

from untreated rats of the arthritic group either lacked the  $\alpha$ -2 precipitin line completely (animals with the most severe arthritis), or exhibited a very greatly reduced line in this area. The patterns from animals of this group also

showed an increase in the  $\beta$ -globulin line nearest the electrophoretic axis. Adjuvant-injected rats which were treated with hydrocortisone had patterns which were essentially the same as those from control animals.

BLUMENKRANTZ et al.<sup>3</sup> reported that rats with adjuvant arthritis have increased urinary excretion and decreased serum concentration of glycoproteins. The results of the present experiment are of interest, in this regard, in that the complete lack of, or great reduction in, the  $\alpha$ -2 protein was observed only with plasmas from rats of the arthritic group. Hydrocortisone administration, in addition to preventing development of gross manifestations of arthritis, apparently also prevented the loss of this protein component.

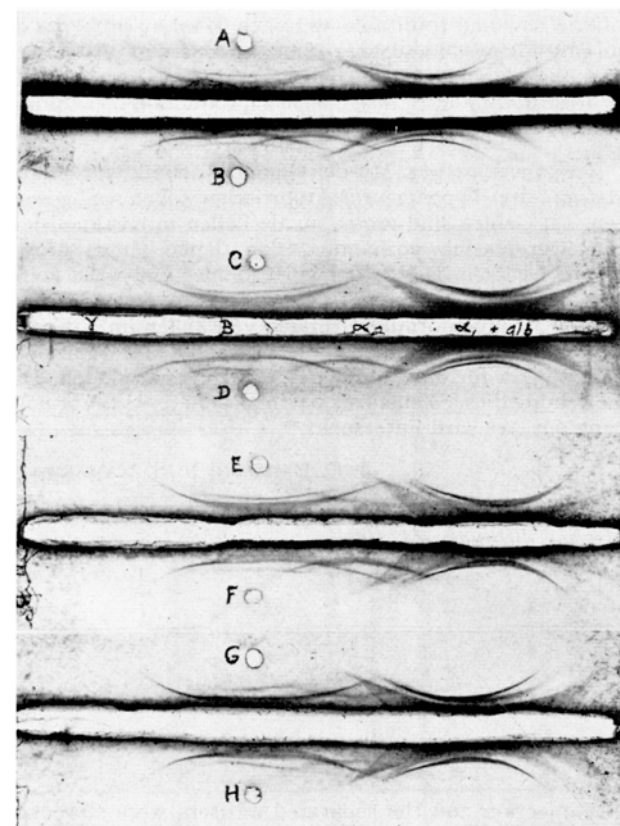
LOWE<sup>4</sup> recently reported that starch-gel electropherograms of sera from rats, between the 16th and 20th days after adjuvant injection, showed the appearance and subsequent disappearance of a protein migrating near the slow  $\alpha$ -2 globulin. In view of this, immunoelectrophoretic analyses of plasma from rats during the early course of the arthritic syndrome are currently in progress.

**Zusammenfassung.** Das Plasma-protein unbehandelter und mit Hydrocortison behandelter Ratten wurde 21 Tage nach Adjuvantinjektion immunoelektrophoretisch untersucht. Arthritische Ratten zeigten eine Zunahme von  $\beta$ -Globulinen bei Abwesenheit oder Abnahme von  $\alpha$ -Globulinen. Ein plasma-immunoelektrophoretischer Unterschied zwischen mit Hydrocortison behandelten Tieren und Kontrolltieren wurde nicht gefunden.

B. KLAMER

with the technical assistance of J. COOLEN

*Institute of Pathology, Free University of Amsterdam, (Netherlands), March 5, 1965.*



Immunoelectrophoretic patterns of plasmas from untreated, treated, and control rats. Plasmas A, C, and E are from rats of the untreated group, graded 4+, 2+, and negative, respectively, according to severity of arthritis prior to sacrifice. Plasma G is from a rat treated with hydrocortisone. Plasmas B, D, F, and H are from four different vehicle-control animals.

## Sur l'apparition de glucose-6-phosphatase dans le pancréas du rat blanc au cours du diabète alloxanique

Il a été signalé<sup>1-4</sup> que dans le pancréas du rat blanc normal, on ne trouve pas de glucose-6-phosphatase histo-chimiquement décelable. Or, beaucoup d'auteurs<sup>5-7</sup> attribuent un rôle important à cette enzyme dans la sécrétion de l'insuline et éventuellement dans la pathogénie du diabète. Il est vrai que cette enzyme est hautement spécifique pour les cellules B des îlots de Langerhans de divers animaux: lapin, souris, cobaye, chien, etc. C'est pourquoi l'étude de cette enzyme au cours du diabète mérite d'être entreprise dans le pancréas d'espèces où normalement elle est absente comme c'est le cas du rat blanc.

**Méthode.** Trente rats blancs mâles, de la race «Wistar», pesant chacun de 150 à 200 g après jeûne de 24 h, ont été rendus diabétiques. Le diabète était provoqué par une seule piqure intrapéritonéale d'alloxane «Roche», à rai-

<sup>1</sup> J. VERNE et P. PETKOV, *Annls. Endocr.* 22, 965 (1961).

<sup>2</sup> J. VERNE, R. WEGMANN, P. PETKOV et S. GUHA, *Annls. Histo-chim.* 6, 33 (1961).

<sup>3</sup> P. PETKOV, Thèse (en bulgare) (Sofia 1962), p. 134.

<sup>4</sup> W. GEPTS et D. TOUSSAINT, *Annls. Endocr.* 24, 688 (1963).

<sup>5</sup> S. S. LAZARUS, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 102, 303 (1959).

<sup>6</sup> S. S. LAZARUS, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 107, 819 (1959).

<sup>7</sup> B. HELLMAN et C. HELLERSTROM, *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* 56, 97 (1962).

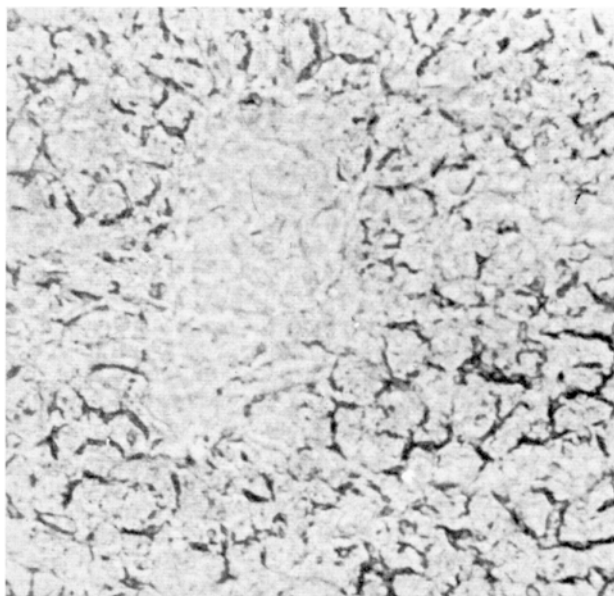


Fig. 1. Réaction de la glucose-6-phosphatase dans le pancréas du rat normal. Absence d'activité enzymatique ( $\times 64$ ).

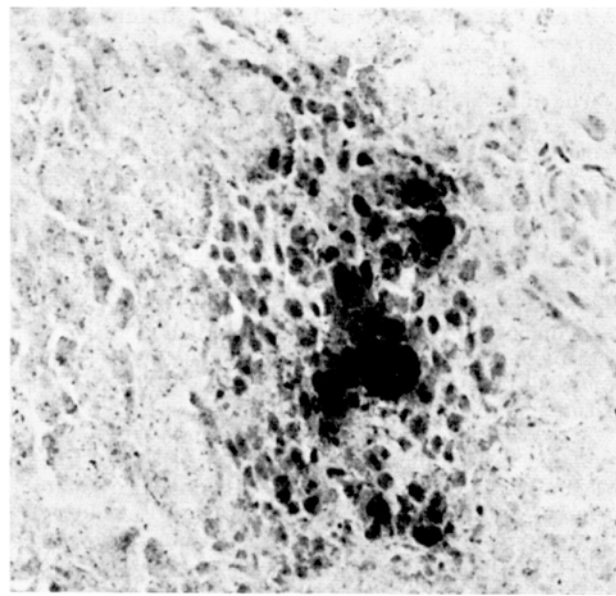


Fig. 2. Réaction de la glucose-6-phosphatase dans le pancréas d'un rat diabétique de 23 jours. Activité enzymatique dans un certain nombre de cellules B ( $\times 64$ ).

son de 150 mg dilué dans 2 cm<sup>3</sup> de NaCl à 0,85% par kg de poids corporel.

Les animaux furent sacrifiés avec un coup sur la tête et les pancréas ont été examinés dans différents délais de temps, entre 1 h et 35 jours. Les pancréas de dix animaux témoins vivant dans les mêmes conditions ont été également examinés. Les pancréas ont été prélevés immédiatement après le sacrifice, congelés dans l'azote liquide et coupés au cryotome de Harris (I.E.G.). La technique fut celle de CHIUOINE<sup>8,9</sup>. Le temps d'incubation était de 45 min. Comme substrat, on a utilisé le glucose-6-phosphate, sel de sodium. Certains pancréas de rats diabétiques étaient congelés, coupés et incubés simultanément sur une seule lamelle avec les pancréas de rat témoin, permettant ainsi un traitement tout à fait identique des coupes. La réaction du PAS pour la démonstration du glycogène était utilisée avec une préincubation de 3 h des coupes dans une solution de 1% de dimédon dans l'alcool absolu.

**Résultats.** Dans le pancréas des rats témoins, on ne trouve de glucose-6-phosphatase histochimiquement visible, même après une très longue incubation de 2 h, ni dans les îlots de Langerhans, ni dans le parenchyme exocrine et les canaux excréteurs. La réaction du PAS reste également négative dans tout le pancréas. Dans les îlots de Langerhans de rats alloxanisés, on observe, à partir du 7<sup>e</sup> jour, dans certains îlots, des cellules qui ont une activité glucose-6-phosphatasique. Ces cellules sont groupées par 2, 3 ou 4, mais on trouve également, dans les îlots, des cellules isolées positives. On observe cette activité seulement dans un cinquième ou un sixième de toutes les cellules insulaires. Il s'agit de cellules B. Chez les mêmes rats présentant un diabète alloxanique, on observe, dans le protoplasma de certaines cellules B, des granulations PAS positives.

**Discussion et conclusions.** L'apparition de glucose-6-phosphatase dans le protoplasma des cellules B des pancréas des rats rendus diabétiques est vraisemblablement due à une induction de cette enzyme qui n'existe pas chez les rats normaux. Cependant, il est bien difficile d'apprécier le rôle exact de la glucose-6-phosphatase dans la

cytophysiologie des cellules B, quoiqu'un rôle important lui ait été attribué dans la sécrétion d'insuline. L'apparition de la glucose-6-phosphatase au cours du diabète alloxanique coïncide avec un fait important: c'est l'apparition du glycogène dans le protoplasma des cellules B des îlots<sup>10-12</sup>.

Les biochimistes<sup>13-15</sup> qui étudient l'activité glucose-6-phosphatasique estiment que cette activité est tributaire de la concentration intracellulaire du glucose-6-phosphate. Il est bien possible que le glycogène qui apparaît au cours du diabète dans le protoplasma de certaines cellules B soit la source de cet hexose monophosphate qui dérive lui-même du premier catabolite du glycogène, le glucose-1-phosphate.

**Summary.** Glucose-6-phosphatase appears histochemically in B cells of pancreatic islets of alloxan diabetic rats. At the same time, glycogen can be detected in those cells.

P. PETKOV<sup>16</sup>, J. VERNE  
et R. WEGMANN

*Institut d'Histochimie Médicale de la Faculté de Médecine de Paris (France), le 24 mai 1965.*

<sup>8</sup> A. D. CHIUOINE, J. Histochem. Cytochem. 1, 429 (1953).

<sup>9</sup> A. D. CHIUOINE, J. Histochem. Cytochem. 3, 471 (1955).

<sup>10</sup> G. L. DUFF et W. E. TORESON, Endocrinology 48, 298 (1951).

<sup>11</sup> B. W. VOLV et S. S. LAZARUS, Diabetes 13, 60 (1964).

<sup>12</sup> W. E. TORESON, Am. J. Path. 27, 327 (1951).

<sup>13</sup> G. F. CAHILL, S. ZOTTU et A. S. EARLE, Endocrinology 60, 265 (1957).

<sup>14</sup> C. DE DUVE, J. BERTHET, H. G. HERS et L. DUPRET, Bull. Soc. Chim. biol. 31, 1242 (1949).

<sup>15</sup> G. WEBER et A. CANTERO, Cancer Res. 15, 679 (1955).

<sup>16</sup> Institut d'Histologie et d'Embryologie, Faculté de Médecine de Sofia (Bulgarie).