

peu de travaux ont été entrepris, à l'aide de ce type de drogue, pour tenter d'élucider le mécanisme de l'adaptation chromatique. On peut, cependant, citer des recherches récentes effectuées sur un crabe, *Uca pugnator*¹². Des drogues, telles que la p-chlorophenylalanine ou la réserpine, sont injectées à des crabes élevés sur fond blanc. Le pigment rouge de ces animaux est concentré au maximum. Après transfert sur un fond noir, les auteurs observent un taux réduit de dispersion du pigment rouge donc de l'adaptation chromatique. Les résultats obtenus avec ces drogues connues pour altérer le taux de sérotonine dans le tissu nerveux sont compatibles avec l'hypothèse que la sérotonine contrôle la libération de la RPDH ou Red Pigment Dispersing Hormone. Il est intéressant de souligner ici des effets analogues de la réserpine sur des animaux présentant une adaptation chromatique différente. En effet, les crabes s'adaptent rapidement à des modifications du milieu au moyen de migrations de granules pigmentaires à l'intérieur de chromatophores (adaptation dite «physiologique»). Par contre, *Oedipoda* présente une adaptation dite «morphologique», c'est-à-dire, lente et se réalisant par l'élaboration en quantités variables de différents pigments dont la présence se matérialise au moment des mues.

3. Les effets de la réserpine sur la mue et l'adaptation chromatique sont en accord avec l'hypothèse d'une action inhibitrice de cet alcaloïde sur les cellules neurosécrétrices de cerveau, entraînant une déficience hormonale générale. Nous avons effectué une série de vérifications histologiques pour tester cette hypothèse. L'étude histologique de cerveau des oédipodes traités par la réserpine montre une accumulation significative de la neurosécrétion au niveau des cellules neurosécrétrices médianes de la pars intercerebralis, par suite de sa non-libération. Ce stockage des granules de neurosécrétion se retrouve au niveau des axones des cellules sécrétrices et dans les corpora cardiaca. Les premiers résultats, obtenus par méthode fluorométrique, permettent de mettre en évidence l'existence de 5-hydroxytryptamine dans les cerveaux des animaux témoins, comme cela a été déjà démontré chez *Locusta migratoria*¹⁶. Chez les animaux traités à la réserpine, on note une baisse du taux de 5-hydroxytryptamine (communication personnelle).

Conclusion. Les résultats acquis sur la durée des intermues et l'adaptation chromatique sont tout à fait semblables à

ceux obtenus après électrocoagulation des cellules neurosécrétrices médianes de la pars intercerebralis chez le même animal. La réserpine paraît donc agir sur le processus de libération des hormones; son action inhibitrice provoque une déficience hormonale générale. La réserpine est également connue pour son action déplétrice sur les catécholamines et la 5-hydroxytryptamine du neuropile du cerveau à la fois chez les vertébrés et les insectes. Il est admis que l'effet tranquilisant sur le comportement des insectes est dû, au moins en partie, à la déplétion des catécholamines et par voie de conséquence à l'action au niveau des transmissions adrénergiques¹⁷. Les effets observés sur la pigmentation nous autorisent à émettre l'hypothèse que la 5-hydroxytryptamine doit intervenir dans le contrôle de l'adaptation chromatique. Les travaux s'orientent donc dans cette voie. Dans l'état actuel, on peut conclure que les effets de la réserpine sur la mue et l'adaptation chromatique résultent de modifications produites dans les systèmes de régulation à la fois endocrines et nerveux.

- 1 F. Ramade et P. L'Hermite, C. r. Acad. Sci., Paris 272, 3314 (1971).
- 2 N. Klemm, Progr. Neurobiol. 7, 99 (1976).
- 3 L. Huot, G.W. Corriveau et G. Bourbeau, Archs int. Physiol. Biochim. 68, 577 (1960).
- 4 S.B. Hays, J. econ. Ent. 58, 782 (1965).
- 5 S.B. Hays et G.M. Amerson, J. econ. Ent. 60, 781 (1967).
- 6 C.A. Benschoter, J. econ. Ent. 59, 333 (1966).
- 7 P. Masner, L. Huot, G.W. Corriveau et J.C. Prudhomme, J. Insect Physiol. 16, 2327 (1970).
- 8 F. Pare, J. Bouletreau-Merle et J. David, Archs int. Physiol. Biochim. 82, 123 (1974).
- 9 G.W. Corriveau et L. Huot, J. Insect Physiol. 11, 195 (1965).
- 10 J.M. Perron, G.W. Corriveau et L. Huot, Comp. Biochem. Physiol. 28, 233 (1969).
- 11 B. Cymborowski, J. Insect Physiol. 19, 1423 (1973).
- 12 M. Fingerman et S.W. Fingerman, Comp. Biochem. Physiol. 520, 55 (1975).
- 13 B. Levita, Bull. Biol. 104, 149 (1970).
- 14 S.H. Snyder, J. Axelrod et M. Zweig, J. Biochem. Pharmac. 14, 831 (1965).
- 15 B. Moreteau-Levita, C. r. Acad. Sci., Paris 274, 3277 (1972).
- 16 L. Hiripi et K.S. Rozsa, J. Insect Physiol. 19, 1481 (1973).
- 17 N. Frontali, J. Insect Physiol. 14, 881 (1968).

Effect of acute administration of triiodothyronine in chicken. Liver glycogen depletion and amino acid incorporation to proteins

J. L. R. Arrondo, María José Sancho and J. M. Macarulla

Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias Apdo. 644, Bilbao (Spain), 18 October 1977

Summary. Single injections of thyroid hormone (T_3) produce liver glycogen depletion in chickens. This effect cannot be suppressed by protein synthesis inhibitors and is previous to the hormone-induced increase in protein synthesis.

Liver glycogen depletion is a well-known effect of the thyroid hormones in chronic treatments^{1,2}. This depletion is apparently due to an increase in glycogenolytic activity rather than to a decrease in glycogen synthesis³. It is also known that the primary effect of thyroid hormone administration is an increase in the rate of protein synthesis⁴. The present paper deals with the thyroid effect on liver glycogen in newborn chicken, and its relation to protein synthesis.

Newborn chickens were injected with either 4 μ g T_3 (3,3', 5-triiodothyronine, Sigma Chemicals Co., London) or 9‰ NaCl. In addition, antibiotic-treated chickens were injected

with either 10 μ g cycloheximide (Sigma Chemicals Co.) or 0.5 μ g actinomycin D (Sigma Chemicals Co.). (U -¹⁴C)-leucine (Amersham), 1 μ Ci/chicken, was parenterally administered 6 h before sacrifice. In all cases, control animals were injected with saline solution. Glycogen was determined according to Payne-Latour⁵. Leucine incorporation was measured as follows. Livers were homogenized in 0.25 M sucrose (1:10, w/v); proteins were precipitated with perchloric acid at a final concentration of 0.3 N; pellets were washed with 0.3 N perchloric acid, delipidized twice with 96% ethanol-ethyl ether (3:1), and resuspended in 1N NaOH. An aliquot from this suspension was used for

Incorporation of ^{14}C -leucine into liver protein in control and T_3 -treated chicken (cpm/mg protein)

Time (h)	Control Saline	Cycloheximide	Actinomycin D	T_3 -treated T_3 -alone	T_3 + cycloheximide	T_3 + actinomycin D
6	263.3 $\pm$ 22.8	42.3 $\pm$ 3.6	52.2 $\pm$ 2.3	249.1 $\pm$ 21.9	44.2 $\pm$ 4.8	49.6 $\pm$ 1.8
8	252.0 $\pm$ 25.1	45.8 $\pm$ 3.8	56.1 $\pm$ 4.0	256.4 $\pm$ 37.3	44.6 $\pm$ 2.9	58.0 $\pm$ 3.1
10	226.1 $\pm$ 26.7*	40.2 $\pm$ 4.3	50.0 $\pm$ 1.7	258.6 $\pm$ 16.8	45.0 $\pm$ 2.3	55.1 $\pm$ 3.0
12	248.3 $\pm$ 42.6**	46.3 $\pm$ 2.0	52.2 $\pm$ 2.4	383.1 $\pm$ 13.5	43.7 $\pm$ 1.9	50.0 $\pm$ 2.0

^{14}C -Leucine was injected 6 h before sacrifice. Mean values $\pm$ SEM are represented. Student's t-test parameters between T_3 and control: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

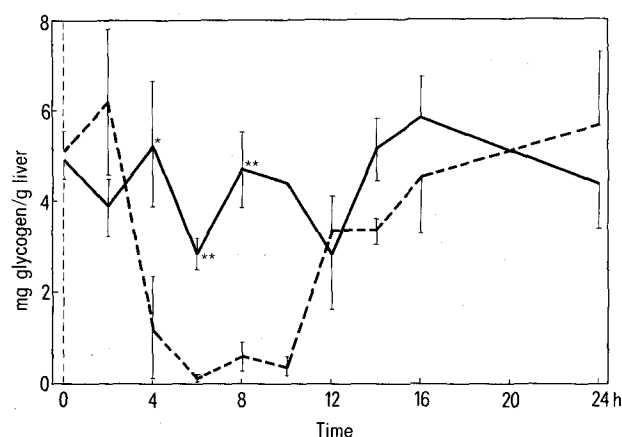


Fig. 1. Time course of liver glycogen levels in control (—) or T_3 -treated (---) newborn chicken. Mean values $\pm$ SEM ($n=5$) are represented. Student's t-test parameters: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

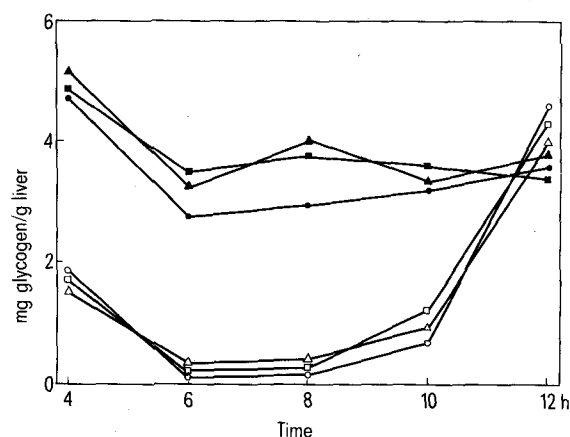


Fig. 2. Liver glycogen levels in control (full symbols) and T_3 treated (open symbols) newborn chicken. Chickens were injected with actinomycin (triangle), cycloheximide (circle) or saline (square).

measuring radioactivity, by means of a scintillation spectrophotometer, in a toluene-Triton X-100 scintillation cocktail⁶. Protein was determined by the biuret method⁷. Liver glycogen depletion after a single T_3 injection is shown in figure 1. Glycogen levels in hormone-treated animals are significantly lower between 4 and 10 h after injection.

Figure 2 shows the influence of protein synthesis inhibitors on liver glycogen depletion. It can be seen that the decrease in liver glycogen levels is not affected by these antibiotics between 4 and 10 h.

The table summarizes the experiments of ^{14}C -leucine incorporation into proteins. No difference can be observed between control and T_3 -treated chickens 6 and 8 h after hormone injection. After 10 h the incorporation of ^{14}C -leucine is higher in the hormone-treated chickens, and the difference increases after 12 h. Nevertheless, cycloheximide and actinomycin D were effective protein synthesis inhibitors in both control and T_3 -treated animals. This allows us to conclude that the lag time for the T_3 -dependent increase in protein synthesis is about 10 h in newborn chicken. Some confusion has arisen about the primary effect of T_3 from the many studies that have been published, based on

chronic hormone treatments. More recent studies⁸, using single hormone injections, have proved the binding of the hormone to nuclear receptors and subsequent increase in protein synthesis rate. The latter would be the primary effect of the hormone.

It can be deduced from the present work that a single injection of T_3 decreases liver glycogen levels in chickens. This effect is apparent between 4 and 10 h after hormone injection. The liver glycogen depletion cannot be suppressed by antibiotics inhibiting protein synthesis in eukaryotes. Moreover, the hormone-dependent increase in ^{14}C -leucine uptake is not observed until 10 h after T_3 injection. These results seem to indicate that the decrease in liver glycogen levels in chicken, after a single injection of T_3 , cannot be attributed to de novo synthesis of glycogenolytic enzymes, but rather to a different type of process. This could be a synergistic effect of T_3 on catecholamine action⁹, or else a mechanism by which the hormone, while crossing the membrane or being transferred from the outside of the cell to the nuclear receptor, would in some way activate pre-existing enzyme molecules. Work in progress in our laboratory seems to confirm the latter hypothesis.

- J.R. Tata, L. Ernster and O. Lindberg, *Nature* 193, 1058 (1962).
- H.D. Battarbee, *Pro. Soc. exp. Biol. Med.* 147, 337 (1974).
- J.R. Tata, L. Ernster, O. Lindberg, E. Arrhenius, S. Pedersen and R. Hedman, *Biochem. J.* 86, 408 (1963).
- J.H. Oppenheimer, M.I. Surks and H.L. Schwartz, *J. clin. Invest.* 51, 2796 (1972).
- H.W. Payne and J.P. Latour, *J. Endocr. Metab.* 15, 106 (1955).
- M.S. Patterson and R.C. Greene, *Analyt. Chem.* 37, 854 (1965).

- E. Layne, in: *Methods in Enzymology*, vol 3, p. 448. Ed. S.P. Colowick and N.O. Kaplan. Academic Press, New York and London 1957.
- J.R. Tata, in: *Action of Hormones in Molecular Processes*, p. 58. Ed. G. Litwack and D. Kitchinsky. John Wiley & Sons Inc., New York 1964.
- J.K. Jones, F. Ismail-Beigi and I.S. Edelman, *J. clin. Invest.* 51, 2498 (1972).