

in der durch Diäthylnitrosamin induzierten Krebszelle gestört. Dieses Ergebnis entspricht den Befunden von RYAN und ENGEL bei *p*-Dimethylaminoazobenzol-induzierten Hepatomen<sup>10</sup>. Auch bei den Untersuchungen von BREUER und Mitarbeitern<sup>11</sup> ist die Oxydation von Östradiol zu Östron in Diäthylnitrosamin-induzierten Hepatomen erniedrigt. Dass das nicht im gleichen Ausmass wie bei unseren Versuchen der Fall ist, mag darin liegen, dass BREUER et al. 4mal solange und in Anwesenheit von Glukose inkubiert haben.

Diese an Gewebeschnitten erhobenen Befunde entsprechen in ihrer Tendenz den In-vivo-Untersuchungen über die Oxydation von Östradiol-17 $\alpha$ -T (vgl. Figur).

Ratten mit Leberkarzinom zeigen ebenfalls eine Reduktion der Östradiol-Oxydation, die wahrscheinlich durch den teilweisen Ausfall (20–50% Tumormasse in der Leber) von Lebergewebe bedingt ist. Diese Verminderung der Östradiol-Oxydation in vivo ist jedoch weit weniger ausgeprägt als die Verminderung bei den Hepatomschnitten. Offensichtlich reicht bei den In-vivo-Versuchen der Restbestand an normalem Lebergewebe aus, um das Östradiol fast mit normaler Geschwindigkeit zu oxydieren.

Wir konnten ja bereits früher zeigen, dass die Kapazität der Östradioloxydation in vivo selbst bei der Injektion von 2,6 mg/kg bei weitem nicht ausgelastet ist.

Die Ursache der verminderten Östradiol-Oxydation im Hepatomgewebe konnte bisher nicht aufgeklärt werden.

**Summary.** In liver-tissue of female rats estradiol-17 $\alpha$ -T is oxydized by NAD or NADP, yielding the tritium-labelled coenzymes NAD-T or NADP-T which can transfer the tritium to androstendione. So tritium-labelled androstendiol is obtained. Of the added activity 10–30% is oxydized to water. In diethylnitrosamine-induced hepatomas estradiol-17 $\alpha$ -T is oxydized to tritium-water in a comparatively small amount and no transport of the tritium to reduction-products of androstendions occurs. Testing the in-vivo-oxydation of estradiol in normal female rats and in females with hepatoma with the aid of the 'Stoffwechsel-labil' labelling (measuring the specific activity of tritium in body-water after injecting estradiol-17 $\alpha$ -T) a lower oxydation-rate was also found in rats with hepatoma than in normal rats.

M. WENZEL und K. FOLLOW<sup>\*</sup>

*Physiologisch-Chemisches Institut der Freien Universität, 1 Berlin-Dahlem (Deutschland), 15. Dezember 1967.*

<sup>10</sup> K. RYAN und L. ENGEL, *Endocrinology* 52, 277 (1953).

<sup>11</sup> H. BREUER, J. BREUER und D. SCHMÄHL, *Z. Krebsforsch.* 67, 247 (1965).

## Importance de l'étude des transferrines sériques dans la différenciation des espèces. Résultats acquis dans le genre *Anguilla*

L'histoire de l'Anguille, de ses migrations, de sa reproduction, ont donné lieu à un nombre important de travaux. D'excellents ouvrages ont exposé les faits dans leur ensemble<sup>1-3</sup>.

Des moyens nouveaux d'investigations, en particulier l'étude des protéines génétiquement transmises, permettent une meilleure connaissance des populations animales et peuvent éclairer certains problèmes d'une optique nouvelle.

Une protéine sérique particulière, la Transferrine (ou Sidérophiline), caractérisée par sa capacité de fixation et de transport du Fer dans l'organisme, en est un exemple.

On sait en effet, depuis les travaux de SMITHIES en 1959<sup>4</sup> que l'analyse par électrophorèse en gel d'amidon, d'un sérum marqué au Fe<sup>59</sup>, permet de distinguer, à l'intérieur d'une même espèce, plusieurs variétés ou «types» de transferrines différant entre eux par leur mobilité électrophorétique.

La pluralité des types de la Transferrine entraîne des différences entre individus d'une même espèce, différences génétiquement transmises et identifiant chaque individu par son «phénotype» de transferrine.

Analogues aux groupes sanguins, ces groupes sériques peuvent permettre de comparer des populations (ou des races) du point de vue de la répartition de ces phénotypes: deux populations ayant une répartition identique de leurs groupes de transferrines peuvent être considérées comme identiques par ce critère.

De tels groupes de transferrines sont bien connus chez l'homme, chez de nombreux mammifères (primates, équidés, bovidés, ovidés, etc.) et, plus récemment, ont pu être mis en évidence chez certains reptiles et amphibiens<sup>5</sup>.

Dès 1960<sup>6</sup> nous avons étendu cette notion de différences entre individus d'une même espèce en montrant l'existence

de variations individuelles portées par les  $\beta$  globulines chez *Anguilla anguilla*. Puis en 1964<sup>7</sup> nous avons pu confirmer, par l'emploi des techniques isotopiques et autoradiographiques utilisant le Fer 59, que le support de ces variations individuelles étaient bien la Transferrine.

Ainsi, chez *A. anguilla*, il existe 3 transferrines principales différant entre elles par leur mobilité électrophorétique. Celles-ci sont, par ordre de mobilité décroissante: la TfA, la TfB et la TfC. Une autre Transferrine, très rare et plus rapide que la TfA a reçu le nom de TfD.

Les phénotypes que nous avons observés sont actuellement au nombre de 9: A, B, C, AB, BC, AC, ABC, DA et DAB (voir Figure). Ces phénotypes sont mis en évidence par simple électrophorèse sur papier, en tampon véronal-lactate de calcium pH 8,6 après avoir préalablement marqué le sérum par addition de 30  $\mu$ l/ml d'une solution de 59 Fe Cl<sup>3</sup> d'activité spécifique de 10  $\mu$ Ci/ml.

Après électrophorèse et fixation de la bande de papier, par une source d'infra-rouge, on effectue une révélation autoradiographique des zones ayant fixé le Fer, dévoilant ainsi le phénotype de transferrine de l'individu examiné.

<sup>1</sup> J. SCHMIDT, Rapport Cons. perm. Int. Exp. Med. (Copenhague 1906).

<sup>2</sup> H. BERTIN, *Les Anguilles* (Payot, Paris 1942).

<sup>3</sup> H. BERTIN, *Eels. A Biological Study* (Cleaver-Hume, London 1956).

<sup>4</sup> O. SMITHIES et O. HILLER, *Biochem. J.* 72, 121 (1959).

<sup>5</sup> H. C. DESSAUER, W. FOX et Q. L. HARTWIG, *Comp. Biochem. Physiol.* 5, 17 (1962).

<sup>6</sup> A. DRILHON et J. M. FINE, *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris* 250, 4044 (1960).

<sup>7</sup> J. M. FINE, A. DRILHON, P. AMOUCH et G. A. BOFFA, *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris* 258, 753 (1964).

Dans un premier temps, nous étudié les Anguilles de la Côte Française ouest (Atlantique-Manche). Les résultats acquis par l'étude d'échantillons de provenances différentes dans des temps différents, n'ont pas montré de variations importantes dans la répartition des phénotypes. Notre statistique actuelle porte sur 142 individus (voir Tableau).

Nous avons alors étendu nos recherches aux anguilles du Bassin de la Méditerranée<sup>8</sup>.

Une première population, pêchée à Sète, nous a permis de constater des différences importantes de répartition des phénotypes entre ces anguilles d'origine méditerranéenne et celles provenant de l'Atlantique. Ces différences portent sur l'absence du phénotype A et du phénotype AC, l'existence d'un fort pourcentage (12,8%) de phénotype ABC. Un autre phénotype AD, plus rapide que la Transferrine A, est aussi mis en évidence.

Ces différences de répartition entre ces 2 populations atlantique et méditerranéenne posent le problème de l'existence possible d'une aire méditerranéenne de reproduction.

De très longue date ce sujet a passionné les chercheurs. GRASSI et MAZZARELLI<sup>9,10</sup> ont émis l'hypothèse d'une aire de reproduction méditerranéenne en se basant d'une part sur des similitudes écologiques entre la Mer des Sargasses et les Mers Ionienne et Tyrrhénienne et, d'autre part, sur l'existence en Méditerranée de rares leptocéphales de 30 mm de long.

Plus récemment, ECKMANN<sup>11</sup>, au contraire, considère la Méditerranée comme un «piège à anguilles» dans lequel celles-ci vivent et meurent sans se reproduire.

Des quantités considérables d'anguilles, se chiffrant par des milliers de tonnes, sont pêchées annuellement sur les côtes italiennes et grecques et aucune prise importante n'a été réalisée au moment de la migration catadrome, dans le détroit de Gibraltar. Cependant, depuis les travaux de SCHMIDT<sup>12</sup>, une seule aire de ponte (Mer des Sargasses) est admise comme lieu unique de reproduction de l'Anguille européenne et américaine.

Nous avons alors étudié les transferrines d'un lot d'anguilles de Méditerranée plus orientale, pêchées en Mer Ionienne dans le Golfe d'Ambraïkos, au débouché du fleuve Louros.

Ces anguilles avaient une livrée de migration caractéristique des animaux proches de la reproduction, à savoir: une extension importante des pigments mélaniques avec un dos noir brillant et une argente vive réduite à une simple ligne ventrale. La tête longue a une lèvre inférieure très prognathe et des nageoires pectorales noires dressés. Cet aspect n'est jamais rencontré chez les anguilles d'avalaison occidentales mais correspond à celui qui fut décrit par M. FONTAINE<sup>13,14</sup> dans son étude sur la matura-

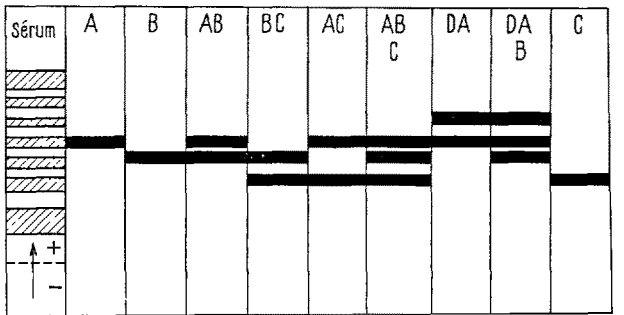
tion expérimentale de l'anguille traitée par des extraits hypophysaires et hormonaux, aux seules différences de l'œil dilaté caractéristique de l'hyperthyroïdie, du pore génital congestif, du squelette décalcifié; symptômes qui précèdent de peu la ponte.

Le lot d'anguilles étudiées ici offrait une grande diversité de poids allant de 400 g à plusieurs kg avec des rapports gonosomatiques variés (compris entre 1 et 5); l'intestin était vide mais non atrophié, les animaux vigoureux gardés en eau de mer aérée et renouvelée, le volume sanguin était réduit par rapport aux animaux pêchés en eau douce.

Ces 2 populations montrent une fréquence identique des phénotypes AB et BC. Elles diffèrent par une fréquence plus élevée du phénotype B (47% contre 34%) et par l'absence du phénotype ABC. On note, par ailleurs, des différences portant sur la répartition du phénotype A et du phénotype AD, mais celles-ci ne sont pas significatives (voir Tableau).

Les différences observées entre ces 2 points de la Méditerranée peuvent amener à concevoir l'existence de races différentes à l'intérieur d'une même espèce et précisent la notion d'homogénéité ou d'hétérogénéité au sein d'une population animale.

L'aire de ponte des anguilles américaines (*A. rostrata*) se trouve un peu au sud et à l'ouest de l'aire de ponte des anguilles européennes (*A. anguilla*). Des zones concen-



Répartition géographique des phénotypes de transferrines dans le genre *Anguilla anguilla*

Espèce	No. d'indi- vidus	A	B	AB	BC	AC	ABC	AD	ABD	C
<i>A. anguilla</i>	142	12	43	48	28	8	2	n.o.	1	n.o.
Atlantique France	%	8,45	30,3	33,8	19,70	5,63	1,4	—	0,7	—
<i>A. anguilla</i>	47	n.o.	16	14	10	n.o.	6	1	n.o.	n.o.
Méditerranée (Sète) France	%	—	34	30	21	—	12,8	2	—	—
<i>A. anguilla</i>	46	1	22	13	10	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.
Méditerranée (Prevezza) Grèce	%	2,17	47,80	28,26	21,73	—	—	—	—	—
<i>A. rostrata</i>	105	n.o.	79	10	14	n.o.	1	n.o.	n.o.	1
Amérique du Nord	%	—	75,25	9,52	13,33	—	0,95	—	—	0,95

n.o., non observé.

<sup>8</sup> A. DRILHON, J. M. FINE, G. A. BOFFA et P. AMOUCH, C. r. hebdom. Séanc. Acad. Sci., Paris 262, 1315 (1966).

<sup>9</sup> B. GRASSI, Mem. R. Com. Talass. Ital., Venise 27 (1914), cité en<sup>2</sup>.

<sup>10</sup> G. MAZZARELLI, Rev. Idrobiol. Pesca, Pavie 9, 16 (1914).

<sup>11</sup> S. ECKMANN, Zoogeografica. 1, 85 (1932).

<sup>12</sup> J. SCHMIDT, C. r. hebdom. Séanc. Acad. Sci., Paris 179, 729 (1924).

<sup>13</sup> M. FONTAINE et O. TUZET, Archs Zool. exp. gén. 78, 199 (1937).

<sup>14</sup> M. FONTAINE et E. BERTRAND, C. r. hebdom. Séanc. Acad. Sci., Paris 259, 2907 (1964).

triques de reproduction des 2 espèces se chevauchent si bien que l'hypothèse d'une seule et unique espèce peuplant les côtes de l'Europe a été posée<sup>15</sup>. La longue migration catadrome d'*Anguilla anguilla* pour parvenir à son lieu de reproduction a été mise en doute. Pourtant quelques légères différences anatomiques les identifient (nombre de vertèbres, myomères).

L'étude de la répartition des phénotypes de transferrines sur 2 lots équivalents de ces espèces était donc d'un grand intérêt. Comme le montre le Tableau, il existe des différences très considérables dans la répartition des phénotypes chez ces 2 espèces<sup>16</sup>: le phénotype B, qui a une fréquence de 30,3% chez *A. anguilla*, est beaucoup plus répandu chez *A. rostrata* atteignant, chez cette espèce, une fréquence de 75,25%.

Le phénotype A et le phénotype AC, ayant des fréquences respectivement de 8,45% et 5,63% chez *A. anguilla* n'ont pas été observés chez *A. rostrata*.

Le phénotype AB, qui a une fréquence de 33,8% chez *A. anguilla*, est beaucoup plus rare chez *A. rostrata* (fréquence de 9,52%).

Le phénotype BC (fréquence 19,70%) chez *A. anguilla*, est également plus rare (fréquence 13,33%) chez *A. rostrata*.

Enfin, chez *A. rostrata*, nous avons pu observer un phénotype C très rare puisque non encore observé jusqu'alors parmi les anguilles que nous avons étudiées. S'il existe des différences considérables entre la fréquence de ces phénotypes de transferrines chez ces 2 espèces, notons cependant que sur le plan immunologique, la structure de la transferrine de *A. anguilla* et de *A. rostrata* apparaît identique. L'examen comparatif du sérum d'*Anguilla anguilla* et d'*Anguilla rostrata*, marqués au <sup>59</sup>Fe et examinés en double diffusion en gélose par un immun sérum anti-sérum d'*Anguilla anguilla*, montre après révélation autoradiographique des lignes de précipitation spécifiques de la transferrine, une réaction d'identité immunologique de la transferrine de ces 2 espèces.

Des résultats obtenus dans le même temps par Sick et al.<sup>17</sup> sur la présence d'un allèle de l'hémoglobine présent seulement chez *A. rostrata*, apporte un argument supplémentaire en faveur de l'autonomie de ces 2 espèces.

Les anguilles qui ont dû prendre naissance dans les mers chaudes et salées de la Mesogée sont probablement restées fidèles aux conditions ancestrales; d'où leur migration ontogénétique vers les mers chaudes. On ne peut qu'évoquer l'ancienne hypothèse<sup>18,19</sup> selon laquelle la mer des Sargasses s'est réalisée par un effondrement progressif d'ouest en est d'un continent ancien.

On comprend que 2 espèces distinctes, existant l'une à l'ouest, l'autre à l'est de ce continent, se soient trouvées alors mélangées. L'américaine est restée proche de son

lieu d'origine alors que l'europpéenne a dû s'adapter à des distances de migration de plus en plus longues à la suite de ces événements géologiques.

Signalons que les œufs d'*Anguilla anguilla* possèdent des globules graisseux et un vitellus abondant alors que les œufs d'*Anguilla rostrata* en sont dépourvus; adaptation qui paraît, sans être finaliste, faciliter la continuité de l'espèce<sup>20</sup>.

**Conclusions.** En conclusion, l'existence chez l'anguille d'un système de groupes sériques porté par la transferrine, permet de montrer des différences dans la répartition des phénotypes de ces groupes d'une part chez 2 espèces d'anguilles (*A. anguilla* et *A. rostrata*) jusqu'alors considérées par certains auteurs comme identiques et, d'autre part, d'observer des différences à l'intérieur d'une même espèce (*A. anguilla*), selon l'origine géographique des populations étudiées<sup>21</sup>.

**Summary.** A study of transferrins of the eel by paper electrophoresis, using a serum labelled with Iron 59, was carried out on 340 different individuals. The phenotypes of transferrins thus determined are differently distributed in the European eel (*Anguilla anguilla*) and in the American eel (*A. rostrata*); the difference between these 2 species is thereby made clear. Within the same species (*A. anguilla*), it is also possible to observe different distributions of phenotypes according to the geographical origin of the individuals under study (French Atlantic coasts, French and Greek Mediterranean coasts).

ANDRÉE DRILHON et J. M. FINE

Laboratoire de physiologie des êtres marins, Institut Océanographique, Paris 5e et Laboratoire d'Immunochimie, Centre National de Transfusion Sanguine, Paris 15e (France), 15 novembre 1967.

<sup>15</sup> D. TUCKER, Nature 183, 495 (1959).

<sup>16</sup> J. M. FINE, A. DRILHON, G. RIDGWAY et G. A. BOFFA, C. r. hebdomadaire Séances Acad. Sci., Paris 265, 58 (1967).

<sup>17</sup> K. SICK, E. BAHN et O. FRYDENBERG, Nature 214, 1141 (1967).

<sup>18</sup> H. GERMAIN, L. JOUBIN et E. LE DANOIS, Géographie 39, 281 (1923).

<sup>19</sup> E. LE DANOIS, L'Atlantique: Histoire d'un Océan (Payot, Paris 1938).

<sup>20</sup> M. POLAND-FISH, Zoologica 5, 289 (1927).

<sup>21</sup> Remerciements: Nous remercions très vivement les Docteurs LEMOS et ANTONATOS (Grèce) pour leur hospitalité et le Docteur G. RIDGWAY (Booth Bay Harbor-Maine (USA) qui nous a adressé des échantillons d'*Anguilla rostrata*.

## Effects of Ornithine<sup>8</sup>-Oxytocin and Ornithine<sup>8</sup>-Vasopressin on the Permeability of Toad Skin

BOURGUET and MAETZ<sup>1</sup> have proposed that neurohypophyseal hormones may act on amphibian target organs in 2 ways, exerting a hydrosmotic and a natriuretic effect. Across the amphibian skin this leads to increased water movement in 2 ways, one by virtue of increased permeability whereby a more rapid osmotic flow occurs, and the other by virtue of increased sodium transport whereby an additional gradient is generated and more water accompanies the sodium. It has been suggested<sup>2</sup> that the skin of the live toad *Bufo melanostictus* offers, by virtue of its capacity to respond in these 2 ways, a

means of investigation of the hydrosmotic and natriuretic effects of neurohypophyseal peptides and their analogues.

Hydrated toads, having the cloaca occluded, and kept either in distilled water or in 0.1% sodium chloride, showed a steady rate of fluid uptake across the skin. When vasotocin or similar peptides were injected i.m. the rate of fluid uptake was augmented, and this increase

<sup>1</sup> J. BOURGUET and J. MAETZ, Biochim. biophys. Acta 52, 552 (1961).

<sup>2</sup> A. B. ELLIOTT, Experientia 23, 220 (1967).