

## Migration intercinétique dans la placode olfactive chez l'embryon de poulet Interkinetic nuclear migration in nasal placode

E. Campelo Barcia, E. Barbosa Ayucar, J. G. Valdecasas Huelin et L. Barbosa Ayucar

*Sección de Embriología Experimental, Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, Valladolid (Espagne), 14 mars 1977*

**Summary.** Cells of nasal placode of chick embryos were studied with thymidine  $H^3$  and autoradiography. Our results shown, that the nuclei in the nasal placode synthesize DNA in the outer zone, then migrate toward the inner zone to undergo division and subsequently return to the outer zone.

Les noyaux interphasiques de plusieurs épithéliums embryonnaires sont animés d'un mouvement migratoire<sup>1,2</sup>. Ce processus a été définitivement confirmé par les études de plusieurs auteurs<sup>3-6</sup>. La suggestion qu'une telle migration nucléaire intercinétique aura lieu dans la placode olfactive, nous a conduits à faire ce travail avec l'aide de la thymidine tritiée, chez l'embryon de poulet compris entre les stades 16 et 24<sup>7</sup>.

**Matériel et techniques.** Nous avons utilisé des œufs de race Leghorn blanche qui ont été incubés dans une couveuse d'air forcé à 38,5°C et 80% d'humidité. La thymidine tritiée (activité spécifique 16 Ci/mM) a été obtenue du Radiochemical Center (Amersham, Angleterre).

Après une période d'incubation, variable pour les différents stades, les embryons ont été extraits de l'œuf d'une façon aseptique, lavés dans le liquide de Tyrode à 38,5°C, classés et transférés sur un milieu de culture<sup>8</sup>, auquel on avait ajoutée la thymidine tritiée à une concentration finale de 20  $\mu\text{Ci}/\text{cm}^3$  de milieu.

Au bout d'une heure de captation, les embryons ont été lavés pendant 5 min dans le liquide de tyrode à 38,5°C, auquel était ajoutée de la thymidine froide à une concen-

tration de 20  $\gamma/\text{cm}^3$ . A la fin du lavage des embryons ont été fixés dans l'alcool acétique (alcool éthylique 95% : 3 vol.; acide acétique glacial: 1 vol.), ou bien ont été transférés dans un milieu non radioactif dans lequel ils ont continué leur développement et fixés à des intervalles de temps échelonnés entre 1 h et 13 h après l'heure d'incorporation.

Les embryons, fixés dans l'alcool acétique, sont ensuite deshydratés et inclus dans la paraffine. Les coupes sont faites à 7  $\mu\text{m}$  et colorées par la méthode de Feulgen ou Hematoxyline-éosine.

Les préparations autoradiographiques sont réalisées par la méthode du « dipping » en utilisant l'emulsion Ilford K-5, diluée au  $1/3$  dans l'eau distillée. Après l'exposition de 10 jours, dans des caisses avec silicagel, les préparations sont révélées, fixées et montées par la technique habituelle. La durée des différentes phases du cycle cellulaire a été calculée selon le procédé des mitoses marquées<sup>9</sup>.

**Résultats.** Dans tous les stades (16-24<sup>7</sup>) nous avons trouvé à la fin de la période de captation d'une heure, que seulement les noyaux situés en position périphérique

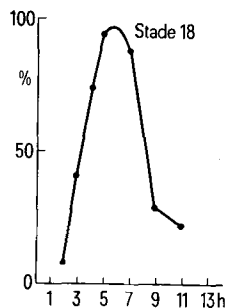


Fig. 1. Pourcentage de mitoses marquées en fonction du temps. Stade 18.

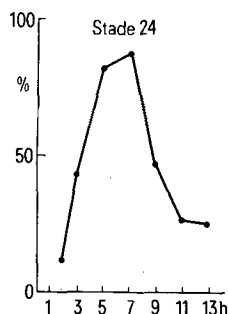


Fig. 2. Pourcentage de mitoses marquées en fonction du temps. State 24.

- 1 F. C. Sauer, J. Morph. 60, 1 (1936).
- 2 M. E. Sauer et A. C. Chittenden, Exp. Cell Res. 16, 1 (1959).
- 3 J. Langman, R. L. Guerrant et B. G. Freeman, J. comp. Neurol. 127, 399 (1966).
- 4 P. E. Messier, J. Embryol. exp. Morph. 27, 577 (1972).
- 5 P. E. Messier et C. Auclair, J. Embryol. exp. Morph. 34, 339 (1975).
- 6 J. G. Valdecasas, E. Barbosa, E. Campelo et L. Barbosa, Commun. 60° Cong. Ass. Anat. Nice (1976).
- 7 V. Hamburger et H. L. Hamilton, J. Morph. 88, 49 (1951).
- 8 E. Wolff et K. Haffen, Texas Rep. Biol. Med. 10, 463 (1952).
- 9 E. Quastler et F. G. Sherman, Exp. Cell Res. 17, 420 (1959).

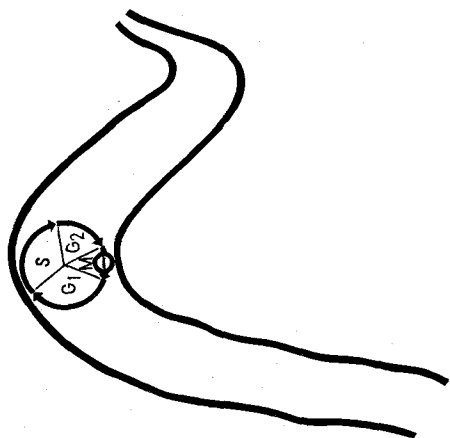


Fig. 3. Les mouvements migratoires des noyaux dans la placode olfactive.

Pourcentage de mitoses marquées en fonction du temps dans les différents stades

	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	9 h	10 h	11 h	12 h	13 h
E 16	—	3:113 (2,65%)	—	78:142 (54,93%)	—	117:131 (89,31%)	—	119:125 (95,20%)	—	39:117 (33,33%)	—	33:104 (31,73%)	—
E 18	0:110 (0%)	7:123 (5,69%)	51:121 (42,15%)	69:109 (63,30%)	114:118 (96,61%)	103:107 (96,26%)	125:140 (89,28%)	—	33:112 (29,46%)	—	28:119 (23,53%)	—	—
E 20	0:121 (0%)	—	62:123 (50,41%)	—	87:113 (76,99%)	—	95:106 (89,62%)	—	52:110 (47,27%)	—	74:170 (43,52%)	—	37:151 (24,50%)
E 22	0:184 (0%)	—	74:160 (46,25%)	—	110:132 (83,33%)	—	104:116 (89,65%)	—	34:108 (31,48%)	—	30:114 (26,32%)	—	26:105 (24,76%)
E 24	0:192 (0%)	16:152 (10,53%)	176:394 (44,67%)	—	103:125 (82,40%)	—	176:198 (88,89%)	—	60:197 (45,69%)	—	43:174 (26,43%)	—	31:122 (25,41%)

sont marqués, c'est donc dans cette position là qu'ils réalisent la duplication du ADN. Egalement il n'y a aucun noyau marqué dans la proximité de la lumière.

En fonction du temps écoulé après la période de la captation, les mitoses marquées commencent à se montrer dans une position luminale et au bout de 2 h, le pourcentage de celles-ci est de 2 à 10% (tableau). Entre 3 et 8 h il monte à 96%.

Pendant les heures suivantes il y a une diminution brusque au nombre de noyaux radioactifs dans la région luminale de l'épithélium (tableau). Les figures 1 et 2 (stades 18 et 24) ont été réalisés avec les données du tableau.

Les courbes obtenues permettent de calculer graphiquement la durée des phases G<sub>2</sub>, M et S du cycle cellulaire par la méthode de Quastler et Sherman<sup>9</sup>, dans lequel le pourcentage des figures mitotiques après 1 h de captation de thymidine H<sup>3</sup> se représente en fonction du temps. Les valeurs obtenues sont de 2 h G<sub>2</sub>, entre 5 et 6 h S et 2 h M.

**Discussion.** Les différentes phases étudiées du cycle cellulaire (G<sub>2</sub>, M et S) ne se modifient pas dans l'épithélium olfactif chez l'embryon de stades 16 à 24<sup>7</sup>, et il n'existe pas de prolongement du même en fonction de l'âge de l'embryon, comme il a été montré dans le système nerveux<sup>3</sup>.

Les noyaux font la synthèse du ADN, pendant 5 à 6 h, dans la portion basale de l'épithélium pseudostratifié, comme dans d'autres ébauches ectodermiques<sup>3, 10, 6</sup>. Après la duplication du ADN les noyaux radioactifs

émigrent vers la lumière, ce qui nous explique l'apparition dans cette position de mitoses marquées.

La durée de cette migration est de 2 h, temps égal à la phase G<sub>2</sub> et semblable à celle qui a été trouvée par d'autres auteurs<sup>3, 6</sup>. Les différentes phases de la mitose se font toujours au niveau de la lumière de l'ébauche, leur durée est de 2 h.

La non-modification des différentes phases du cycle cellulaire, dans les stades étudiés, nous a permis de vérifier qu'au début, la morphogénèse de la placode nasale est un problème de croissance alométrique de ses parois, ce qui nous explique sa morphologie<sup>11</sup>.

D'une autre part, la signification de cette migration intercinétique a été mise en relation avec les mécanismes morphogénétiques qui conduisent à l'invagination du tube nerveux<sup>3</sup> et de la placode optique<sup>10, 12, 13</sup>.

La diminution de mitoses marquées à partir de 9 h indique que les noyaux, une fois la mitose réalisée, retournent à leur situation périphérique, où ils restent en repos intercinétique ou bien commencent un nouveau cycle.

Figure 3 résume les mouvements de la migration nucléaire intercinétique que réalisent les noyaux des éléments cellulaires de la placode olfactive.

10 J. Zwaan, P. R. Bryan et T. L. Pearce, J. Embryol. exp. Morph. 27, 71 (1969).

11 E. Campelo, Thesis Doctoral, Univ. Valladolid (1976).

12 J. Zwaan et R. W. Hendrix, Am. Zool. 13, 1039 (1973).

13 R. W. Hendrix et J. Zwaan, Nature 247, 145 (1974).

## Effect of propylthiouracil on intestinal tumor formation by azoxymethane in rats<sup>1</sup>

D. V. Singh<sup>2, 3</sup>, R. L. Campbell, Y. N. Lin and N. D. Nigro

Department of Surgery, Wayne State School of Medicine, Detroit (Michigan 48201, USA), 10 January 1977

**Summary.** Treatment with propylthiouracil (PTU) resulted in a significant decrease in azoxymethane-induced intestinal tumors, total concentration of fecal bile acid as well as the fecal neutral steroids, cholesterol and coprostanol. Thus, a hypothyroid state induced by PTU treatment may affect intestinal carcinogenesis in this animal model by lowering the concentration of fecal bile acids and neutral steroids.

There has been speculation for many years that thyroid hormone may affect neoplastic transformation<sup>4-7</sup>. Thyroid hormone is also known to affect cholesterol metabolism<sup>8</sup>. It has been shown that when rats are given thyroxine, the secretion of bile acids from the liver is increased<sup>9-12</sup>. Hypothyroidism, on the other hand, diminishes the secretion of bile acids<sup>11, 12</sup>.

It has been shown that high concentrations of bile acids in feces enhances intestinal tumor formation in rats given 1,2-dimethylhydrazine or azoxymethane<sup>13, 14</sup>. Rats in an induced hypothyroid state might develop fewer intestinal tumors when given one of these carcinogens due to decreased amounts of luminal bile acids. The purpose of this experiment was to test this hypothesis by inducing