

response to light pulses is always greater during wakefulness. (3) When the light pulse is decreased by means of neutral density filters, a stimulus evoking a clear-cut discharge during wakefulness will become ineffective during synchronized sleep. The Figure shows an example of this. It can be seen that during synchronized sleep any cor-

relation between light stimulus and cell firing response is lost. (4) These effects are never seen when the responses of retinal cells are studied.

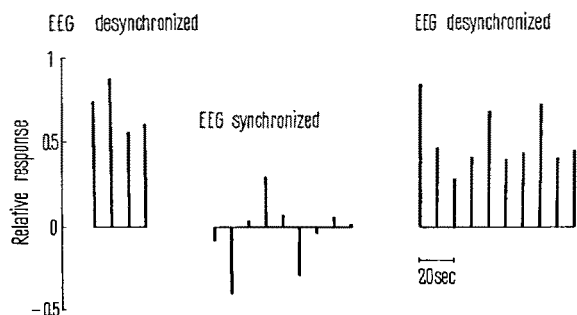
Our results lead to the conclusion that LGB units are strongly facilitated or disinhibited during wakefulness. This effect is *tonic* in nature, since it is constantly observed independently of the transition from synchronized sleep to wakefulness. Hence it appears to be related to a state of wakefulness rather than a phasic phenomenon of arousal⁵.

Riassunto. Registrazione microelettrica eseguita in gatti pretrigeminali dalla parte dorsale del nucleo geniculato laterale (LGB). Si dimostra che le cellule del LGB hanno una risposta maggiore in frequenza a brevi lampi di luce durante la veglia anziché durante il sonno sincronizzato.

L. MAFFEI and G. RIZZOLATTI

Istituto di Fisiologia dell'Università di Pisa e Centro di Neurofisiologia e Gruppo d'Elettrofisiologia del CNR, Sezione di Pisa (Italy), April 7, 1965.

⁵ This research was sponsored jointly by the Office of Scientific Research, EOAR, through the European Office, Aerospace Research, United States Air Force, under Grant AF EOAR 64-37.



Flashes of light 300 msec in duration, of constant intensity, were applied every 10 sec. Relative rate response (vertical scale) is given by $(x - \bar{x}) / \bar{x}$, where x is cell firing at the time of light pulse (the time of measure is 1 sec), and \bar{x} is average rate during 6 sec prior to pulse. The synchronization of the EEG occurred spontaneously, while the second state of desynchronization was provoked by olfactory stimulation.

Disparition de protéines urinaires spécifiques dans le syndrome néphrotique à la Puromycine¹

Les protéinuries pathologiques chez l'homme ont fait l'objet de nombreux travaux de recherches²⁻⁶. Les auteurs ont tous remarqué la présence d'une quantité élevée de protéines sériques dans l'urine des néphrotiques. Des lésions causées au filtre rénal semblent être à l'origine de ce phénomène^{2,3}.

Quant aux protéines urinaires spécifiques, qui ne proviennent pas du sérum, leur présence n'a été rapportée que sporadiquement dans l'urine humaine normale^{3,7,8}. La mucoprotéine de TAMM et HORSFALL⁹ et les deux estérases urinaires migrant électrophorétiquement dans la zone des α - et γ -globulines sont apparemment d'origine rénale³. Dans le présent travail, nous voulions suivre, étape par étape, les changements dans la composition et la nature des protéines urinaires au cours du développement de la néphrose expérimentale provoquée chez le rat par des injections de Puromycine¹⁰. Notre attention a été spécialement attirée vers l'étude des modifications immuno-chimiques des protéines urinaires spécifiques dans ce syndrome néphrotique.

Matériel et méthodes. Des rats mâles de souche Sprague-Dawley, pesant environ 100 g ont été divisés en deux groupes: témoins et néphrotiques; les premiers ayant reçu quotidiennement une injection sous-cutanée de 0,3 ml de solution physiologique (NaCl à 0,9%), les derniers 0,3 ml de Puromycine (contenant le 6-diméthylaminopurine, 3-amino-*d*-ribose, un aminonucléoside) à 0,5% pendant 14 jours consécutifs¹⁰. Aux 7^e et 14^e jours depuis le début de l'expérience, la moitié des animaux de chaque groupe

ont été placés dans des cages à métabolisme. Les urines de 24 h ont été recueillies et filtrées à travers le papier filtre Whatman no 1. Leur taux protéique a été ensuite mesuré au biuret¹¹. Elles ont été alors dialysées contre de l'eau distillée pendant 24 h et lyophilisées. Les animaux ont été ensuite sacrifiés par décapitation; leurs reins ont été prélevés et soumis à des examens histologiques.

L'analyse immunoelectrophorétique de l'urine normale et des urines pathologiques a été effectuée avec la poudre lyophilisée, à l'aide de l'appareil LKB, suivant la méthode décrite par GRABAR et WILLIAMS¹². Les protéines totales ont été colorées par le Rouge Ponceau S tandis

¹ Travail subventionné conjointement par le Conseil Médical de Recherches du Canada et du Ministère de la Santé du Québec.

² CH. DE VAUX ST. CYR, dans *Analyse immunoelectrophorétique: ses applications aux liquides biologiques humains* (Eds. P. GRABAR et P. BURTIN; Masson & Cie, 1960), p. 231.

³ CH. DE VAUX ST. CYR, G. HERMANN et N. TALAL, *Rev. fr. Etud. clin. biol.* 8, 241 (1963).

⁴ CH. DE VAUX ST. CYR, H. CLEVE et G. HERMANN, *Rev. fr. Etud. clin. biol.* 8, 485 (1963).

⁵ L. HARTMANN, G. LAGRUE et J. MORETTI, *Rev. fr. Etud. clin. biol.* 3, 1052 (1958).

⁶ M. F. JAYLE et G. BOUSSIER, *Bull. Soc. Chim. biol.* 36, 959 (1954).

⁷ G. H. GRANT, *J. clin. Path.* 12, 510 (1959).

⁸ P. PORTER, *J. comp. Path. Ther.* 74, 108 (1964).

⁹ I. TAMM et F. L. HORSFALL, *J. exp. Med.* 95, 71 (1952).

¹⁰ J. L. E. ERICSSON et G. A. ANDRES, *Am. J. Path.* 39, 643 (1961).

¹¹ M. DITTERBRANDT, *Am. J. clin. Path.* 18, 439 (1948).

¹² P. GRABAR et C. WILLIAMS, *Biochim. biophys. Acta* 17, 67 (1955).

que les glycoprotéines ont été identifiées d'après la technique d'URIEL¹³.

Les immunosérums anti-sérum normal et anti-urine normale de rat, utilisés dans cette étude, ont été préparés chez les lapins suivant la méthode de LESKOWITZ et WAKSMAN¹⁴. Afin de débarrasser des anticorps anti-protéines sériques qui s'y trouvaient sous forme d'impuretés, les immunosérums anti-urine normale ont été absorbés par le sérum normal jusqu'à l'épuisement complet, suivant la technique décrite par HEIDELBERGER et KENDALL¹⁵. Seules les protéines urinaires spécifiques qui ne provenaient pas du sérum, réagissaient encore avec les immunosérums anti-urine normale ainsi purifiés.

Résultats et discussion. Dès le 7^e jour depuis le début de l'expérience, les rats du groupe néphrotique ont déjà montré une protéinurie marquée qui n'a pas cessé d'accroître les jours suivants pour atteindre une valeur considérable à la fin de l'expérience (Tableau). Le phénomène s'est produit parallèlement avec les changements morphologiques du tissu rénal. En effet, nous avons déjà noté un début d'hyalination glomérulaire, quelques adhérences capsulaires ainsi qu'un léger dépôt d'exsudat dans les espaces de Bowman, lors de l'examen histologique de reins prélevés au 7^e jour, chez les rats qui ont reçu quotidiennement une injection sous-cutanée de Puromycine. L'aspect pathologique du groupe néphrotique est devenu plus marqué dans les reins prélevés au 14^e jour, avec l'atrophie des tubules et la présence de fibrose entre les glomérules. La filtration rénale, à ce moment-là, était fortement endommagée; il en résultait la fuite massive des protéines sériques dans l'urine (Tableau).

Dans un travail antérieur, nous avons démontré la présence de 10 protéines dans l'urine normale de rat; parmi lesquelles, l'albumine, deux α_1 -globulines, une β -globuline et la γ -globuline proviennent du sérum; les autres protéines urinaires qui ne présentent aucune relation antigénique avec les protéines sériques sont donc spécifiques, elles sont apparemment d'origine rénale¹⁶. Chez les rats néphrotiques, la fuite des protéines sériques dans l'urine s'est manifestée par une protéinurie grave où l'on pouvait identifier à l'aide de l'analyse immuno-électrophorétique un grand nombre de protéines sériques dont quelques unes s'y trouvaient normalement en quantité négligeable, et remarquer une albuminurie fortement

élevée. Chez l'homme, la même observation a été rapportée par plusieurs équipes de chercheurs dans différents syndromes néphrotiques^{2,3,5,6}. On a généralement attribué ce phénomène à des lésions causées au filtre rénal^{2,5}. D'après HARTMANN et al.⁶, la présence augmentée de protéines sériques dans les urines pathologiques est la conséquence commune de plusieurs syndromes néphrotiques, quelle que soit leur étiologie.

L'analyse immunoélectrophorétique des urines normales et pathologiques, révélées par les immunosérums anti-urine normale qui avaient été préalablement absorbés par le sérum normal, a mis en évidence une différence qualitative et quantitative dans la composition protéique des urines. En effet, nous avons noté la disparition de trois protéines urinaires spécifiques possédant les mobilités électrophorétiques des ρ_1 - et ρ_2 -protéines et de l' α_2 -globuline. Seules l'uoprotéine principale et l' α_0 -glycoprotéine ont survécu au cours du développement de la néphrose à la Puromycine. Il nous a fallu augmenter dix fois la quantité d'urine lyophilisée de rats néphrotiques (soit 30 mg de protéines pour une seule prise d'essai, comparativement à 3 mg de protéines pour l'urine normale) pour déceler les lignes de précipitation sur les plaques d'immunoélectrophorèse (Figure), tenant compte de la forte protéinurie et de la présence massive des protéines sériques dans l'urine pathologique (Tableau). Ainsi, la disparition partielle des protéines urinaires spécifiques dans la néphrose expérimentale constituait un phénomène particulier se produisant dans la direction inverse avec le mouvement des protéines sériques dans l'urine pathologique (Tableau et Figure).

BOROWSKY et al., dans l'étude de la glomérulonéphrite chronique provoquée chez le rat par des injections de l'aminonucléoside dérivant de la Puromycine, ont conclu à l'aide de données biochimiques, que la synthèse protéique au niveau des glomérules était effectivement inhi-

¹³ J. URIEL, dans *Immuno-electrophoretic Analysis* (Ed. P. GRABAR and P. BURTIN; Elsevier Publishing Co., 1964), p. 30.

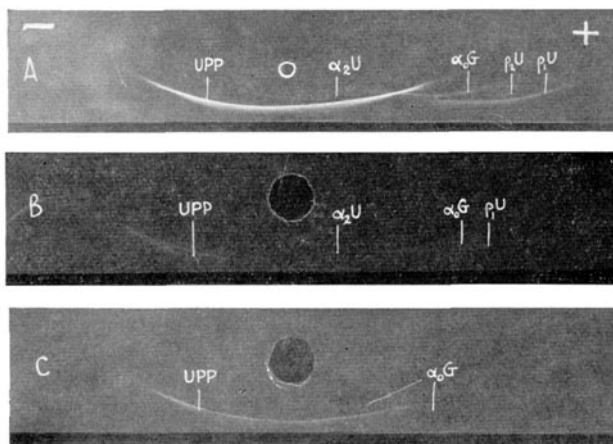
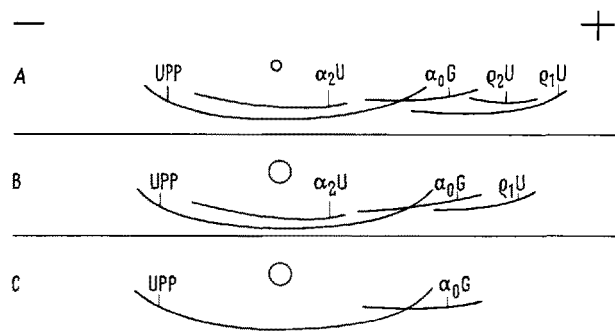
¹⁴ S. LESKOWITZ et B. H. WAKSMAN, *J. Immunol.* 84, 58 (1960).

¹⁵ M. HEIDELBERGER et F. E. KENDALL, *J. exp. Med.* 61, 559 (1935).

¹⁶ B. L. DINH, A. TREMBLAY et D. DUFOUR, *J. Immunol.*, in press.

Tableau montrant les résultats du dosage de la protéinurie, de l'analyse immunoélectrophorétique et de l'examen histologique du tissu rénal au cours de l'expérience

Groupes expérimentaux	Traitements	Jour depuis le début de l'expérience	Protéinurie (mg protéines/100 g poids corporel/24 h)	Analyse immunoélectrophorétique		Aspect morphologique du tissu rénal
				Présence de protéines sériques dans l'urine	Nombre de protéines urinaires spécifiques décelé	
Témoins	0.3 ml NaCl 0.9% sous-cutanée/jour, pendant 14 jours	7 ^e	18,6 \pm 2,9	faible	5	Normal
		14 ^e	22,1 \pm 3,6	faible	5	Normal
Néphrotiques	0.3 ml Puromycine 0.5% sous-cutanée/jour, pendant 14 jours	7 ^e	79,0 \pm 17,1	forte	4	Début d'hyalination des glomérules. Adhérence capsulaire
		14 ^e	172,0 \pm 18,7	très forte	2	Atrophie des tubules. Début de fibrose entre les glomérules



Analyse immunoélectrophorétique des urines de rats normaux (A) et de rats néphrotiques après 7 jours (B) et après 14 jours d'expérience (C), révélée par l'immunsérum anti-urine normale qui a été préalablement absorbé par le sérum normal de rat. ρ_1 U, ρ_1 -protéine urinaire; ρ_2 U, ρ_2 -protéine urinaire; α_0 G, α_0 -glycoprotéine urinaire; α_2 U, α_2 -globuline urinaire; UPP, uroprotéine principale. On remarque particulièrement la nette diminution en nombre et en quantité de protéines urinaires spécifiques dans les urines pathologiques.

bée¹⁷. Des lésions rénales qui en résultaient, pouvaient être aussi causées par une phosphorylation mitochondriale défectueuse, due à l'action de l'aminonucleoside¹⁸. La disparition de trois protéines urinaires spécifiques pourrait être expliquée soit par le mécanisme d'inhibition compétitive de la synthèse protéique soit par une modification structurale de la moule ARN (acides ribonucléiques) servant à la synthèse des protéines urinaires spécifiques, ou bien par la défection d'un système enzymatique responsable de la synthèse des protéines urinaires disparues, au cours de la néphrose à la Puromycine.

Il nous paraît assez clair que les protéines urinaires ont suivi parallèlement deux mouvements de sens inverse au cours du développement de la néphrose à la Puromycine chez le rat: d'une part l'augmentation des protéines sériques dans l'urine, et de l'autre, la disparition partielle des protéines urinaires spécifiques. Le premier phénomène présente peu d'intérêt à cause de son caractère commun avec plusieurs syndromes néphrotiques d'étiologies différentes, mais le dernier revêt une importance considérable au point de vue diagnostic si on tient compte de l'origine rénale des protéines urinaires spécifiques. Les modifications de ces dernières, s'effectuant en étroite relation avec les changements morphologiques du tissu

rénal, nous informent indirectement sur la nature des lésions causées aux cellules rénales¹⁹.

Summary. The disappearance of three specific urinary proteins has been demonstrated in relation to morphologic changes in renal structures during the development of amino-nucleoside nephrosis in rats.

B.-L. DINH, A. TREMBLAY,
A. BRASSARD et D. DUFOUR²⁰

Département de Biochimie et Centre de Biomédecine,
Faculté de Médecine, Université Laval, Québec
(Canada), le 29 Décembre 1964.

¹⁷ B. A. BOROWSKY, D. M. KESSNER, W. S. HARTROFT, L. RECANT et M. B. KOCH, *J. lab. clin. Med.* 57, 512 (1961).

¹⁸ P. BARTLETT, J. KEEGAN et H. SCHAEFER, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 112, 96 (1963).

¹⁹ B. L. DINH, A. TREMBLAY, A. BRASSARD et D. DUFOUR, in preparation.

²⁰ Nous remercions Mademoiselle P. GAGNON pour sa collaboration technique.

Descending Pathways with Monosynaptic Action on Motoneurons

Alpha motoneurons in the cat receive monosynaptic EPSPs not only from Ia afferents but also from axons descending in the ipsilateral ventrolateral funiculi¹. The present investigation was undertaken in order to disclose the origin of the descending pathway having a monosynaptic connection with motoneurons. In unanesthetized anaemic decorticate cats, paralysed with Flaxedil, intracellular recordings were performed from about 500 motoneurons, identified by antidromic stimulation of their axons at a peripheral level.

Three different series of experiments were performed. In the first series on acute spinal cats, the dissected ven-

trolateral funiculi were stimulated in the lower thoracic region. Single shocks, 0.05 msec in duration, produced a descending volley which was conducted at 100 m/sec and evoked monosynaptic EPSPs in both flexor and extensor motoneurons (central latency 0.4–0.5 msec). 83% of the motoneurons received monosynaptic impingement. The average amplitude of the maximal supraspinal monosynaptic EPSP was about 25% of the average amplitude of the maximal monosynaptic Ia EPSP recorded from both extensor (Figure 1, A–D) and flexor (Figure 1, E–H) motoneurons. In one animal with hemisection of the cord

¹ E. EIDE, A. LUNDBERG, and P. VOORHOEVE, *Acta physiol. scand.* 53, 185 (1961).