

animals. The skin also shows a second contraction between 67 and 70°C. After the ninth month, in a continuously increasing degree, a third and fourth step of contraction appear at higher temperatures (up to 82°C).

The sciatic nerve also shows a thermo-elastic contraction after the fourth month at 76–80°C. This increases with age, and, as in the case with the skin, several more steps of contraction appear at higher temperatures, up to 92°C. It is improbable that these thermo-elastic contractions are related to «elastin». The changes with increasing age, however, show a similarity to the age changes of «elastin» in so far as the thermic contractility increases with age.

Vitamin Requirements of Decotylised Pea Seedlings Cultivated in the Dark

If the biosynthetic capacities of a decotylised pea seedling grown in darkness are compared with those of an excised pea root, certain differences can be observed. As has earlier been demonstrated¹, the seedlings, but not the excised roots, require arginine, glycine and adenine for optimum growth in an ordinary sucrose-mineral salt medium supplied with a mixture of water-soluble vitamins. Freshly excised roots on the other hand are quite unaffected by the three metabolites mentioned, and even in a vitamin-free medium they reach a length of at least 150 mm owing to the vitamin reserve present in the roots when excised. However, after one or two transfers of the root tips the growth comes to an end. Continued growth of the excised roots is made possible only by adding thiamin and niacin to the medium, in accordance with the observations of ADDICOTT and BONNER².

If decotylised pea seedlings are cultivated in a vitamin-free medium identical with that used for excised roots but containing arginine, glycine and adenine, the growth very soon stops, as does that of the shoot later. The main root usually does not exceed a total length of 100 mm. A closer investigation demonstrated that in this case the vitamins thiamin and pyridoxin are required, while niacin possessed a very weak or no effect (see table).

The effect of thiamin (B₁), pyridoxin (B₆) and niacinamide (Nic), each 100 µg/1, on the growth of decotylised pea seedlings ("Torsdag III" variety) cultivated in darkness at +25°C. Nutrient solution supplemented with arginine, glycine and adenine, each 0.3 mM, and solidified with 1.5% agar. Each culture tube contained 10 ml of nutrient medium. Incubation time 15 days. The original root length 31 mm. Ten plants, or roots, in each series. Further particulars of the cultivation technique published elsewhere³.

Experimental material	Vitamins added	Length in mm		No. of laterals per root system
		Shoot	Main root	
Decotylised plants	No vitamins	111 ± 3	84.7 ± 4.2	7.1
	B ₆ + Nic	114 ± 3	90.8 ± 3.6	8.6
	B ₁ + Nic	116 ± 3	91.4 ± 6.9	6.9
	B ₁ + B ₆	116 ± 1	123.0 ± 2.6	10.6
	B ₁ + B ₆ + Nic	113 ± 2	136.5 ± 2.5	11.2
Excised roots	No vitamins	—	134.0 ± 3.9	17.6
	B ₁ + B ₆ + Nic	—	142.4 ± 1.0	17.1

¹ N. FRIES, *Physiologia Plantarum* 6, 292 (1953); *Symbolae Botan. Upsal.* XIII, 1, 1 (1954).

² F. T. ADDICOTT and J. BONNER, *Science* 88, 577 (1938).

³ N. FRIES, *Symbolae Botan. Upsal.* XIII, 1, 1 (1954).

This shows that in darkness the shoot is not only unable to produce these vitamins, but also utilizes most of the vitamin reserve of the hypocotyl and the young root. The pyridoxin requirement may indicate a complete inability or at least an insufficient ability to produce pyridoxin in the shoot. The pyridoxin synthesising power of the root is obviously sufficient for maintaining the growth of the root but not for the combined requirements of root and shoot.

These observations, together with others made earlier¹, show that even under completely heterotrophic conditions the morphogenesis of the pea plant is accompanied by a differentiation into parts differing from each other as regards the ability to synthesise essential metabolites.

The investigation was supported by a grant from Eli Lilly and Co., Indianapolis.

N. FRIES

Institute of Physiological Botany, University of Uppsala, January 12, 1955.

Zusammenfassung

Abgeschnittene Erbsenwurzeln wachsen, wie schon frühere Untersuchungen gezeigt haben, unbegrenzt in einer Nährösung mit Thiamin (Vitamin B₁) und Niacin als die einzigen zugesetzten Vitamine. Das konnte auch mit der in dieser Arbeit verwendeten Erbsenrasse bestätigt werden. Dekotylisierte Erbsenkeimlinge, die unter denselben Bedingungen in Dunkelheit kultiviert wurden, brauchten aber Thiamin und Pyridoxin (Vitamin B₆). Ein Bedürfnis von Niacin zeigte sich dagegen während der angewandten Versuchszeit bei diesen Keimlingen nicht.

¹ N. FRIES, *Physiologia Plantarum* 6, 292 (1953); *Symbolae Botan. Upsal.* XIII, 1, 1 (1954). — S. SAUBERT-V. HAUSEN, *Physiologia Plantarum* 1, 85 (1948).

Le potassium et le sodium de l'humeur aqueuse du lapin et leurs variations sous l'effet de l'acétazolamide (Diamox)

De récentes recherches ont démontré que la tension intra-oculaire s'abaisse, surtout en cas de glaucome, après l'administration d'acétazolamide (Diamox)¹. Cependant, le mécanisme de cette action n'est pas élucidé. On sait que l'acétazolamide est un inhibiteur spécifique de la carboanhydrase, ferment qui catalyse l'hydratation du CO₂ et peut favoriser la formation des bicarbonates. Or, le corps ciliaire contient de la carboanhydrase². De plus, l'humeur aqueuse présente un taux de bicarbonates assez important, supérieur à celui du sang³. Ainsi on peut se demander si l'abaissement de la tension intra-oculaire, sous l'effet du Diamox, n'est pas dû à une inhibition de la carboanhydrase du corps ciliaire, et si ce ferment n'influence pas la composition ionique et la pression osmotique de l'humeur aqueuse. Nous nous sommes donc proposé d'étudier l'action du Diamox sur certaines électrolytes de la chambre antérieure, notamment sur les taux du sodium et du potassium.

Matériel et méthodes. Nous avons utilisé 21 lapins de 2,5 à 3 kg, soumis à des conditions de vie identiques.

¹ B. BECKER, *Amer. J. Ophth.* 37, 13 (1954).

² P. H. WISTRAND, *Acta Physiol. Scand.* 24, 144 (1951).

³ V. D. KINSEY, *A.M.A. Arch. Ophth.* 50, 401 (1953).

Potassium et sodium de l'humeur aqueuse sous l'effet du Diamox (comparaison avec des expériences témoins).

Expériences témoins (Avant et après l'injection intraveineuse de 2 cm ³ de sérum physiologique)							Effets du Diamox (Injection intraveineuse de 100 mg/kg dans 2 cm ³ de sérum physiologique)						
Lapins	Na mEq/l			K mEq/l			Lapins	Na mEq/l			K mEq/l		
	avant	après	écart	avant	après	écart		avant	après	écart	avant	après	écart
1	147	147	0	5,60	5,50	-0,10	1	142	137	-5	5,08	4,55	-0,53
2	149	149	0	5,35	5,00	-0,35	2	146	142	-4	5,16	4,42	-0,74
3	152	152	0	5,95	5,52	-0,43	3	142	140	-2	5,21	4,40	-0,81
4	148	144	-4	6,25	5,73	-0,52	4	147	147	0	5,10	4,15	-0,95
5	144	138	-6	5,72	5,53	-0,19	5	149	149	0	5,35	4,35	-1,00
6	156	150	-6	5,45	5,45	0	6	149	149	0	5,50	5,10	-0,40
7	156	156	0	5,12	5,04	-0,08	7	149	149	0	5,50	4,35	-1,15
8	146	146	0	4,60	4,60	0	8	153	149	-4	5,35	4,25	-1,10
9	157	157	0	4,60	4,24	-0,36	9	154	154	0	5,53	4,50	-1,03
10	149	149	0	5,50	5,50	0	10	147	147	0	5,46	4,90	-0,56
Moyenne	150,4	148,8	-1,6	5,41	5,21	-0,20	11	154	154	0	4,85	4,11	-0,74
Ecart-type s						±0,20		148,4	147,0	-1,4	5,28	4,46	-0,82
													±0,25

Toutes les expériences furent effectuées à la même heure du jour, de la façon suivante: l'animal est fixé sur une table *ad hoc*, qui maintient la tête immobile. Après la pose d'écarteurs des paupières et sans emploi d'anesthésique, nous ponctionnons la chambre antérieure d'un œil. Nous prélevons environ 0,1 cm³, dans lequel sont dosés le sodium et le potassium au moyen du spectrophotomètre à flamme Beckman DU.

Immédiatement après cette ponction, une partie des animaux a reçu, dans la veine marginale de l'oreille, 100 mg/kg de Diamox (sel sodique) dilué dans 2 cm³ de sérum physiologique (11 cas). Chez les autres, nous n'avons injecté que les 2 cm³ de sérum physiologique (10 cas témoins). Trois heures après l'injection, nous avons prélevé l'humeur aqueuse de l'autre œil et effectué les dosages déjà décrits.

Résultats et discussion

L'ensemble de nos résultats figure au tableau. En considérant les valeurs enregistrées avant l'injection, dans toutes les expériences, nous obtenons les taux moyens suivants, portant sur 21 cas: 149 ± 4,3 mEq/l de sodium et 5,34 ± 0,39 mEq/l de potassium. KINSEY trouve une valeur moyenne, pour le sodium, de 146,5 mEq/l¹.

Trois heures après l'injection de Diamox, nous n'observons pas de modification significative du taux de sodium, comparativement aux valeurs témoins (tableau).

Par contre, le taux du potassium s'est abaissé dans tous les cas, de 0,82 mEq/l en moyenne (15,3% de la valeur moyenne de contrôle), l'écart-type étant de ± 0,25 mEq/l. Les écarts extrêmes sont de -1,15 et -0,40 mEq/l. S'il existe aussi une baisse moyenne du taux de potassium chez les animaux témoins, elle est nettement plus faible que la baisse enregistrée après l'injection de Diamox (0,20 mEq/l, ou 3,8% de la valeur moyenne de contrôle; écart-type ± 0,20 mEq/l). Relevons que les écarts-types du groupe traité au Diamox et du groupe témoin sont comparables; les zones qu'ils délimitent sont nettement distinctes. En outre, les valeurs extrêmes des deux groupes ne se recouvrent que faiblement. Ajoutons que nous avons soumis ces résul-

tats à divers autres calculs statistiques, tenant compte notamment de l'écart entre les variances: il peuvent être considérés comme significatifs¹.

De cet effet du Diamox sur le potassium de l'humeur aqueuse, il faut rapprocher la chute de la tension oculaire, observée chez le lapin comme chez l'homme^{2,3}. On peut se demander quelle influence exercent sur l'œil l'augmentation du flux urinaire et surtout l'acidose sanguine dues au Diamox. Dans des expériences préliminaires, on aurait observé que l'acétazolamide entraîne une chute de la tension oculaire, chez le lapin néphrectomisé comme chez l'animal normal². Relevons aussi que, chez l'homme, l'acidose est rarement capable d'abaisser nettement la tension intra-oculaire. Il est plus probable que les effets oculaires du Diamox soient dus, en partie du moins, à l'inhibition de la carboanhydrase présente dans le corps ciliaire. Ainsi ce dernier ferait semble contrôler la sécrétion et la composition de l'humeur aqueuse. Sur la base de nos résultats, on peut admettre qu'il influence le taux du potassium, en rapport probablement avec la formation des bicarbonates. D'autres recherches sont en cours.

L'acétazolamide va probablement permettre de préciser davantage le mécanisme de la sécrétion de l'humeur aqueuse. Outre son intérêt thérapeutique, son action ouvre d'intéressantes perspectives dans l'étude physiopathologique du glaucome.

Nous remercions vivement M^{me} A.-M. KÖSTLIN, ainsi que M. F. GIRARDET, pour leur précieuse collaboration.

A. FALBRIARD, R. ZENDER,
M. C. SANZ et A. FRANCESCHETTI

Clinique thérapeutique, Clinique ophthalmologique et Laboratoire central de l'Hôpital cantonal de Genève, le 19 février 1955.

¹ Nous remercions vivement M. A. LINDER, Professeur de Statistique à l'Université de Genève, d'avoir bien voulu vérifier nos résultats du point de vue statistique.

² B. BECKER, Amer. J. Ophth. 38, 109 (1954).

³ W. M. GRANT et R. R. TROTTER, A. M. A. Arch. Ophth. 51, 735 (1954).

Summary

In 21 rabbits, the average concentration of sodium and potassium in the aqueous humor was found to be respectively 149 ± 4.3 mEq/l and 5.34 ± 0.39 mEq/l.

Eleven of these animals were injected with Diamox (100 mg/kg of body weight); a significant drop of potassium concentration in the aqueous humor was observed three hours later, as compared with the ten control animals. No change in sodium concentration occurred.

Our findings are considered in correlation with the fall of intraocular pressure produced by the carbonic anhydrase inhibitor, and the role of this enzyme is discussed.

Action d'un inhibiteur de la carboanhydrase, l'acétazolamide, sur l'excitabilité du cortex, du thalamus et du rhinencéphale

La carboanhydrase se trouve dans le système nerveux central de l'homme et de différentes espèces d'animaux¹, mais le rôle qu'elle y joue n'est pas connu. Or, nous possérons actuellement un inhibiteur spécifique de ce ferment, l'acétazolamide ou Diamox. A côté de son action diurétique, ce dérivé entraîne parfois chez l'homme quelques effets secondaires, tels que paresthésies et légère somnolence². En outre, il exerce une influence favorable dans certains cas d'épilepsie³. Nous nous sommes donc proposés d'étudier chez l'animal l'action de l'acétazolamide sur différentes structures cérébrales.

Technique et matériel expérimental. Nos expériences furent effectuées chez des lapins non narcotisés de 2,5 à 3 kg. Après anesthésie locale et dénudation du crâne, un socle stéréotaxique est fixé sur la voûte, dans une position définie par rapport aux sutures - voir technique MONNIER et LAUE⁴, GANGLOFF et MONNIER⁵. Une série

¹ W. ASHBY et D. V. CHAM, J. Biol. Chem. 151, 515 (1943). - W. ASHBY, R. F. GARZOLI et E. M. SCHUSTER, A. M. Physiol. 170, 116 (1952).

² C. K. FRIEDBERG, R. TAYMOR, J. B. MINOR et M. HALPERN, New England J. Med. 248, 883 (1953). - A. FALBRIARD, Praxis 14, 293 (1954).

³ W. H. BERGSTROM, R. F. GARZOLI, C. LOMBROSO, D. T. DAVIDSON et W. M. WALLACE, Amer. J. Dis. Child. 84, 771 (1952).

⁴ M. MONNIER et H. LAUE, Helv. Physiol. Acta 11, 73 (1953).

⁵ H. GANGLOFF et M. MONNIER, Tagung der Österreichischen Arbeitsgemeinschaft für E.E.G. Bad Ischl, septembre 1954 (à paraître dans Pflügers Arch. 1955).

de perforations permet d'introduire dans le cerveau des électrodes de stimulation et de dérivation. A l'aide de ce dispositif, on peut stimuler le cortex, le noyau latéral du thalamus et le rhinencéphale; simultanément, on dérive les ripostes électriques de ces mêmes structures. Le stimulateur de Wyss nous a fourni une impulsion ayant la forme du potentiel d'action d'un nerf périphérique (durée de l'impulsion 7 ms, fréquence 40 c/s, durée de la salve 15 s). Nous avons déterminé le seuil d'excitabilité de chaque structure, en augmentant progressivement le voltage des stimuli jusqu'à l'apparition d'une after-discharge; cette dernière était enregistrée par un électro-encéphalographie de GRASS.

Après détermination des paramètres de base (seuil d'excitabilité, durée et aspect qualitatif de l'after-discharge), 100 mg/kg d'acétazolamide ont été injectés par voie intraveineuse. Notre étude porte sur 14 lapins, dont 7 témoins n'ayant pas reçu de médicament. Chaque animal a été sacrifié à la fin de l'expérience. Nous avons pratiqué des coupes séries dans le cerveau, pour dépister d'éventuelles lésions des structures stimulées. Ont été écartés systématiquement les résultats concernant les points lésés: ce fut le cas pour un point du rhinencéphale (cas 6) et pour un point du cortex (cas 7).

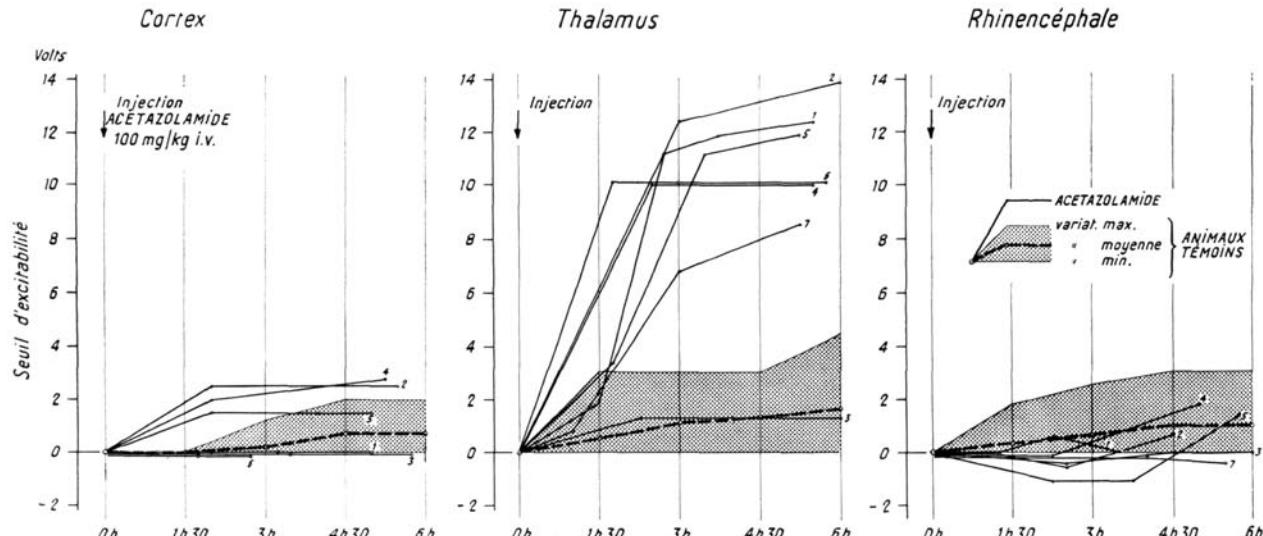
Résultats et discussion. Nous résumons par une figure les variations relatives des seuils d'excitabilité sous l'effet du Diamox, par rapport aux seuils initiaux. Ces variations sont comparées aux valeurs obtenues chez les animaux témoins.

a) *Cortex* (6 cas). Trois cas n'ont pas présenté de modifications notables du seuil d'excitabilité (1, 3, 6). Chez les 3 autres animaux, on observe une légère élévation du seuil cortical, qui n'excède guère les variations extrêmes observées dans les cas témoins.

b) *Thalamus* (7 cas). Six cas présentent une importante élévation du seuil d'excitabilité diencéphalique. Cet effet se manifeste assez rapidement: dans un cas, une heure après l'injection d'acétazolamide; il s'accentue encore par la suite.

c) *Rhinencéphale* (6 cas). Dans trois cas, le seuil d'excitabilité rhinencéphalique s'abaisse à peine après l'injection; il tend à remonter vers la fin de l'expérience. Chez trois autres animaux, le seuil est resté pratiquement stable.

La durée et l'aspect qualitatif de l'after-discharge, au niveau des trois structures stimulées, n'ont pas été modifiés d'une façon systématique par le Diamox.



Action de l'acétazolamide (Diamox) sur les seuils d'excitabilité du cortex, du thalamus et du rhinencéphale chez le lapin (7 cas), en comparaison avec des expériences témoins (7 cas). - Il s'agit de variations relatives par rapport aux seuils initiaux.