

d'Hayhow et coll. (7*) se terminent dans la partie antérieure d'un noyau relativement volumineux, étendu de la région mamillaire à l'extrémité antéro-inférieure du mésencéphale, en dedans du pied du pédoncule cérébral en avant et en dehors de la zone d'émergence des fibres du moteur oculaire commun. Ce noyau correspond au noyau de la racine optique basale de Frey (6*), ou ganglion ectomamillaire ou noyau du faisceau pédonculaire transverse de Marburg (8*), désigné par Hayhow et coll. (7*) comme noyau terminal médian du tractus optique accessoire.

Quelques fibres à direction antéro-postérieure peuvent être suivies jusqu'au niveau de la région mamillaire, en dehors des noyaux pré-mamillaire et mamillaire latéral. Nous ne pouvons actuellement préciser s'il s'agit de fibres destinées à l'hypothalamus postérieur ou d'éléments faisant partie du contingent inféro-interne du faisceau du tractus optique accessoire.

Les voies optiques accessoires paraissent également comporter chez le Cobaye un faisceau supérieur analogue à celui décrit récemment par Hayhow et coll. (7*) chez le Rat. Les observations que nous avons pu faire à ce sujet sont trop fragmentaires pour que nous puissions les rapporter ici et, en particulier, pour décider si le classique tractus pédonculaire transverse est bien, comme le supposent Hayhow et coll. (7*), représenté par les fibres les plus postérieures du faisceau supérieur du tractus optique accessoire et à direction descendante et non pas, comme le suppose Frey (6*), un tractus ascendant provenant du noyau de la racine optique basale ou, comme le pense Kappers (9*), un ensemble formé en majeure partie par un faisceau descendant dont les fibres sont issues du noyau ventral du corps genouillé latéral.

(Laboratoire d'Histologie et Embryologie, [Directeur : M. J. Barry, Faculté de Médecine, Alger].

Transformation in vitro de l'astaxanthine en vitamine A par le tissu oculaire du Rat,

par R. MASSONET, T. CONQUY et R. GRANGAUD.

Au cours de recherches antérieures, il a été montré que les Poissons sont capables d'utiliser l'astaxanthine comme précurseur de la vitamine A. En effet, l'administration de ce caroténoïde à *Gambusia holbrooki* Grd donne lieu, chez l'animal carencé, à une néoformation de rétinol décelable dans la muqueuse intestinale, le foie et les yeux (1, 2).

(7*) W. R. Hayhow, C. Webb et A. Jervie, *J. Comp. Neurol.*, 1960, t. 115, p. 187.

(8*) O. Marburg, *Arch. Ophthalm., Paris*, 1942, t. 28, p. 61.

(9*) C. U. Arjens Kappers, *Anatomie comparée du système nerveux*, Masson éd. Paris 1947, p. 400.

(1) R. Grangaud et R. Massonet, *C. R. Acad. Sc.*, 1955, t. 241, p. 1087.

(2) J. P. Moatti, Thèse de Doctorat d'Etat (Mention Pharmacie) Alger 1959.

com-
des
corps

ation
hypo-

de 12
uclea-
le ces
rizon-
es. ont
modi-
posée
com-

érieur
érieur-
is une
verser,
lative-

chitec-
rétino-
ismati-
se dis-
région

partie
chias-

en ar-
ommis-
it vers
es, qui
essoire

Press.

t. 131,

Les Mammifères ne possèdent pas la même faculté que les Poissons à l'égard de l'astaxanthine qui ne constitue pas pour eux une provitamine authentique : administrée au Rat blanc carencé en vitamine A, l'astaxanthine limite en effet son action à l'appareil oculaire, manifestant des propriétés que l'on peut considérer comme électivement antixérophtalmiques (3, 4, 5). Cette activité topographiquement limitée est en tous points comparable à celle que la vitamine A exerce au niveau de l'œil et de ses annexes.

Il était donc logique, pour tenter d'interpréter sur le plan biochimique le mécanisme encore inconnu de l'action de l'astaxanthine chez le Rat, de se demander si celui-ci n'aurait pas conservé, limitée au tissu oculaire, la faculté de conversion mise en évidence chez le Poisson. Effectivement, dans une courte note (6) ont été consignés les résultats d'expériences conduites *in vivo* et *in vitro* et apportant la vérification de cette hypothèse.

L'objet du présent travail est de décrire en détail la technique des expériences *in vitro* montrant la réalité de la conversion de l'astaxanthine en vitamine A par le tissu oculaire du Rat.

Le schéma de ces expériences a été de faire incuber dans un milieu complexe des yeux de rats carencés en vitamine A en présence ou non de diacétate d'astaxanthine. Les concentrations respectives en vitamine A des yeux mis au contact du caroténoïde et des yeux témoins ont ensuite été déterminées.

EXTRACTION DE L'ASTAXANTHINE ET PRÉPARATION DU DIACÉTATE. — Afin d'éviter l'interférence éventuelle de provitamines A naturelles ou de rétinol préformé, la technique suivante a été utilisée pour la préparation du diacétate d'astaxanthine : le caroténoïde a été extrait de la paroi des poches stomacales de deux grosses crevettes rouges de la tribu des Pénéidés (*Aristomorpha foliacea* et *Aristeus antennatus*, Risso) où il existe sous forme d'un chromoprotéide bleu dont les caractères physicochimiques s'apparentent étroitement à ceux de la crustacyanine étudiée par Wald (7). Ce chromoprotéide est en effet soluble dans l'eau et il est facile d'en détacher le groupement prosthétique. Les caractéristiques spectrales de celui-ci ($\lambda_{\max} = 492 \text{ m}\mu$ dans la pyridine) montrent qu'il s'agit d'astaxanthine entièrement trans. Après dissection, les poches prélevées sur 5 kg de crevettes, sont vidées de leur contenu, agitées avec 100 ml d'eau distillée ; la solution limpide est additionnée de 4 fois son volume d'acétone ; dans ces conditions, l'astaxanthine est détachée de sa copule protéique et la solution se colore immédiatement en rouge orangé. Par addition de 50 ml d'éther de pétrole et de 100 ml d'eau, le pigment est extrait dans la phase légère que l'on sépare par décantation et que l'on sèche sur sulfate de sodium anhydre. La solution est alors filtrée sur colonne de magnésie (200 mm de longueur sur 20 mm de diamètre). L'astaxanthine est adsorbée à la partie supérieure de la colonne (sur 2 cm)

(3) R. Grangaud et R. Massonet, *C. R. Acad. Sc.*, 1948, t. 227, p. 568.

(4) R. Grangaud et R. Massonet, *C. R. Acad. Sc.*, 1950, t. 230, p. 1319.

(5) R. Grangaud, Thèse de Doctorat ès-Sciences physiques, Lyon 1950.

(6) R. Grangaud, R. Massonet, Th. Conquy et J. Ridolfo, *C. R. Acad. Sc.*, 1961, t. 252, p. 1854.

(7) G. Wald, N. Nathanson, W. P. Jencks et E. Tarr; *Biol. Bull.*, 1948, t. 249, p. 95.

qu'on l
lavage
A, si ce
un méla
traces
zone pi
immédi

La se
phère i
hydride
rature
d'eau. (distillé
est de r
de 200
la mag
tone. L
l'éther
pression
de pyri
repos à
à deux
Tween

PROT
exacten
que aut
s'étant
phtalmi
ment p
des 6 a
tenant
dispers
dans un
de 1 ml
gés dan
nus à l'
de chac
à 60 p.
par de
phère i
des ext
de la vi
tique de
lorimét

(8) S.

(9) L.
Bieri (J.

(10) F.

(11) F.
Masson

BIOLOGIE

qu'on lave avec 50 ml d'hexane additionné de 1 ml d'acétone. Ce lavage a pour but d'éliminer les carotènes et les esters de la vitamine A, si ceux-ci avaient été présents. Un second lavage est pratiqué avec un mélange de 92 ml d'hexane et 8 ml d'éthanol, ce qui éliminerait des traces éventuelles de rétinol (8). La colonne est alors tronçonnée : la zone pigmentée est immergée dans 20 ml de pyridine qui provoque immédiatement l'élution.

La solution rouge est concentrée sous pression réduite et en atmosphère inerte jusqu'à un volume de 2 ml. On y ajoute XI gouttes d'anhydride acétique et on abandonne le tout pendant 9 heures à la température ambiante. On ajoute alors 20 ml d'éther de pétrole et 40 ml d'eau. On sépare la phase légère par décantation, on la lave à l'eau distillée, puis on la sèche sur sulfate de sodium anhydre. La solution est de nouveau chromatographiée, mais cette fois sur alumine (colonne de 200 mm de longueur et 20 mm de diamètre) que l'on traite comme la magnésie en faisant passer successivement le mélange hexane-acétone. Le pigment est élué dans la pyridine et finalement repris par l'éther de pétrole. Celui-ci est séparé, lavé, séché et concentré sous pression réduite, en atmosphère inerte. Le résidu est repris par 3 ml de pyridine chaude. Après addition de 1 ml d'eau et 24 heures de repos à 0°C, on obtient un précipité cristallin que l'on soumet encore à deux recristallisations. Le diacétate cristallisé est dispersé dans du Tween 80 à la concentration de 1 mg par ml (9).

PROTOCOLES ET RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX. — 12 rats Wistar, pesant exactement 32 grammes, ont été sevrés et soumis au régime synthétique antérieurement décrit (10). Après 40 jours, les signes de carence s'étant manifestés (arrêt de l'accroissement pondéral, début de xérophtalmie), les animaux ont été décapités et les yeux ont été immédiatement prélevés : les yeux droits de 6 des sujets et les yeux gauches des 6 autres (lot I) ont été placés dans un petit sac de collodion contenant déjà 1 ml de sérum sanguin frais et 1 millimole d' α -tocophérol dispersé dans 1 ml d'eau. Les 12 yeux restants (lot II) ont été placés dans un deuxième sac contenant le même mélange mais additionné de 1 ml de la dispersion d'astaxanthine. Les deux sacs ont été immergés dans une solution tamponnée à pH = 7 de Krebs-Ringer et maintenus à l'étuve à 37°C pendant 12 heures. Au bout de ce temps les yeux de chacun des 2 lots ont été saponifiés dans 1 ml de potasse alcoolique à 60 p. 100, à 80°C pendant 15 minutes. L'insaponifiable a été repris par de l'éther de pétrole, lavé, évaporé sous pression réduite, en atmosphère inerte. Le résidu a été repris par du chloroforme et sur chacun des extraits chloroformiques a été effectuée la recherche et le dosage de la vitamine A à l'aide de la réaction de Carr et Price, technique cinétique de Meunier et Raoul (11), les mesures étant effectuées au photocolorimètre. Les résultats suivants ont été obtenus : les yeux du lot-I (té-

(8) S. Y. Thompson, J. Ganguly et S. K. Kon, *Brit. J. Nutr.*, 1949, t. 3, p. 57.

(9) La technique de préparation est identique à celle décrite par J. G. Bieri (*J. Nutrition*, 1951, t. 44, p. 2) pour obtenir une dispersion de β -carotène.

(10) R. Massonet, Thèse de Doctorat ès-Sciences naturelles, Lyon 1958.

(11) P. Meunier et Y. Raoul, *Le diagnostic chimique des Avitaminoses*. Masson et Cie édit., Paris 1942.

moins) contenaient 0,75 µg de vitamine A, les yeux du lot II (incubation en présence d'astaxanthine) en renfermaient 1,65 µg.

Parallèlement à cette expérience, afin de vérifier que le diacétate d'astaxanthine préparé ainsi qu'il a été décrit n'était pas souillé de carotène ou de vitamine A, le contrôle suivant a encore été pratiqué : deux lots d'intestins de rats carencés ont été incubés dans des conditions identiques à celles de l'expérience qui vient d'être rapportée. Dans l'un des liquides d'incubation avait été ajouté 1 mg de β-carotène dispersé dans 1 ml de Tween 80, dans l'autre 1 mg de diacétate d'astaxanthine dans le même état de dispersion. L'analyse ultérieure pratiquée sur l'insaponifiable selon la technique générale a révélé la présence de vitamine A néoformée dans le lot auquel avait été ajouté le β-carotène; aucune trace de rétinol n'a été décelée dans le lot incubé en présence de diacétate d'astaxanthine.

Conclusion. — La conclusion qui se dégage de ces expériences est donc que la vitamine néoformée au niveau de l'œil ne peut être attribuée qu'à une transformation de l'astaxanthine. Il est vraisemblable que c'est le tissu rétinien qui est le siège de la réaction. Des expériences complémentaires sont entreprises pour apporter une précision à cet égard.

(Laboratoire de Chimie biologique, Faculté de Médecine et Pharmacie, Alger).

Etude des composés thyroïdiens dans la thyroïde et le sérum de Rat adulte.

par ANDRÉ VERAIN, ALICE VERAIN et ALBERT PONS.

L'exploration de la fonction thyroïdienne par le radioiode a soulevé de nombreux problèmes et en particulier celui du transport des hormones thyroïdiennes dans le plasma sanguin. L'interprétation de ce mécanisme reste encore très délicate et de multiples points obscurs persistent. Dans le plasma, ont été mis en évidence des iodures, de la thyroxine (T_4) (1*, 2*, 3*), de la 3:5:3'-triiodothyronine (T_3) (4*) exceptionnellement de la 3:3':5'-triiodothyronine (T'_3) (5*), seulement chez le Rat de la diiodothyronine (T_2) (6*) et jamais sauf cas pathologiques des tyrosines.

Le problème qui se posait était celui du support de ces composés. On sait que la thyroxine est liée à la structure protéique du sérum

(1*) V. Trevorrow, *J. Biol. Chem.*, 1939, t. 127, p. 737.

(2*) C. R. Harrington, *Proc. Roy. Soc. B.*, 1944, t. 132, p. 223.

(3*) A. Taurag et I. L. Chaikoff, *J. Biol. Chem.*, 1948, t. 171, p. 439.

(4*) J. Gross et R. Pitt Rivers, *Lancet*, 1952, t. 262, p. 439.

(5*) J. Roche, M. Michel et J. Nunez, *C. R. Soc. Biol.*, 1956, t. 150, p. 20.

(6*) J. Roche, R. Michel, J. Nunez et W. Wolf, *C. R. Soc. Biol.*, 1955, t. 149, p. 885.

mais
les s
une
une
forc
Cett
prot
que l
liée
surc
ajout
dépla
porte
Le
féren
l'iod
par
temp
sériu
avan
temp
féine
ne d

Te
trait
(10*
du s
gram
album
crite
te, ne
ret n
Le:
impo
pesat
a été
100 p
varia
cong
sérum

(7*

1. 169

(8*

1. 13,

(9*

(10*

1954,

(11*

(12*

(13*

calc,

(14*

(15*