

This question is susceptible of two alternative explanations. One of them is that the influence of adaptation to H modifies the reaction of the parietal cells to H as revealed by lowered secretion of hydrochloric acid. The second alternative explanation is that adaptation to H alters the susceptibility of the gastric mucosa to the ulcerogenic acids secreted in a high concentration or in a great amount¹¹⁻¹³.

The present results failed to give any precise indications in this respect. It is desirable that the results of further investigations focused on that problem should contribute to its solution.

Résumé. Les cobayes adaptés à l'histamine par voie intraperitoneale sont protégés contre l'ulcère de l'estomac posthistaminique.

J. R. DMOCHOWSKI and Z. FILIP

Department of General and Experimental Pathology,
School of Medicine, Lodz (Poland), October 7, 1963.

¹² W. H. BACHRACH, M. J. GROSMANN, and A. C. IVY, Gastroenterology 6, 563 (1946).

¹³ J. H. NORTHRUP, J. gen. Physiol. 9, 497 (1925/26).

La respiration tissulaire chez les poissons: Etude des conditions optimales pour obtenir et mesurer une «respiration potentielle» sur broyats tissulaires

KREBS¹ en 1950, par ses travaux sur la respiration tissulaire chez les Mammifères a établi que le métabolisme propre à chaque espèce, est mieux reflété par l'expérimentation sur coupes que sur broyats tissulaires. L'intégrité des systèmes enzymatiques étant mieux respectée, la respiration des coupes est nettement plus importante. Depuis ces expériences, de nombreux liquides physiologiques ont été proposés. LOCKWOOD² a pu reproduire une centaine de formules résumant les connaissances actuelles.

Dans le cas des Poissons, en particulier chez certains Cyprinidés d'eau douce, la consistance des organes rend aléatoire l'obtention de coupes d'épaisseur constante. Aussi l'étude de métabolisme respiratoire ne peut-elle s'effectuer de façon reproductible, que sur des homogénéisats. Cependant, les échanges gazeux de telles préparations restent toujours faibles et se prêtent peu à des études comparatives. En effet des différences légères dans la mesure des volumes d'oxygène absorbé, entraînent des erreurs considérables dans le calcul de l'intensité respiratoire. Nous avons donc essayé d'augmenter la consommation d'oxygène de tissus préparés selon cette technique par des conditions d'incubation appropriées. Nous avons été amenés à préciser la formule d'un liquide physiologique, susceptible d'assurer une respiration cellulaire active et reproductible, que l'on peut qualifier selon JACOB³, de «respiration potentielle».

Matériel et Méthodes. Les expériences sont réalisées sur des Tanches mâles ou femelles⁴ âgées de 3 ans, *Tinca tinca* L., de 150 à 200 g, nourries suivant le même régime. Une première série de mesures a été effectuée en hiver, sur des sujets vivant à 5-6°, et une seconde série au printemps, sur des animaux vivant à 10-12°C. Le foie est rapidement prélevé sur des Poissons tués par décapitation, et recueilli sur de la glace. Le tissu découpé en menus fragments, est broyé au POTTER à 0°C pendant 1 min. La concentration adoptée est de 100 mg/ml.

La consommation d'oxygène est évaluée selon la technique de WARBURG. L'expérience est réalisée à 20°C. Les valeurs exprimées sont finalement rapportées au mg de matière sèche, par heure (détermination des teneurs en eau par dessication des tissus, sur Cl₂Ca anhydre, sous vide et à température ambiante).

Résultats expérimentaux. (a) *Influence du glucose et du saccharose.* Nous avons tout d'abord utilisé la solution de

Ringer-Krebs, ajustée au milieu intérieur des Cyprinidés⁵. Bien que ce liquide physiologique contienne tous les éléments ioniques indispensables, aux concentrations appropriées, les consommations d'oxygène restent faibles. Selon les observations de HOGEBOOM et SCHNEIDER⁶, l'homogénéisation en solution isotonique de glucides respecterait mieux l'intégrité des constituants cellulaires; nous avons alors ajouté ou substitué au liquide de Ringer du glucose ou du saccharose. Le Tableau I résume l'ensemble des résultats obtenus avec des broyats préparés et incubés dans ces conditions.

La lecture de ce Tableau montre une augmentation de la consommation d'oxygène de 38% dans le Ringer glucosé et de 81% dans le saccharose seul en solution isotonique et tamponnée à pH 7,5. Cependant, les échanges gazeux restant encore relativement faibles, nous avons cherché à accroître leur intensité par addition de divers activateurs du métabolisme.

(b) *Influence du pyruvate et du succinate.* Ces deux métabolites intermédiaires du cycle de KREBS, ont été utilisés soit en solution pure isotonique, soit en mélange avec du saccharose. De plus, dans les deux cas, nous avons

Tableau I. Consommation d'oxygène des broyats de foie de Tanche dans une solution de Ringer et de glucides (Janvier)

| Milieu | Nombre d'expériences | QO ₂ moyens µl/mg/h | Augmentation % par rapport au témoin |
|-------------------------|----------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Ringer (témoin) | 6 | 0,21 | |
| Ringer + Glucose 0,25 M | 3 | 0,29 | +38% |
| Glucose seul 0,25 M | 8 | 0,33 | +57% ¹ |
| Saccharose seul 0,25 M | 11 | 0,38 | +81% ¹ |

¹ H. A. KREBS, Biochim. Biophys. Acta 4, 249 (1950).

² A. P. M. LOCKWOOD, Comp. Biochem. Physiol. 2, 241 (1961).

³ A. JACOB, Thèse Faculté des Sciences, Paris, no. 4689 (1962).

⁴ Des expériences précédentes avaient montré que l'intensité respiratoire est indépendante du sexe de l'animal.

⁵ Composition de la solution de Ringer adaptée aux tissus de Poissons; pH du liquide: 7,5. 1. Liquide isotonique 70 p., NaCl anhydre R.P. 0,136 M, KCl anhydre R.P. 0,002 M, CaCl₂ anhydre R.P. 0,001 M; 2. Tampon, NaHCO₃ R.P. 0,154 M 15p., KH₂PO₄ R.P. 0,160 M 1p.

⁶ G. H. HOGEBOOM et W. C. SCHNEIDER, in *Biochemist's Handbook* (Spon. édit., London 1961), p. 810.

Tableau II. Consommation d'oxygène des broyats de foie de Tanche, en présence de métabolites et d'ATP (Février)

| Milieu | Nombre d'expériences | QO_2 moyens $\mu\text{l}/\text{mg}/\text{h}$ sans ATP | Augmentation % par rapport au Ringer | QO_2 moyens $\mu\text{l}/\text{mg}/\text{h}$ avec ATP | Augmentation % par rapport aux métabolites sans ATP |
|------------------------|----------------------|--|--------------------------------------|--|---|
| Ringer seul | 6 | 0,21 | | | |
| Ringer + saccharose | 11 | 0,38 | + 81 | 1,44 | + 279 |
| Pyruvate de Na seul | 9 | 0,57 | + 176 | 0,93 | + 63 |
| Saccharose + pyruvate | 11 | 0,58 | + 176 | 1,26 | + 117 |
| Succinate de Na seul | 9 | 0,62 | + 195 | 2,21 | + 256 |
| Saccharose + succinate | 14 | 1,37 | + 550 | 2,33 | + 70 |

étudié l'influence éventuelle d'un générateur d'énergie: Adénosine triphosphate (ATP). Nos résultats sont groupés dans le Tableau II.

L'emploi du pyruvate ou du succinate, seuls en solutions isotoniques tamponnées à pH 7,5, provoque une activation sensible de la respiration cellulaire. Le mélange isotonique en parties égales de saccharose et de succinate de Na, aboutit à l'élévation la plus importante de la consommation d'oxygène (550% de la valeur du témoin Ringer, soit une valeur de 1,37).

L'addition d'ATP ($M/250$) à chacun de ces milieux, apporte une nouvelle augmentation de l'intensité respiratoire. Les plus fortes absorptions d'oxygène sont encore mesurées dans le milieu saccharose - succinate de Na - ATP. Le pourcentage d'augmentation par rapport au Ringer est égal à 1000, soit un QO_2 de 2,33. Le pyruvate reste comparativement un assez mauvais substrat: FRIZ, LAZOROW et COOPERSTEIN⁷ l'ont d'ailleurs signalé en 1960 pour les tissus pancréatiques d'un Téléostéen marin.

Notre expérimentation nous a conduits ainsi à abandonner l'emploi de la solution de Ringer-Krebs dans la préparation des broyats. Un liquide isotonique constitué par du saccharose et du succinate de Na tamponné à pH 7,5 a été finalement adopté en raison des valeurs élevées de QO_2 qu'il permet d'atteindre. Ce milieu cependant, ne présente pas l'équilibre ionique d'une solution saline. Or le rôle physiologique des ions présents dans le Ringer a depuis longtemps été souligné; nous avons repris l'influence particulière à deux d'entre eux: le potassium et le calcium.

(c) *Influence des ions potassium et calcium.* TAGAKAKI et TSUKAD⁸ ont démontré en 1957 l'action stimulante d'une surcharge en potassium sur la respiration tissulaire des Mammifères. A la lumière de ces observations, nous

avons substitué les ions potassium aux ions sodium présents dans le milieu. Nos expériences comparatives réalisées avec les sels de potassium et de sodium de l'acide pyruvique, montrent une augmentation importante de la consommation d'oxygène sous l'influence de l'ion potassium.

L'importance de l'ion Ca^{++} dans le métabolisme respiratoire est bien établie. AXELROD, SWINGLE et ELVEHJEM⁹ ont déjà signalé en 1941, chez le Rat, une activation des oxydations tissulaires par l'ion Ca^{++} en présence de succinate. Ce cathion agit à très faibles concentrations et la substitution de succinate de Ca par le au succinate de Na (0,25 M) lèserait les tissus. Nous réaliserons un apport en ions Ca^{++} par addition de Cl_2Ca anhydre en quantité physiologique (0,2 pour 1000) à un milieu constitué par du saccharose et du succinate de Na. L'augmentation de l'intensité respiratoire obtenue avec un tel milieu est très importante (122% soit un QO_2 de 2,31). Les résultats de ces mesures sont groupés dans le Tableau III.

Conclusions. La recherche des conditions optimales de mesure de l'absorption d'oxygène par des broyats de foie et de rein de Tanche, nous a conduits à l'abandon des liquides physiologiques préparés selon Ringer-Krebs au profit d'un milieu composé de saccharose, de succinate de Na et de Cl_2Ca maintenu à pH 7,5 par le tampon bicarbonate de Na-phosphate de K.

Les QO_2 élevés obtenus avec un tel milieu riche en activateurs, peuvent être considérés comme le résultat d'une respiration forcée, que l'on peut qualifier selon JACOB de «respiration potentielle» par opposition au métabolisme de base mesuré en l'absence de tout activateur.

Cette respiration potentielle mettant en jeu des volumes d'oxygène relativement importants, les erreurs d'expériences et les variations individuelles se trouvent fortement atténuées. Ainsi devient-il possible d'étudier l'influence de divers facteurs externes ou endocriniens sur le métabolisme tissulaire.

Summary. Research was undertaken to find the formula of a physiological serum (saccharose, Na succinate and CaCl_2) permitting intense gaseous exchanges, a potential respiration, to be obtained from tissue homogenates of fish.

J. PEQUIGNOT

Laboratoire de Biologie Animale, Faculté des Sciences, Toulouse (France), le 29 novembre 1963.

⁷ G. T. FRITZ, A. LAZOROW et S. J. COOPERSTEIN, Biol. Bull. U.S.A. 119, 161 (1960).

⁸ G. TAGAKAKI et T. TSUKAD, J. Neuroclin. G.B. 2, 21 (1957).

⁹ E. AXELROD, D. F. SWINGLE et C. A. ELVEHJEM, J. biol. Chem. 140, 931 (1941).

Tableau III. Influence des ions K^+ et Ca^{++} sur la consommation d'oxygène de broyats de foie de Tanche (Avril)

| Milieu | Nombre d'expériences | QO_2 moyens $\mu\text{l}/\text{mg}/\text{h}$ | Augmentation % |
|---|----------------------|---|----------------|
| Saccharose + pyruvate de Na | 8 | 0,37 | |
| Saccharose + pyruvate de K | 8 | 0,63 | + 70 |
| Saccharose + succinate de Na | 8 | 1,04 | |
| Saccharose succinate + Cl_2Ca | 8 | 2,31 | + 122 |