ès-Sciences Naturelles, Nancy (1962).

⁵ H. MAC ILWAIN, *Biochemistry and the Central Nervous System* (J. and A. Churchill, Ltd., London 1959).

⁶ A. L. ROMANOFF, *J. exp. Zool.* 93, 1 (1943).

⁷ S. B. BARKER et W. H. SUMMERSON, *J. biol. Chem.* 138, 535 (1941).

somation d'O₂ pendant la même période est multipliée par 19; la quantité d'azote tissulaire, qui représente la masse de protoplasme actif est multipliée, dans le même temps, par 18 environ. La glycolyse anaérobie ne suit pas, comme le fait la respiration oxydative, la croissance biochimique tissulaire.

Du stade 28 au stade 36, la quantité d'acide lactique produite rapportée à 1 µg d'azote total diminue rapidement, puis à partir de ce dernier stade jusqu'au deuxième jour après l'éclosion cette quantité reste pratiquement constante. Cependant, si l'on considère les quantités d'acide lactique libérées rapportées à 1 µg de phosphore de l'acide désoxyribonucléique, ce qui est l'expression de l'activité glycolytique au niveau des cellules du mésencéphale embryonnaire, on constate que du stade 28 au stade 36 cette quantité est pratiquement constante et égale à 12,2 µg en moyenne, puis, de ce dernier stade à l'éclosion elle s'accroît du double. Or, pendant cette dernière période de développement embryonnaire l'un de nous a déjà montré que la consommation d'oxygène des lobes optiques est multipliée par 3 environ¹.

Conclusions. Les résultats que nous venons d'exposer sont par conséquent en étroit accord avec ceux obtenus *in vitro* par d'autres auteurs sur le cerveau du fœtus de chat, de lapin et de chien⁸ et sur le cortex cérébral du fœtus de cobaye⁹. Au niveau des lobes optiques de l'embryon de poulet, la période de multiplication des neuroblastes allant sensiblement jusqu'au dixième jour d'incubation (stade morphologique 35–36)^{1,4} est caractérisée, du point de vue du métabolisme énergétique, par une supériorité de la glycolyse anaérobie (schéma d'Embden-Meyerhof). Du dixième jour d'incubation jusqu'à l'éclosion et même au-delà, période qui correspond à la phase de

différenciation des neuroblastes en neurones^{1,4} à activité fonctionnelle^{2,10}, prédominent les mécanismes de la phosphorylation oxydative (cycle de l'acide citrique) fournissant la quantité suffisante de molécules d'adénosine triphosphate (ATP) indispensables à la croissance des expansions nerveuses^{1,4,11}, ainsi qu'à l'établissement de l'activité fonctionnelle^{2,10,12}.

Summary. A series of *in vitro* experiments have been made on lactic acid production in anaerobiosis in the developing optic lobes (mesencephalon) of the chick embryo. The rate of anaerobic glycolysis is relatively important during multiplication of the neuroblasts; but, during the differentiation of the neuroblasts into mature neurons, the anaerobic processes are lower than the phosphorylation and oxidation mechanisms essential for the growth of nerve expansions and onset of functional activity.

J. SCHWANDER et J. GAYET

Laboratoire de Physiologie générale, Faculté des Sciences de l'Université de Nancy (France), le 19 octobre 1962.

⁸ H. E. HIMWICH, *Brain Metabolism and Cerebral Disorders* (Williams and Wilkins, Baltimore 1951).

⁹ L. B. FLEXNER, J. B. FLEXNER et L. HELLERMAN, *J. cell. comp. Physiol.* 47, 469 (1956).

¹⁰ A. BONICHON, *J. Neurochem.* 5, 195 (1960).

¹¹ V. B. PETERS et L. B. FLEXNER, *Amer. J. Anat.* 86, 133 (1950).

¹² L. B. FLEXNER, D. B. TYLER et L. J. GALLANT, *J. Neurophysiol.* 13, 427 (1950).

The Antigenicity of Sheep Follicle-Stimulating Hormone

The antigenic composition of purified sheep follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) has been investigated by SEGAL et al.¹. They observed that ovine FSH had a common antigen with ovine LH. These investigators have further shown that the FSH had an LH activity that could be selectively absorbed by the antiserum to LH. SEGAL et al.², in their more recent studies, have used an antiserum to FSH absorbed with blood serum. RAO and SHAHANI³ observed that human chorionic gonadotrophin (HCG) had a minimum of 3 antigens in common with blood serum and these could be removed by absorbing the antiserum to HCG with normal blood serum. The studies reported here were carried out to find whether ovine, bovine, porcine and human pituitary FSH and LH have common antigens, and whether the serum contaminants in the hormone preparations could be selectively removed by absorbing the specific antisera with sheep serum.

Antisera to the hormone and sheep serum were obtained from rabbits immunized with the respective gonadotrophins and the serum along with Freund's complete adjuvant. The characterization of antigens was carried out both by the Ouchterlony gel diffusion technique⁴ and the immuno-electrophoretic technique⁵.

Experiments were carried out to study the common antigens ovine FSH has with ovine LH, bovine LH, porcine LH, ram and sheep serum. The antiserum to FSH was placed in the centre of an agar-plate (Figure 1), and

around it were placed ovine FSH, ovine LH, bovine LH, ram serum, porcine LH and sheep serum. The antiserum gave five precipitin lines with ovine FSH and one precipitin line with ovine LH. The latter line merged with one of the 5 precipitin lines given by FSH. Bovine LH gave two precipitin lines with the antiserum, one of which merged with the line appearing between ovine FSH and the antiserum. Ram serum gave a dense precipitin band and a separate precipitin line. One of the two precipitin lines given by bovine LH merged into this dense band. Porcine LH did not react with the antiserum. Sheep serum gave three distinct precipitin lines which merged with three of the five precipitin lines between ovine FSH and the antiserum. The antiserum to ovine FSH did not give any precipitin line with human and porcine FSH and LH, HCG, PMS and ovine luteotrophic hormone or prolactin (LTH).

These results indicated that the FSH preparation contained antigens which were common to sheep serum. Further, one of the antigens in ovine FSH which was common to the blood serum was also common to ovine and bovine LH. In order to determine whether the serum

¹ S. J. SEGAL, L. NIU, and S. HAKIM, *Proc. 1st intern. Congr. Endocrinol.*, Copenhagen (1960), p. 1093.

² S. J. SEGAL, K. A. LAURENCE, M. PERLBACHS, and SAFIA HAKIM, *Proc. 3rd intern. Symp. comp. Endocrinol.*, Japan (1961).

³ SHANTA S. RAO and S. K. SHAHANI, *Immunology* 4, 1 (1961).

⁴ O. OUCHTERLONY, *Acta path. microbiol. scand.* 25, 186 (1949).

⁵ P. GRABAR, *Methods in Biochemical Analysis* 7, 1 (1959).