

potential step (tp) is very near from the rising current. However, in both the rat fibre and the equivalent circuit, the time for half potential peak is 5–10  $\mu$ s longer than the time for half rising current. This delay may probably be attributed to the recording equipment's time lag, since the amplifier bandwidth was about 40–50 kHz under current clamp conditions. The initial potential step and the current intensity follow the Ohm's law and a global  $R_s$  of  $20.5 \text{ K}\Omega \pm 2.11 \text{ K}\Omega$  has been obtained from 8 experi-

ments. In the central gap, the resistance of the calomel electrode and external liquid was 5 to 6  $\text{K}\Omega$ , so that the actual series resistance of our preparations may be estimated to be between  $14.4 \text{ K}\Omega \pm 2.06 \text{ K}\Omega$  and  $15.4 \text{ K}\Omega \pm 2.06 \text{ K}\Omega$ . Fast potential steps (5–10 mV) in response to depolarizing currents were recently reported in rat papillary muscle flooded with Na free solutions<sup>14</sup> (figure 2). Unfortunately,  $R_s$  could not be calculated since the size of currents was not shown in the recordings.

In a second series of experiments, 2 identical steps of suprathreshold depolarizing current were applied through the membrane. The first current pulse generated an action potential. The second pulse, imposed during the repolarization phase permitted us to determine  $R_s$  value at different potential levels. A typical experiment is shown in the figure 4. The initial potential step remains constant either at the resting potential or at all membrane repolarization phase.

From our experiments carried on rat ventricular fibres, it can be pointed out that: a)  $R_s$  behaves as a pure lumped series resistance, b)  $R_s$  is independent of the membrane potential. The latter result suggests that ionic movements involved in a single cardiac action potential are unable to change appreciably the global conductance of extracellular spaces. This work does not preclude the cable problem in multicellular preparations since the anatomical features of  $R_s$  (clefts, tubules, intercellular spaces)<sup>13</sup> authorizes us to assume that each cell in the bundle has probably its own  $R_s$ . However, the potential independent behaviour of  $R_s$  may become important later on when electronic compensation of this parameter is attempted.

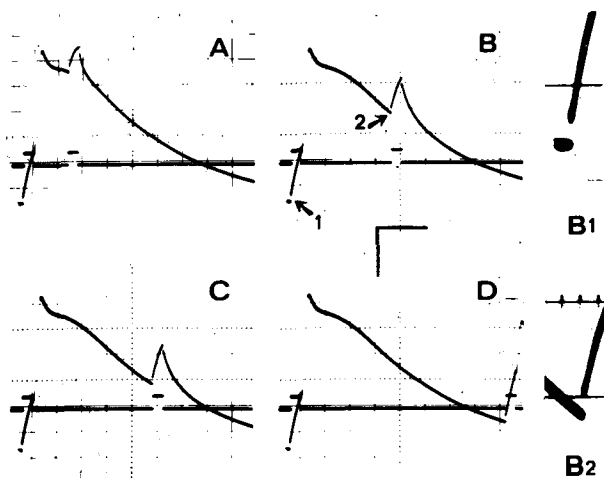


Fig. 4. From A to D: Identical initial potential steps in response to a constant current pulse applied at the resting potential or throughout the repolarization phase of the action potential. The steps 1 and 2 (panel B) were magnified respectively in B 1 and B 2 in order to emphasize this similitude. Scales from A to D; horizontal line: 20 ms, vertical line: 40 mV. B 1 and B 2 are enlarged 3.8 times.

14 G. W. Mainwood and J. S. McGuigan, *Experientia* 31, 67 (1975).

## Repercussions de l'hyperthyroïdie sur le contenu total en ADN du cervelet de rat âgé de 6 et 35 jours. Effets comparés de la LT3 et de la DLT4

### Repercussions of hyperthyroidism on the total cerebellar DNA contents in the rat at 6 and 35 days of age. Comparative effects of LT3 and DLT4

J. Dainat et A. Rebière

Laboratoire de Neurobiologie, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, F-34060 Montpellier Cedex (France), 9 février 1976

**Summary.** The total cerebellar proteins RNA and DNA contents from DLT4- and LT3-treated rats was studied at 6 and 35 days of age. The effect of injections of 5  $\mu$ g/j of DLT4 is comparable to that of 25  $\mu$ g of LT3 at birth, followed by 0.5  $\mu$ g every 2 days. On the other hand, injection of 0.5  $\mu$ g of LT3 every 2 days does not induce any significant modification of the total DNA contents in the cerebellum.

L'injection d'hormones thyroïdiennes depuis la naissance à de jeunes rats, accélère la maturation histologique<sup>1-3</sup> et biochimique<sup>4-6</sup> du cervelet. Toutefois, les études concernant le contenu en ADN de cet organe<sup>4,7</sup>, ne donnent pas des résultats concordants. En effet, les animaux étudiés reçoivent de la LT3 avec une forte dose à la naissance dans une expérience<sup>4</sup> et de la DLT4 à doses beaucoup plus faibles dans l'autre<sup>7</sup>. Cette constatation nous a conduits à étudier l'influence de la nature et des doses des hormones thyroïdiennes administrées.

- 1 J. Legrand, *Archs Anat. microsc. Morph. exp.* 56, 205 (1967).
- 2 A. Rebière et J. Legrand, *Archs Anat. microsc. Morph. exp.* 61, 105 (1972).
- 3 J. Tusques, *Biol. méd. Paris* 45, 395 (1956).
- 4 R. Balázs, S. Kovacs, W. A. Cocks, A. L. Johnson et J. T. Eayrs, *Brain. Res.* 25, 555 (1971).
- 5 J. Dainat et J. Legrand, *C. r. Séanc. Soc. Biol.* 169, 1377 (1971).
- 6 J. Dainat et A. Rebière, *J. Neurochem.* 26, 935 (1976).
- 7 J. Gourdon, J. Clos, C. Coste, J. Dainat et J. Legrand, *J. Neurochem.* 21, 861 (1973).

Les animaux utilisés sont des rats Wistar élevés au laboratoire. A la naissance les portées sont ramenées à 9 animaux. A chacun des stades de 6 et 35 jours, l'étude porte sur 5 groupes d'animaux:

- groupe 1: animaux témoins,
- groupe 2: animaux recevant 5  $\mu\text{g/j}$  de DLT4 «Roche» depuis le jour de la naissance<sup>5</sup>,
- groupe 3: animaux recevant 25  $\mu\text{g}$  de LT3 à la naissance puis 0,5  $\mu\text{g}$  tous les 2 jours<sup>1</sup>,
- groupe 4: animaux recevant 25  $\mu\text{g}$  de LT3 à la naissance,
- groupe 5: animaux recevant 0,5  $\mu\text{g}$  de LT3 tous les 2 jours.

Les hormones thyroïdiennes sont administrées le matin par injection sous-cutanée et les animaux sont sacrifiés à 6 et 35 jours également le matin. Les protéines et les acides nucléiques du cervelet des animaux sont extraits par la technique utilisée par Balázs et coll.<sup>4</sup>. L'étude statistique des résultats est réalisée par une analyse de variance après une décomposition orthogonale des groupes.

Le poids du corps des animaux traités de 6 jours est généralement inférieur à celui des animaux normaux de même âge. L'abaissement est trouvé significatif pour les groupes 2, 3 et 4. Par contre, à 35 jours, les traitements administrés agissent sur le poids corporel de manière différente. Cependant les animaux des groupes 2 et 5 ont un poids supérieur à celui des animaux témoins, ceux des groupes 3 et 4 ont un poids inférieur.

Le poids frais du cervelet des animaux traités de 6 et 35 jours est toujours inférieur à celui des animaux témoins. La différence est significative pour les groupes 2, 3 et 4. Le contenu en protéines totales du cervelet des animaux de 6 et 35 jours traités par les hormones thyroïdiennes est significativement inférieur à celui des animaux témoins excepté pour le groupe 5. La quantité d'ARN par cervelet des animaux traités de 6 et 35 jours est significativement inférieure à la normale excepté pour le groupe 5. Par contre la concentration en ARN du cervelet est toujours supérieure à la normale. A 6 et 35 jours un test statistique d'analyse de variance ne met en évidence aucune différence entre les résultats du dosage de l'ADN obtenus par

Effets de l'hyperthyroïdie sur la croissance du corps et du cervelet des animaux

| Age (jours) | Traitements                                        | Nombre des animaux | Poids corps (g)    | Poids cervelet (mg)  | Poids protéines (mg) | ARN-P $\mu\text{g atom}$ | ADN-P (UV) $\mu\text{g atom}$ | ADN-P (Burton) $\mu\text{g atom}$ | ARN-P $\mu\text{g atom/g}$ | ADN-P $\mu\text{g atom/g}$ | Prot./ADN          | ARN/ADN            |
|-------------|----------------------------------------------------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------|--------------------|
| 6           | 1 Témoins                                          | 7                  | 14,3<br>$\pm 0,5$  | 47,97<br>$\pm 3,03$  | 3,02<br>$\pm 0,14$   | 0,485<br>$\pm 0,033$     | 0,838<br>$\pm 0,069$          | 0,806<br>$\pm 0,071$              | 10,10<br>$\pm 0,15$        | 16,12<br>$\pm 0,83$        | 3,84<br>$\pm 0,18$ | 0,61<br>$\pm 0,02$ |
|             | 2 DLT4 5 $\mu\text{g/j}$                           | 6                  | 10,1<br>$\pm 0,4$  | 37,50<br>$\pm 1,28$  | 2,45<br>$\pm 0,08$   | 0,451<br>$\pm 0,012$     | 0,744<br>$\pm 0,034$          | 0,693<br>$\pm 0,036$              | 12,05<br>$\pm 0,28$        | 18,50<br>$\pm 0,65$        | 3,56<br>$\pm 0,14$ | 0,65<br>$\pm 0,01$ |
|             | 3 LT3 25 $\mu\text{g} + 0,5 \mu\text{g}/2\text{j}$ | 5                  | 9,1<br>$\pm 0,4$   | 35,94<br>$\pm 1,91$  | 2,94<br>$\pm 0,09$   | 0,378<br>$\pm 0,048$     | 0,639<br>$\pm 0,069$          | 0,611<br>$\pm 0,116$              | 10,36<br>$\pm 0,85$        | 16,67<br>$\pm 0,15$        | 5,32<br>$\pm 0,81$ | 0,64<br>$\pm 0,07$ |
|             | 4 LT3 25 $\mu\text{g}$                             | 6                  | 10,4<br>$\pm 0,4$  | 38,50<br>$\pm 1,31$  | 2,52<br>$\pm 0,11$   | 0,478<br>$\pm 0,042$     | 0,790<br>$\pm 0,037$          | 0,730<br>$\pm 0,034$              | 12,35<br>$\pm 0,80$        | 18,95<br>$\pm 0,13$        | 3,46<br>$\pm 0,09$ | 0,65<br>$\pm 0,03$ |
|             | 5 LT3 0,5 $\mu\text{g}/2\text{j}$                  | 5                  | 11,7<br>$\pm 0,5$  | 45,15<br>$\pm 3,10$  | 3,14<br>$\pm 0,19$   | 0,522<br>$\pm 0,035$     | 0,849<br>$\pm 0,046$          | 0,806<br>$\pm 0,049$              | 11,71<br>$\pm 0,16$        | 18,07<br>$\pm 0,63$        | 3,91<br>$\pm 0,22$ | 0,65<br>$\pm 0,03$ |
|             | Significativité (test F)                           |                    |                    |                      |                      |                          |                               |                                   |                            |                            |                    |                    |
|             | (1+5)-(2+3+4)                                      |                    | < 0,01             | < 0,01               | < 0,01               | < 0,05                   | < 0,05                        | < 0,05                            | NS                         | NS                         | NS                 | NS                 |
|             | (1)-(5)                                            |                    | < 0,01             | NS                   | NS                   | NS                       | NS                            | NS                                | < 0,05                     | NS                         | NS                 | NS                 |
|             | (2)-(3+4)                                          |                    | NS                 | NS                   | NS                   | NS                       | NS                            | NS                                | NS                         | NS                         | NS                 | NS                 |
|             | (3)-(4)                                            |                    | < 0,05             | NS                   | < 0,05               | NS                       | NS                            | NS                                | < 0,05                     | NS                         | NS                 | NS                 |
| 35          | 1 Témoins                                          | 7                  | 89,0<br>$\pm 4,6$  | 230,55<br>$\pm 5,86$ | 24,25<br>$\pm 0,73$  | 1,467<br>$\pm 0,051$     | 3,360<br>$\pm 0,077$          | 3,475<br>$\pm 0,079$              | 6,35<br>$\pm 0,09$         | 15,09<br>$\pm 0,27$        | 6,99<br>$\pm 0,25$ | 0,42<br>$\pm 0,01$ |
|             | 2 DLT4 5 $\mu\text{g/j}$                           | 8                  | 91,1<br>$\pm 5,3$  | 173,93<br>$\pm 3,45$ | 19,68<br>$\pm 0,54$  | 1,071<br>$\pm 0,020$     | 2,767<br>$\pm 0,063$          | 2,868<br>$\pm 0,082$              | 6,15<br>$\pm 0,05$         | 16,49<br>$\pm 0,38$        | 6,89<br>$\pm 0,22$ | 0,37<br>$\pm 0,07$ |
|             | 3 LT3 25 $\mu\text{g} + 0,5 \mu\text{g}/2\text{j}$ | 5                  | 76,8<br>$\pm 6,8$  | 191,30<br>$\pm 9,32$ | 18,66<br>$\pm 0,43$  | 1,059<br>$\pm 0,069$     | 3,024<br>$\pm 0,069$          | 3,059<br>$\pm 0,144$              | 5,54<br>$\pm 0,33$         | 16,09<br>$\pm 0,27$        | 6,16<br>$\pm 0,27$ | 0,34<br>$\pm 0,01$ |
|             | 4 LT3 25 $\mu\text{g}$                             | 5                  | 61,7<br>$\pm 6,6$  | 176,93<br>$\pm 3,45$ | 17,49<br>$\pm 0,75$  | 1,199<br>$\pm 0,044$     | 3,084<br>$\pm 0,118$          | 3,165<br>$\pm 0,113$              | 6,79<br>$\pm 0,05$         | 17,93<br>$\pm 0,17$        | 5,52<br>$\pm 0,09$ | 0,37<br>$\pm 0,07$ |
|             | 5 LT3 0,5 $\mu\text{g}/2\text{j}$                  | 9                  | 108,8<br>$\pm 3,3$ | 219,52<br>$\pm 3,13$ | 22,89<br>$\pm 0,82$  | 1,411<br>$\pm 0,025$     | 3,400<br>$\pm 0,049$          | 3,399<br>$\pm 0,086$              | 6,42<br>$\pm 0,07$         | 15,47<br>$\pm 0,26$        | 6,72<br>$\pm 0,11$ | 0,41<br>$\pm 0,01$ |
|             | Significativité (test F)                           |                    |                    |                      |                      |                          |                               |                                   |                            |                            |                    |                    |
|             | (1+5)-(2+3+4)                                      |                    | < 0,01             | < 0,01               | < 0,01               | < 0,01                   | < 0,01                        | < 0,01                            | < 0,01                     | < 0,01                     | < 0,01             | < 0,01             |
|             | (1)-(5)                                            |                    | < 0,01             | NS                   | NS                   | NS                       | NS                            | NS                                | NS                         | NS                         | NS                 | NS                 |
|             | (2)-(3+4)                                          |                    | < 0,01             | NS                   | NS                   | NS                       | < 0,01                        | < 0,05                            | NS                         | NS                         | < 0,01             | NS                 |
|             | (3)-(4)                                            |                    | NS                 | NS                   | NS                   | < 0,05                   | NS                            | NS                                | < 0,01                     | < 0,05                     | NS                 | NS                 |

Poids du corps, du cervelet, des protéines totales du cervelet et de son contenu en ARN et ADN, de rats âgés de 6 et 35 jours, groupés en 1 animaux témoins, 2 animaux recevant 5  $\mu\text{g/j}$  de DLT4, 3 animaux recevant 25  $\mu\text{g}$  de LT3 à la naissance plus 0,5  $\mu\text{g}$  tous les 2 jours, 4 animaux recevant 25  $\mu\text{g}$  de LT3 à la naissance, 5 animaux recevant 0,5  $\mu\text{g}$  de LT3 tous les 2 jours.

Le tableau représente des valeurs moyennes  $\pm$  E. S. M. et la significativité de ces résultats est calculée statistiquement par la méthode d'analyse des variances après une décomposition orthogonale des groupes. Ainsi sont comparés, le groupe constitué par les animaux témoins plus les animaux ayant reçu 0,5  $\mu\text{g}$  de LT3 tous les 2 jours, dose qui paraît inefficace, au groupe des autres animaux traités (1+5)-(2+3+4), le groupe des animaux témoins au groupe des animaux recevant 0,5  $\mu\text{g}$  de LT3 tous les 2 jours (1)-(5), le groupe des animaux recevant 5  $\mu\text{g/j}$  de DLT4 au groupe recevant 25  $\mu\text{g}$  de LT3 à la naissance suivis ou non par l'injection de 0,5  $\mu\text{g}$  tous les 2 jours (2)-(3+4), et enfin le groupe recevant 25  $\mu\text{g}$  de LT3 à la naissance plus 0,5  $\mu\text{g}$  tous les 2 jours à celui recevant 25  $\mu\text{g}$  de LT3 à la naissance (3)-(4).

A 6 et 35 jours, le test statistique d'analyse des variances ne met en évidence aucune différence dans les résultats du dosage de l'ADN obtenus par spectrophotométrie UV ou par la méthode de Burton.

spectrophotométrie UV ou par la méthode de Burton<sup>8</sup>. Le contenu total en ADN du cervelet des animaux traités de 6 et 35 jours, est significativement inférieur à la normale excepté pour le groupe 5. Il n'y a pas de différence significative entre les animaux du groupe 2 et ceux des groupes 3 et 4. Chez les animaux traités de 6 jours, la concentration en ADN du cervelet est généralement supérieure à la normale mais la différence n'est pas significative. A 35 jours, la concentration en ADN du cervelet des animaux traités est supérieure à la normale, excepté pour le groupe 5.

A 6 jours comme à 35 jours, l'administration de 0,5 µg de LT3 tous les 2 jours n'entraîne aucune modification des paramètres étudiés. Cette dose d'hormone ne semble donc pas suffisante pour créer une hyperthyroïdie. Par contre l'administration de 5 µg/j de DLT4 ou de 25 µg de LT3 à la naissance suivis ou non de 0,5 µg tous les 2 jours, provoquent une diminution significative du contenu en protéines, ARN et ADN du cervelet à 6 comme à 35 jours. La diminution significative à 6 et 35 jours du contenu en ARN et ADN du cervelet, est comparable à celle observée par Balázs et coll.<sup>4</sup>, chez les animaux rendus hyperthyroïdiens par l'injection de 25 µg de LT3 à la naissance suivis de 0,5 µg tous les 2 jours. On ne relève

à 6 jours aucune différence significative entre le contenu total en ADN du cervelet des animaux traités par la DLT4 et celui des animaux traités par la LT3.

Par contre à 35 jours on observe que le contenu en ADN est significativement plus abaissés chez les animaux traités par 5 µg/j de DLT4 que chez ceux qui reçoivent 25 µg de LT3 à la naissance suivis ou non par 0,5 µg de LT3 tous les 2 jours. Les doses d'entretien de 0,5 µg de LT3 tous les 2 jours ne semblent donc pas plus efficaces pour accentuer l'hyperthyroïdie qu'elles ne le sont à elles seules pour la susciter. Par contre l'injection d'une dose unique de 25 µg de LT3 à la naissance semble suffisante pour créer une hyperthyroïdie durable. Cependant l'administration d'une dose journalière de 5 µg/j de DLT4 paraît plus efficace que l'administration de 25 µg de LT3 à la naissance, contrairement à ce qui avait été observé précédemment<sup>7</sup>. Toutefois la technique d'extraction des acides nucléiques est différente dans les 2 cas, et une nouvelle expérimentation est nécessaire pour vérifier si les différences de résultats sont imputables aux techniques utilisées.

8 K. Burton, *Biochem. J.* 62, 315 (1956).

## Induction of an intestinal epithelial sugar transport system by high blood sugar<sup>1</sup>

T. Z. Csáky and E. Fischer<sup>2</sup>

*Department of Pharmacology, University of Kentucky, College of Medicine, Lexington (Kentucky 40506, USA), 6 August 1976*

**Summary.** Intravenous infusion of glucose produces a marked increase of the mucosal-to-serosal sugar flux in the isolated everted small intestine of rats. The phenomenon is partially substrate specific, is inhibited by phloretin but not by phlorizin and is completely abolished by cycloheximide. The results suggest that sustained hyperglycemia may stimulate the synthesis of new transport receptors (carriers).

It has been known for some time that the mucosal-to-serosal sugar (glucose, galactose, 6-deoxyglucose) transport is markedly enhanced in the isolated intestine of alloxan- and streptozotocin-diabetic rats<sup>3-8</sup>. Recent studies conducted in our laboratory indicate that the enhancement is the consequence of hyperglycemia and not

a direct pharmacological action of the provoking drug, alloxan or streptozotocin. Rats were given continuous intravenous infusion of a glucose solution; after the blood glucose was maintained about 400 mg%, or higher, for over 4 h, or longer, the mucosal-to-serosal transport of glucose, galactose and 3-O-methylglucose in the isolated small intestine increased (table 1). This increased transport was not appreciably inhibited by 10<sup>-3</sup> M phlorizin but was eliminated by phloretin (10<sup>-4</sup> M). There was a certain degree of specificity in the induction of the intestinal transport: sustained hyperglycemia or hypergalactosemia enhanced the transport of glucose, galactose and 3-O-methylglucose but not that of fructose; sustained hyperfructosemia, on the other hand, enhanced the transport of fructose (table 2). The effect is not due to the expansion of the extracellular space caused by the

Table 1. Effect of continuous glucose infusion on the mucosal-to-serosal (M → S) glucose flux in the isolated small intestine

| Time after start of infusion | n | Blood glucose mg % | Glucose flux (M → S) |
|------------------------------|---|--------------------|----------------------|
| Control                      | 6 | 84.4 ± 5.0         | 86.8 ± 7.3           |
| 1 h                          | 4 | 400 ± 59.3         | 69.4 ± 21.0 (n.s.)   |
| 2 h                          | 4 | 460 ± 59.0         | 105 ± 21.8 (n.s.)    |
| 4 h                          | 4 | 420 ± 19.8         | 172 ± 37.9 p < 0.05  |
| 6 h                          | 4 | 490 ± 88.8         | 220 ± 44.1 p < 0.01  |
| 12 h                         | 4 | 460 ± 19.8         | 251 ± 54.5 p < 0.01  |

A 30% (w/v) glucose solution was infused i. v. into 200–300 g non-anesthetized rats at rate of 2.0 ml/h. At the end of the infusion period the glucose content of the arterial blood was determined<sup>9</sup>, the animal killed, the small intestine removed, everted and incubated in a Krebs-Ringer-bicarbonate solution. 2.8 mM uniformly <sup>14</sup>C-labeled glucose was placed in the mucosal bath and its appearance in the serosal compartment measured. The glucose flux was expressed in µM/g dry gut per h. n = number of experiments; n. s. = not significant. Mean values ± standard error of the mean (SEM).

- 1 Acknowledgment. This work was supported by U. S. P. H. research, grant No. 5 R01 AM15734-14.
- 2 Present address: Department of Pharmacology, Medical University of Pécs, 7643 Pécs, Hungary.
- 3 R. K. Crane, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 4, 436 (1961).
- 4 K. A. Aulsebrook, *Experientia* 21, 346 (1965).
- 5 P. Flores and H. P. Schedl, *Am. J. Physiol.* 214, 725 (1968).
- 6 R. S. Dubois and C. C. Roy, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 130, 931 (1969).
- 7 W. A. Olsen and J. H. Rosenberg, *J. Clin. Invest.* 49, 96 (1970).
- 8 E. F. Caspary, A. M. Rhein and W. Creutzfeldt, *Eur. J. Clin. Invest.* 2, 278 (1972).
- 9 J. D. Teller, *Am. Chem. Soc.*, abstr. 130th Meeting, p. 69c (1956).