

Étude de la succinocytochrome-C-réductase et de la cytochrome-C-oxydase dans le cerveau du Rat au cours du développement

La biochimie du développement cérébral a fait l'objet de nombreuses recherches chez le Rat à la période postnatale, mais à notre connaissance peu de travaux ont été réalisés chez le fœtus.

Durant le développement intra-utérin, les synthèses sont très importantes; au niveau du cerveau par exemple on observe un maximum de synthèses protéiniques au 16^e jour de la gestation. Rappelons que toute synthèse animale nécessite un apport d'énergie qui est en général fourni par les molécules d'ATP formées par l'oxydation de divers substrats. On devrait observer une forte activité enzymatique des constituants de la chaîne respiratoire et une importante oxydation des substrats producteurs d'ATP. Cependant plusieurs constatations vont à l'encontre de ces hypothèses: Chez le Rat le glucose est la principale source d'énergie, KOREN et al.¹ ayant montré que les acides gras naturels franchissent en très faible quantité le placenta. La glycolyse anaérobie n'est pas augmentée chez le fœtus de rat². De plus il présente une grande résistance à l'anoxie³. Il est également bien établi que la saturation en oxygène du fœtus est inférieure à celle du nouveau-né à terme.

Toutes ces observations nous ont amené à nous poser le problème de l'origine de l'énergie nécessaire au fœtus pour ses nombreuses synthèses, et c'est la raison pour laquelle nous nous sommes proposé d'étudier certaines enzymes de la chaîne respiratoire: La cytochrome-c-oxydase (EC 1.9.3.1.) et la succinocytochrome-c-réductase (complexe II, III). Nous rapportons ici, l'évolution de l'activité enzymatique de ces deux enzymes dans les

hémisphères cérébraux du rat à partir du 14^e jour de gestation jusqu'au 10^e jour de vie postnatale.

Matériel et méthodes. Nous utilisons des rattes de race Sherman et les portées sont normalisées à 6 animaux. Les animaux sont sacrifiés par décapitation et les organes prélevés sur glace. On effectue un homogénat à 10% dans du tampon phosphate de potassium 0,1 M, pH 7. Les protéines sont dosées selon la méthode de LOWRY⁴.

L'activité spécifique de la cytochrome-c-oxydase (COX) est mesurée selon la technique de WHARTON et TZAGALOFF⁵. L'activité spécifique est exprimée en μM de cytochrome-c oxydé par min par mg de protéines de l'homogénat ou par g de tissu frais. La mesure de l'activité de la succinocytochrome-c-réductase (SCR) est effectuée en utilisant la méthode de TISDALE⁶. Les résultats sont exprimés en μM de ferricytochrome-c réduit par mg de protéines de l'homogénat ou par g de tissu frais.

Résultats. L'activité spécifique de la COX (Figure 1b) faible au 15^e jour de la gestation (0,013 μM de cytochrome-c oxydé/min/mg de protéines), s'élève irrégulièrement jusqu'au 5^e jour de vie postnatale pour atteindre la valeur de 0,077 μM . Entre le 5^e et le 10^e jour, on observe une légère diminution. L'activité exprimée en μM de cytochrome-c oxydé/min/g de tissu frais varie de façon identique (Figure 1a).

L'activité spécifique de la SCR (Figure 2b) est élevée au 15^e jour de la gestation et atteint sa valeur maximum au 17^e jour (0,063 μM de cytochrome-c réduit/min/mg de protéines). Ensuite l'activité chute rapidement puisqu'entre le 17^e jour et le 19^e jour de la gestation elle passe de 0,063 μM à 0,008 μM soit près de 8 fois moins. Les jours suivants l'activité enzymatique est faible et identique à celle observée au 19^e jour de la gestation.

La courbe d'activité exprimée par g de tissu frais (Figure 2a) montre le même profil que précédemment avec un pic d'activité plus net le 17^e jour de la gestation.

Discussion. Il est intéressant, lorsque l'on étudie le développement d'une activité enzymatique, de considérer des espèces présentant des durées de gestation variables et, de ce fait, des degrés de maturité différents à la naissance.

Chez le porc, FLEXNER^{7,8} a constaté une augmentation des activités enzymatiques de la COX et de la SCR dans les hémisphères cérébraux à partir du 55^e jour de gestation; cet âge correspond à la première «période critique» durant laquelle les neuroblastes commencent à acquérir les propriétés de neurones matures. Chez le cobaye⁹, l'étude de ces mêmes enzymes a permis de mettre en évidence une augmentation rapide de leurs activités à partir du 41^e jour de gestation.

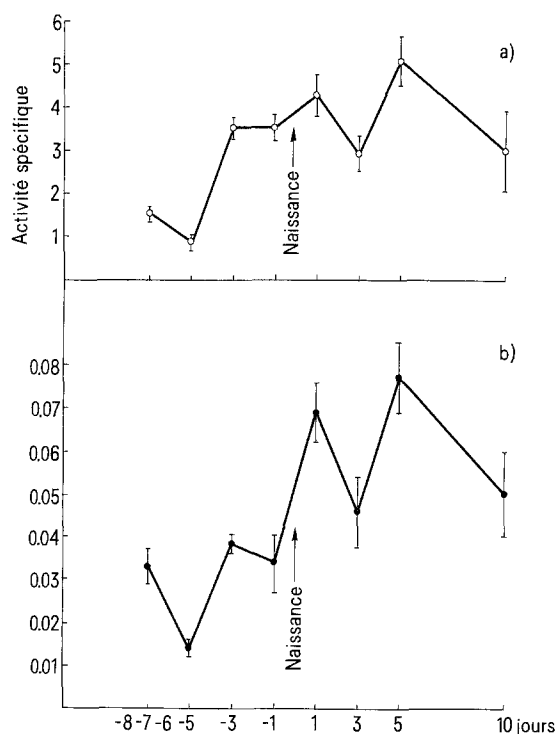


Fig. 1. Evolution de l'activité spécifique de la cytochrome-c réductase dans les hémisphères cérébraux du rat du 15^e jour de la gestation jusqu'à 10 jours de vie. a) μM de cytochrome-c oxydé/min/g de tissu frais. b) μM de cytochrome-c oxydé/min/mg de protéines.

¹ Z. KOREN et SHAFRIR, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 116, 411 (1964).

² A. A. ABDEL-LATIF et G. ABOOD, J. Neurochem. 11, 9 (1964).

³ J. F. FAZEKAS, F. A. D. ALEXANDER et H. E. HIMWICH, Am. J. Physiol. 134, 281 (1941).

⁴ G. LOWRY, N. ROSEBROUGH, H. FARR et R. J. RANDAL, J. biol. Chem. 193, 265 (1951).

⁵ D. WHARTON et A. TZAGALOFF, in *Methods in Enzymology* (Academic Press, New York 1967), vol. 10, p. 245.

⁶ D. TISDALE, in *Methods in Enzymology* (Academic Press, New York, 1967), vol. 10, p. 213.

⁷ J. B. FLEXNER, L. B. FLEXNER et J. R. STRAUS, J. Cell comp. Physiol. 18, 335 (1941).

⁸ L. B. FLEXNER et J. B. FLEXNER, J. Cell comp. Physiol. 27, 35 (1946).

⁹ L. B. FLEXNER, in *Biochemistry of the Developing Nervous System* (Ed. H. WAELSCH; Academic Press, New York 1955), p. 281.

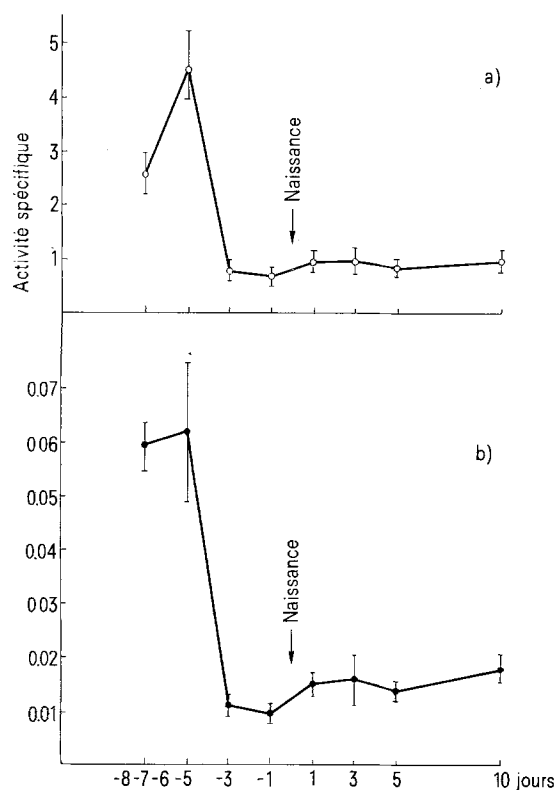


Fig. 2. Evolution de l'activité spécifique de la succinocytocrome-c-réductase dans les hémisphères cérébraux du rat du 15e jour de la gestation jusqu'à 10 jours de vie. a) μM de cytochrome-c réduit/min/g de tissu frais. b) μM de cytochrome-c réduit/min/mg de protéines.

POTTER¹⁰ a fait l'étude du développement de la SCR et de la COX sur les hémisphères cérébraux du rat à partir du 19e jour de la gestation et jusqu'à 30 jours de vie post-partum. Ces enzymes présentaient une faible activité jusqu'à 10 jours de vie, puis augmentaient ensuite parallèlement.

Le fait que les activités de la SCR et de la COX du cerveau augmentent à partir du 55e jour de gestation chez le porc, du 41e jour chez le cobaye et à 10 jours de

vie post-partum chez le rat, (dates correspondant à la maturation de l'organe pour les espèces considérées), amène GREENGARD¹¹ à conclure que l'activité des enzymes respiratoires est liée à la maturation fonctionnelle.

L'étude que nous avons effectuée in vitro sur l'évolution de la COX et de la SCR nous a conduit aux constatations suivantes: La COX, faible chez le fœtus, s'élève légèrement après la naissance. Par contre l'activité de la SCR est très élevée entre le 15e et le 17e jour de la gestation, période qui, selon ALTMAN¹², correspond au maximum de multiplication des neurones et de synthèse protéique. L'existence d'une activité de la SCR durant la vie fœtale laisse supposer que celle-ci n'est pas simplement liée avec la maturation fonctionnelle, mais est en rapport avec la multiplication cellulaire.

Les résultats obtenus indiquent une dissociation entre les activités de la COX et de la SCR. Nous avons été amenés à faire deux suppositions: soit la SCR existe sous deux formes, fœtale et adulte ou bien il existe une chaîne respiratoire fœtale possédant des propriétés différentes. Afin d'élucider ce problème, nous envisageons de faire une étude approfondie de la SCR chez le rat durant la vie fœtale.

Summary. The evolution of cytochrome c-oxidase and succinocytocrome c-reductase specific activities in rat brain before and after birth indicates that enzymic development could be related not only to functional maturation but also to the cellular multiplication.

A. BRÉHIER, A. M. COGNEVILLE et
C. TORDET-CARIDROIT

Centre de Recherches Biologiques Néonatales,
Université René Descartes, 123, boulevard de Port-Royal,
F-75674 Paris-Cedex 14 (France), 6 mars 1974.

¹⁰ R. POTTER, W. C. SCHNEIDER et G. J. LIEBL, *Cancer Res.* 5, 21 (1945).

¹¹ O. GREENGARD, in *Essays in Biochemistry* (Eds. P. N. CAMPBELL et F. DICKENS; Academic Press, New York 1971), vol. 7, p. 159.

¹² J. ALTMAN et G. DAS, *J. comp. Neurol.* 126, 337 (1966).

Autoconjugates in *Tetrahymena*

Studies on sexual reproduction and the genetics of ciliates demonstrated the existence of selfers in several species and mating types. Some information and much speculation on *Tetrahymena* selfers has been forthcoming in recent years. However, little is known of the occurrence of selfers during normal conjugation, or whether selfers occur within one or both mating types of a sexual reproduction.

Triads occur in low percentage during normal conjugation. This study deals with selfers occurring during conjugation (e.g. autoconjugates) and the origin of triads and their connection with autoconjugates.

Materials and methods. Mating types I (WH₆) and III (WH₅₂) of syngen I (obtained from the American Type Culture Collection) of *Tetrahymena pyriformis* were grown axenically according to the method described by ELLIOTT and HAYES¹ at 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). The organisms were removed to starvation medium by 3 successive washings followed by short centrifugations (1600 RPM

for 1–3 min). The starvation medium was composed of 0.005 M tricine (Sigma) buffer, pH 7.4. Cell concentrations in starvation medium were adjusted to 100 Klett units (filter 54). Cell counts in the cultures during experiments varied between 1–10.10⁶ cells/ml. The experiments were performed at 30°C.

The mating types were mixed immediately after the beginning of starvation. In each experiment one mating type was grown with tritiated thymidine. 20 $\mu\text{Ci/ml}$ of thymidine-6-³H (27 Ci/mmol, Amersham, England) was added 2 days before the cells were used in the experiments. Another portion of the same amount of tritiated thymidine was added 12 h before the experiments started. This treatment caused all the cells in the culture to be labelled significantly in their macronuclear DNA.

¹ A. M. ELLIOTT and R. E. HAYES, *Biol. Bull.* 105, 269 (1953).