

## REMERCIEMENTS

---

Nous remercions bien sincèrement

le doyen de la Faculté des Sciences Pures et Appliquées de l'Université d'Ottawa, le docteur Louis-Paul Dugal, dont nous avons hautement apprécié la direction vigilante dans le domaine captivant de la recherche expérimentale, ainsi que l'amitié loyale qu'il nous a témoignée;

le directeur du Département de Biologie, le docteur André DesMarais qui nous a manifesté sa bienveillance en plusieurs occasions;

monsieur Robert Wan et madame Irina Ben-Tchavtchavadze pour leur assistance technique;

madame Jacqueline Perrault pour le travail dactylographique;

enfin tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont facilité ce travail.

Ce travail est affectueusement dédié

à mon épouse Marina, et

à mon fils Paul.

TABLE DES MATIERES

---

	Page
INTRODUCTION I . . . . .	1
II . . . . .	4
CONDITIONS EXPERIMENTALES	
a) Approche expérimentale . . . . .	7
b) Description des traitements . . . . .	7
c) Manipulation des animaux . . . . .	8
d) Plan général . . . . .	8
e) Méthodes . . . . .	9
1. Activité enzymatique de la déshydrogénase succinique. . . . .	9
2. Détermination de la teneur en zinc . . . . .	10
RESULTATS . . . . .	13
DISCUSSION . . . . .	34
I. SURRENALE: a) Effets du "Traitement-Cortisone" . .	34
b) Effets du "Traitement-Froid" . . .	44
II. FOIE: a) Effets du "Traitement-Cortisone" . . . .	46
b) Effets du "Traitement-Froid" . . . . .	47
III. DIAPHRAGME: a) Effets du "Traitement-Cortisone" .	48
b) Effets du "Traitement-Froid" . . .	49
CONCLUSIONS . . . . .	50
I- Surrénale . . . . .	50
II- Foie . . . . .	51
III- Diaphragme . . . . .	51
BIBLIOGRAPHIE . . . . .	54

## ABREGE

Cette recherche a été entreprise dans le but de déterminer s'il existe une relation entre les changements de l'activité enzymatique de la déshydrogénase succinique (D.S.) et les changements de la teneur en zinc de certains tissus du rat. Nous avons choisi d'étudier les changements de l'activité de D.S. pour les raisons suivantes: d'une part il a été démontré que l'exposition au froid produit une augmentation de l'activité de D.S. (1, 2); d'autre part, la teneur en zinc de certains tissus augmente après exposition au froid (39). Enfin, Solomon et Dowling (3) suggèrent que le zinc agit comme co-facteur essentiel à l'activité de D.S.

De toutes les façons d'étudier l'existence d'une relation "activité enzymatique - teneur en zinc", nous en avons choisi une qui consiste à établir des conditions de traitements que l'on sait pouvoir affecter l'activité enzymatique et observer si ces traitements affectent aussi la teneur en zinc, et vice-versa.

### Résultats.

Nous avons employé deux traitements: l'un, injections quotidiennes de cortisone; l'autre, exposition au froid (+20°C.). Voici les résultats obtenus:

1. Dans les surrénales, l'activité spécifique de D.S. diminue à la suite du traitement à la cortisone, tandis que la concentration en zinc augmente. Mais le froid produit, au début de l'exposition une augmentation de l'activité spécifique de D.S., pendant que la concentration en zinc diminue.

Paradoxalement, il s'agirait là d'une relation inverse. Cette relation est transitoire, puisqu'en prolongeant l'exposition au froid jusqu'à 20 et 30 jours, les valeurs pour l'activité de D.S. redeviennent normales, alors que la concentration en zinc se trouve toujours diminuée.

2. L'activité spécifique de D.S. diminue dans le foie, pendant que la concentration en zinc varie d'une façon inconsistante à la suite du traitement à la cortisone. Le froid produit une augmentation de l'activité spécifique de D.S., mais n'altère pas la concentration en zinc.

3. Dans le diaphragme, la cortisone n'a aucun effet sur l'activité spécifique de D.S., mais produit une augmentation dans la concentration en zinc. Le froid produit une augmentation, et dans l'activité de D.S., et dans la concentration en zinc.

#### Conclusions.

1. Dans le cas des surrénales, il ne s'agit que d'une relation apparente; la teneur totale n'est pas affectée par aucun des deux traitements. Les changements dans la concentration en zinc viennent plutôt du fait que ces deux traitements ont un effet inverse sur le poids des surrénales: la cortisone produisant l'atrophie pondérale, l'exposition au froid conduisant à l'hypertrophie. Ainsi, lorsque les valeurs trouvées pour le zinc sont exprimées en valeurs relatives, i.e., en concentration, elles montrent évidemment des différences: augmentation dans la surrénale atrophiée, diminution dans la surrénale hypertrophiée.

2. Nous pensons avoir ainsi pour la première fois mis en lumière le phénomène de rétention de la quantité totale de zinc dans les surrénales.

3. Nous expliquons aussi le phénomène déjà observé mais laissé sans explication, de l'augmentation de la concentration en zinc dans les surrénales après traitement à la cortisone.

4. Nous indiquons de plus le site de cette rétention du zinc dans les surrénales.

5. Nous croyons avoir établi qu'il n'y a pas de relation réelle entre les changements de l'activité de D.S. et ceux de la concentration en zinc dans les homogénats complets du foie et du diaphragme. Cependant, dans le cas de ce dernier tissu, nous obtenons malgré tout une "coïncidence" d'augmentation de teneur en zinc et d'activité de D.S., chez l'animal exposé au froid. Cette "coïncidence" mérite d'être approfondie par des méthodes de détermination sur les unités enzymatiques elles-mêmes, isolées du tissu. Il se peut bien qu'alors, cette coïncidence, mise à jour dans ce travail, prenne plus d'importance, et que l'augmentation de zinc revête le caractère d'une "condition" pour la synthèse de nouvelles unités enzymatiques, elles-mêmes responsables de la production de chaleur accrue que l'on retrouve dans le muscle strié de l'animal acclimaté au froid.

INTRODUCTION

Quand on pense que parmi les éléments, le zinc n'est que le 25<sup>ième</sup> en abondance dans la nature, on peut se demander pourquoi il a suscité tant d'intérêt. Pendant longtemps, le fer et le cuivre se sont disputé la vedette avec le magnésium et le manganèse. Pourtant, il fallut bien s'expliquer cette omniprésence de l'oligoélément dans les tissus biologiques en proportions plus grandes que d'autres éléments, pourtant plus abondants dans le milieu. Et peu à peu, ce figurant ubiquiste prit l'affiche; au point qu'aujourd'hui, il semble avoir pris la vedette des études métaboliques des oligoéléments.

C'est en 1869 que Raulin (5) en France, démontra qu'il est essentiel dans la croissance d'*Aspergillus niger*. Cette découverte ne suscita que peu d'intérêt puisque ce n'est que cinquante ans plus tard que furent entrepris des travaux sérieux. Il est vrai que son ubiquité universelle dans la matière vivante n'était basée que sur des évidences qualitatives et fragmentaires à cause de difficultés techniques d'évaluation. Mais en 1926, lorsque Lutz (6) démontra que le zinc était présent dans tous les organes du chat, du rat et de l'homme, et que ses résultats étaient constants, on ne pouvait plus croire qu'il s'agissait de contamination. C'est à partir de cette date que furent entreprises des études continues. On a pu obtenir expérimentalement des symptômes de déficience spécifique chez les végétaux à partir des champignons jusqu'aux plantes plus spécialisées, et aujourd'hui plusieurs travaux (7, 8) décrivent l'effet du zinc sur la croissance des

plantes. En 1934 (9) et en 1935 (10, 11) apparaissent les premières publications sur le rôle du zinc dans la nutrition des animaux, et depuis, on est parvenu à plusieurs reprises à obtenir des symptômes de déficience spécifique chez la souris (12, 13), le rat (14 - 20) et même chez le porc (21).

Mais jusqu'en 1940, personne n'avait encore pu répondre à la question bien évidente: quel est le rôle du zinc dans les tissus biologiques? Cette année là, Keilin et Mann (22) ont établi que le zinc fait partie intégrante de l'enzyme anhydrase carbonique qu'ils venaient de purifier, et qu'il est essentiel au mécanisme d'action de l'enzyme. Et depuis cette date, la plupart des travaux furent orientés vers l'identification du zinc dans de nombreux enzymes et sur le rôle qu'il y joue dans cette association. Il nous semble inutile de relever ici tous les travaux publiés dans ce domaine, puisque d'excellentes revues ont paru depuis (23, 24, 25, 26); nous ne mentionnerons que ceux auxquels nous aimerions faire allusion dans la discussion de nos résultats.

Toute la littérature sur le métabolisme du zinc est unanime à considérer cet élément comme ubiquiste. Ce fait serait dû à un ensemble de propriétés chimiques fondamentales du zinc qui font que dans les tissus biologiques, on ne le rencontre pas sous forme d'ion libre en solution; on le trouve plutôt invariablement sous forme de complexe avec les acides aminés, les peptides et les protéines, au niveau des groupements imidazoles (27) et sulfhydryles (28).

On s'imagine facilement pourquoi, parmi les métalloprotéines étudiées, les enzymes eurent préséance: c'est là que l'on trouverait le rôle du zinc dans le matériel biologique. Et c'est ainsi que dans l'espace

de quelques années, on établit la présence du zinc dans plusieurs enzymes, et l'on essaya d'en préciser le rôle à ce niveau.

#### Anhydrase carbonique.

Pour cet enzyme, on n'est pas encore certain si le zinc qu'il renferme tient lieu de groupe prosthétique, ou s'il agit comme co-enzyme. Mais on a pu déterminer que le lien "zinc-enzyme" est très ferme. En effet, lorsque l'enzyme est mis en solution avec le zinc<sup>65</sup>, il ne se fait pratiquement pas d'échange, même après 32 jours de contact intime entre l'enzyme et le zinc radioactif (29). De plus, un certain nombre de composés ayant la propriété de former des complexes avec les ions métalliques inhibent l'activité de cet enzyme. Cette inhibition semble indiquer que le zinc occupe un site actif sur l'enzyme (22).

#### Déshydrogénase alcoolique.

Cet enzyme a été isolé et purifié à partir de la levure en 1937 par Negelein et Wulff (30). La molécule a un poids moléculaire d'environ 150,000. En 1955, Vallée (31) démontrait l'existence de 4 atomes de zinc par molécule. En 1958, il cultivait la levure en présence de zinc<sup>65</sup>, et obtenait la biosynthèse d'une déshydrogénase contenant exactement 4 atomes de zinc radioactif par molécule. Une fois ce zinc incorporé à la molécule, il ne pouvait être interchangé, comme le montrèrent des essais d'échange (32).

Dans une préparation donnée de l'enzyme, le zinc en excès de quatre atomes par molécule, et tout autre métal contaminant, peuvent être enlevés par dialyse au pH 6. Cette purification produit une augmentation de l'activité enzymatique. Par contre, si la dialyse est faite à un pH plus acide, on assiste à une perte d'activité correspondant à la perte en zinc. Ainsi,

au pH 5 la teneur en zinc et l'activité sont toutes deux réduite de 50%; et au pH 4, tout le zinc est dialysé et l'enzyme ne travaille plus (33). Des effets identiques ont été obtenus avec la déshydrogénase alcoolique extraite du foie de cheval. Remarquons que cet enzyme ne contient que 2 atomes de zinc par molécule, et ne possède que 2 molécules de DPN (34).

#### Déshydrogénase glutamique.

Cet enzyme, isolé et purifié à partir du foie de boeuf, est une autre déshydrogénase agissant par l'intermédiaire du groupement DPN (35). Il contient du zinc dans des proportions stoechiométriques. Ce sont des études d'inhibition qui ont le mieux mis en évidence le rôle du zinc: on s'est rendu compte qu'en employant l'orthophénanthroline, qui est un composé chélateur, i.e., ayant la propriété de lier les ions métalliques, l'inhibition obtenue est caractéristique de l'inhibition du co-enzyme DPN (36). On a donc là une indication sérieuse à l'effet que le co-enzyme est lié à l'enzyme dans le voisinage d'un atome de zinc; certains auteurs vont même jusqu'à suggérer que c'est justement l'atome de zinc qui sert de lien entre l'enzyme et le co-enzyme. Des résultats absolument comparables ont été obtenus pour les déshydrogénases lactique (37) alcoolique (38).

L'indispensabilité du zinc dans le fonctionnement de certains enzymes du métabolisme intermédiaire est donc un phénomène assez bien établi et l'on pourrait dire, indiscutable. Mais qu'on nous permette de préciser qu'il s'agit, dans la littérature mentionnée plus haut, de preuves faites dans l'enzyme manipulé hors de son milieu naturel. Il faut penser de plus

que ces manifestations des propriétés du zinc, vis-à-vis des enzymes, sont démontrées lorsqu'on a, pour ainsi dire, "forcé" l'enzyme à se départir du zinc, soit par dialyse ou autre procédé "brutal", après l'avoir "isolé" et "purifié". Pour en venir au fait, demandons-nous si cette indispensabilité du zinc pour l'action enzymatique, démontrée in vitro, serait aussi critique que l'on veut le croire in vivo? Il ne s'agit pas de douter des résultats biochimiques obtenus in vitro; mais il nous importe de savoir si la teneur en zinc dans les tissus est un facteur critique, et même limite de l'activité enzymatique. Autrement dit, est-ce qu'il y a une relation entre la teneur en zinc et l'activité enzymatique dans les tissus, i.e., in vivo.

Ayant posé notre problème dans son aspect général, disons maintenant que nous avons, bien entendu, un phénomène précis à explorer: celui de l'augmentation de la concentration en zinc dans certains tissus après exposition au froid, phénomène observé par Dugal (39). La question était de savoir à quel phénomène physiologique correspond cette augmentation de la teneur en zinc. Nous avons donc décidé d'examiner la suggestion que les variations de la teneur en zinc pouvaient correspondre aux variations du métabolisme des tissus, plus précisément au niveau de l'activité enzymatique. Enfin, pour diriger nos travaux dans une voie précise, nous avons formulé l'hypothèse suivante: "Il existe une relation entre les variations de la teneur en zinc des tissus et celles de leur activité de D.S."

Posé de cette façon, le problème devenait plus circonscrit, et se soumettait plus facilement à l'expérimentation, car nous avons les moyens de faire varier chacun des deux membres de la relation. Ces moyens

sont décrits dans la section "Conditions expérimentales".

Il nous reste à expliquer pourquoi nous avons choisi d'étudier les variations de l'activité de D.S.; il y avait d'autres enzymes comme ceux mentionnés plus haut, pour qui le zinc fait partie intégrante de la molécule. Alors pourquoi D.S.?

Disons en premier lieu que si le zinc ne fait pas partie constituante de l'enzyme, il est quand même un co-facteur essentiel à son activité (3). Mais justement, c'est à peu près tout ce que l'on sait du zinc et de son association avec D.S. Et encore, ce que l'on en sait nous vient de travaux faits in vitro. Nous ne connaissons pas de travaux consacrés à l'étude in vivo de cette relation. Ce seul fait justifiait amplement, il nous semble, le choix de D.S. dans notre étude.

De plus, l'oxidation du succinate représente le mieux ce que l'on appelle d'une façon générale: "le métabolisme des tissus". A ce titre, cet enzyme, situé en plein cycle de Krebs, représente mieux ce "métabolisme des tissus", et en tous cas d'une manière plus directe, que d'autres enzymes comme l'anhydrase carbonique, les déshydrogénases lactique, alcoolique, glutamique, et autres contenant du zinc, mais situés à des carrefours particuliers du métabolisme intermédiaire.

Enfin, et justement à cause de cette raison que nous venons d'invoquer, il nous serait possible d'accepter ou de rejeter la proposition que "l'accumulation du zinc dans les tissus correspond à une augmentation du métabolisme", qu'il y ait ou non relation entre l'activité de D.S. et la teneur en zinc.

CONDITIONS EXPERIMENTALES

a. Approche expérimentale.

Comme il en a été fait mention dans le résumé, il existe plusieurs façons de mettre en évidence ou de nier une relation possible entre les changements de l'activité enzymatique de D.S. et les changements de la teneur en zinc dans les tissus de l'animal. En général, quels que soient les détails de l'approche expérimentale, on peut étudier le problème de deux façons. L'une consiste à susciter, à l'aide d'un traitement, des altérations dans l'activité enzymatique de D.S., et à observer les changements dans la teneur en zinc. L'autre approche consiste dans le même procédé, appliqué à l'inverse: susciter par un traitement quelconque des changements dans la teneur en zinc, et observer les changements dans l'activité enzymatique.

b. Description des traitements.

Parmi les traitements dont on connaissait les effets sur l'un ou l'autre des deux membres de la relation à étudier, nous avons choisi la cortisone et l'exposition au froid.

Plus précisément, nous savions que dans les surrénales, la cortisone, en injections quotidiennes sous-cutanées, produit une chute de l'activité enzymatique de D.S. (40), et que l'exposition au froid produit l'effet contraire (40, 2). Nous savions aussi que dans le foie, la cortisone (41) et le froid (2, 42) produisent respectivement des effets identiques à ceux observés dans les surrénales.

D'autre part, nous savions (39) que l'exposition au froid provoque des changements dans la concentration en zinc de certains tissus. C'est d'ailleurs ce phénomène qui a inspiré le présent travail. Les deux traitements furent donc appliqués de la façon suivante:

Cortisone: dans tous les cas, sans exception, où nous mentionnons "traitement - cortisone", cela signifie une injection quotidienne, unique, par voie sous-cutanée, de 5 mg. de Cortone (Merk, Sharp and Dohme, acétate de cortisone U.S.P. en suspension stérile). La durée de ce traitement varie de la façon indiquée, pour chaque expérience, dans les tableaux des résultats.

Froid: "Traitement - Froid" signifie exposition des animaux à une température ambiante moyenne de  $+2^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . La durée du traitement varie de la même façon que pour le "Traitement - Cortisone", et est indiquée dans les tableaux des résultats.

c. Manipulation des animaux.

Dans toutes nos expériences, nous nous sommes servis de rats albinos mâles, de souche Wistar; le poids moyen de ces animaux est indiqué pour chaque expérience dans le tableau des résultats.

Tous les animaux furent isolés dans des cages séparées, et nourris ad libitum au Purina Laboratory Chow, et à l'eau du robinet.

d. Plan général.

Le plan général des expériences est relativement simple: nous avons soumis un groupe d'animaux au traitement à la cortisone, un autre fut exposé au froid, et un groupe témoin fut gardé à la température du laboratoire, et laissé sans traitement. Toutes les expériences furent conduites de cette façon; elles ne varient dans leur plan particulier que par la durée du traitement (5, 10, 20 et 30 jours), que nous indiquons d'ailleurs dans les tableaux des résultats. A la fin de la période de traitement, les animaux étaient sacrifiés instantanément en frappant la tête de l'animal sur le bord

de la table. Nous ne pouvions pas nous servir de l'anesthésie, parce que nous devons faire des déterminations enzymatiques sur les tissus de l'animal.

A l'autopsie, nous avons recueilli les données suivantes: le poids de l'animal, enregistré sur balance Mettler (une division: un gramme); les poids frais et sec des surrénales, enregistrés sur balance à torsion Roller-Smith (une division: un milligramme); la teneur en zinc et l'activité enzymatique de D.S. dans les surrénales, dans le foie et dans le diaphragme.

e. Méthodes.

1°. Activité enzymatique de la déshydrogénase succinique.

Nous avons employé la méthode décrite par Perry et Cumming (40) pour la détermination de l'activité enzymatique de D.S. dans les homogénats de surrénales, et l'avons appliquée de façon similaire dans le foie et le diaphragme. En substance, cette méthode consiste dans la préparation d'un homogénat dans un tube Potter-Elvehjem contenant 1 ml. d'une solution 0.2M de succinate de sodium, et 1 ml. d'un tampon phosphate (0.1M). Pendant l'homogénéisation, le tube est maintenu dans un bécber contenant de la glace pillée. A l'homogénat ainsi préparé, on ajoute successivement 0.5ml. de la solution 0.2M de succinate de sodium, 0.5 ml. du tampon phosphate, et 0.5 ml. d'une solution à 1.% de chlorure de triphényl tétrazolium (CTT). Le tube est ensuite immédiatement saturé d'azote, bouché, puis placé à la noirceur dans un bain à température constante de 37°C. pendant 60 minutes.

A la fin de la période d'incubation, la préparation a pris une couleur allant du rose pâle au rouge dense. Ceci est dû au phénomène suivant: le sel de tétrazolium à l'état oxidé est incolore et soluble dans l'eau.

Lorsqu'il est réduit, chimiquement ou enzymatiquement, il se colore et devient insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'acétate d'éthyle et autres solvants du genre. L'intensité de cette couleur dépend du degré de réduction effectué.

On ajoute alors exactement 5 ml. d'acétate d'éthyle, et on agite vigoureusement. Le CTT, réduit et coloré, vient alors se dissoudre dans la phase acétate d'éthyle, dont on détermine ensuite la densité optique à une longueur d'onde de 485 m $\mu$ . d'un spectrophotomètre Coleman Universal. Les valeurs ainsi obtenues sont converties en microgrammes de CTT réduit, à l'aide d'une courbe standard, préparée en réduisant complètement des quantités mesurées (20 à 100 $\mu$ mg.) de CTT dans 4 ml. du tampon phosphate avec quelques cristaux d'hydrosulfite de sodium. Le formazan ainsi produit est extrait dans l'acétate d'éthyle et sa densité optique déterminée de la façon décrite plus haut. Faites dans ces conditions, des déterminations répétées étaient constantes dans des limites de 3 à 5%.

## 2°. Détermination de la teneur en zinc.

Nous avons utilisé la méthode de Vallee et Gibson (43) qui permet la détermination précise d'une quantité totale aussi petite qu'un microgramme de zinc dans les tissus. Comme il s'agit d'une méthode assez compliquée et très fastidieuse à cause des précautions de chaque instant pour prévenir la contamination, nous n'en donnerons ici que le principe et les manipulations principales, omettant la longue liste de précautions contre les contaminations, et de soins précis à apporter dans le nettoyage de la vaisselle employée. Disons tout simplement que les recommandations des auteurs furent suivies à la lettre.

### i) Principe.

Le diphénylthiocarbazone (dithizone) est un colorant organique

qui se combine au zinc dans des proportions stoechiométriques pour former le dithizonate de zinc. On opère cette formation du complexe en pH 5.5, en présence d'une solution de tartrate de sodium et de potassium, et d'un tampon acétate-cyanure-thiosulfate. La solution de zinc ainsi tamponnée est mise en présence du dithizone, dissout dans le  $\text{CCl}_4$ , par une agitation vigoureuse du contenant. Après repos, le dithizonate de zinc ainsi formé, et reposant dans la phase  $\text{CCl}_4$ , est analysé par colorimétrie à deux longueurs d'ondes critiques. 620 m $\mu$ , représentant le maximum d'absorption pour le dithizone dans le  $\text{CCl}_4$ ; et 520 m $\mu$  représentant le maximum d'absorption pour le dithizonate de zinc, alors qu'à 620 m $\mu$ , il est transparent. La teneur en zinc des échantillons est calculée d'après l'équation suivante:

$$Z = \frac{\left( D.O.^{520} - \frac{D.O.^{620}}{R} \right) \times D \times K}{\frac{100}{V}} \quad (1)$$

Z: quantité totale de zinc en microgrammes.

D.O.<sup>520</sup>: densité optique de la solution de dithizonate de zinc, lue à 520 m $\mu$ .

D.O.<sup>620</sup>: densité optique de la solution de dithizonate de zinc, lue à 620 m $\mu$ .

R: rapport de la densité optique lue à 620 m $\mu$ . sur celle lue à 520 m $\mu$ .; cette constante, habituellement d'une valeur de 5, indique que la densité optique d'une solution donnée de dithizone lue à 620 m $\mu$ . est environ 5 (ou R) fois plus grande que celle lue à 520 m $\mu$ . C'est pourquoi dans la formule (1), on fait l'opération  $\frac{D.O.^{620}}{R}$ , avant de soustraire à D.O.<sup>520</sup>.

Pour convertir cette lecture de densité optique " $D.O.^{520} - \frac{D.O.^{620}}{R}$ "

en microgrammes de zinc, la constante K est déterminée préalablement sur la

même solution de dithizone à l'aide de quantités connues de zinc selon la formule suivante:

$$K = \frac{2 Z}{D.O.corr. \times D} \quad (2)$$

D.O.corr.: abréviation pour  $D.O. \frac{520}{R} - D.O. \frac{620}{R}$

On s'aperçoit que pour transformer des valeurs de D.O. en microgrammes dans l'équation (2), il faut les multiplier par ce facteur K; en effet, l'équation (2) retransformée le montre bien:

$$D.O.corr. \times K = 2 Z$$

V: volume où tout le dithizonate de zinc extrait est dissout.

D: dilution à partir du volume original V, pour fin de lecture de D.O. sur l'appareil.

ii. Manipulations.

Un échantillon de tissu est prélevé et mis à sécher pendant 24 heures dans un four à 70°C. Le tissu complètement sec est alors mis dans un creuset de porcelaine que l'on place dans un four où l'on monte la température à 600°C. La réduction complète en cendres requiert jusqu'à 24 heures. Les cendres sont alors recueillies par addition dans le creuset d'environ 25cc d'une solution 2N de HCl. Cette solution de chlorure de zinc est alors réduite par évaporation à un volume de 5cc, puis transférée quantitativement dans un entonnoir à décantation du type squibb. Puis on ajoute 2cc d'une solution à 20% de tartrate de sodium et de potassium. Après avoir ajusté le pH à 5.5 avec le méthyle rouge comme indicateur, on ajoute 50cc d'un tampon acétate-cyanure-thyosulfate. La solution de chlorure de zinc ainsi tamponnée

est alors prête pour l'extraction avec le dithizone. Celui-ci, dissout dans le  $\text{CCl}_4$ , est alors mis en contact avec la solution de zinc par une agitation vigoureuse pendant 2 minutes. Après repos, le dithizonate de zinc est entraîné par décantation dans un ballon jaugé de 50cc. L'extraction du zinc par le dithizone est répétée jusqu'à ce que tout le zinc présent soit entraîné, ceci étant indiqué par la permanence de la couleur verte caractéristique du dithizone. Le volume de la solution de dithizonate de zinc est alors porté à 50cc, et l'on procède ensuite à l'examen colorimétrique aux deux longueurs d'ondes, de la manière décrite plus haut.

#### RESULTATS

Afin d'avoir une vue d'ensemble qui embrasse tous les résultats majeurs de ces travaux, nous présentons d'abord les "Tableaux Synoptiques". Ceux-ci sont dégagés de toute considération d'ordre statistique, des valeurs absolues, etc., et l'on n'y retrouve que l'essentiel, c'est-à-dire, l'effet du traitement, exprimé en pourcentage de différence par rapport au groupe témoin. C'est à ces tableaux que nous référerons dans la "Discussion".

Au bas de chaque tableau synoptique est indiquée une référence. Celle-ci correspond à un "tableau-référence", où l'on retrouvera les mêmes effets des traitements, mais cette fois, ils seront documentés des valeurs réelles obtenues, de l'erreur standard de la moyenne, du nombre de sujets dans les groupes témoin et traité, et enfin, de la valeur de probabilité P.

TABLEAU SYNOPTIQUE A

Effets du "Traitement-Cortisone" sur divers paramètres de la surrénale Différence en % par rapport au groupe témoin					
Durée du traitement	Concentration en zinc	Activité de D.S.	Poids frais de la surrénale	Teneur totale en microgramme de zinc	
				Témoin	Traité
5 jours	+ 29.7 %	-11.9 %	-29.4 %	4.93 ± .44	4.69 ± .27
10 jours	+ 137.8 %	—	-42.0 %	5.06 ± .51	6.74 ± .67
10 jours	+ 211.2 %	-38.0 %	-56.9 %	4.42 ± .43	5.56 ± .41
20 jours	+ 176.4 %	-53.8 %	-58.2 %	3.41 ± .27	3.08 ± .41
30 jours	—	-35.2 %	-52.7 %	—	—
Référence	a-1	a-2	a-3	a-4	

Tableau référence a-1

Effets du "Traitement-Cortisone" sur la concentration en Zinc dans la surrénale					
Durée du traitement	µg de Zinc/100 mg poids sec		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	88.7 ± 8.6*	115.1 ± 30.7	+ 29.7	15	<.02
10 jours	92.33 ± 10.9	219.6 ± 28.0	+ 137.8	7	<.001
10 jours	80.9 ± 8.1	251.7 ± 27.1	+ 211.2	14	<.001
20 jours	59.2 ± 5.1	163.8 ± 21.1	+ 176.4	12	<.001

\* Moyenne ± erreur standard.

N = nombre d'animaux dans chaque groupe.

Tableau référence a-2

Effets du "Traitement-Cortisone" sur l'activité de D.S. dans la surrénale					
Durée du traitement	µg de CTT réduit/100 mg poids frais		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	280.5 ± 33.7	238.4 ± 13.2	-14.9	13	n.s.
10 jours	483.8 ± 30.2	299.9 ± 27.6	-38.0	13	<.001
20 jours	467.0 ± 28.0	216.5 ± 18.4	-53.8	16	<.001
30 jours	402.2 ± 14.3	261.7 ± 26.1	-35.2	12	<.001

Tableau référence a-3

Effets du "Traitement-Cortisone" sur le poids frais de la surrénale					
Durée du traitement	Poids frais en mg de la surrénale		Diff. %	N	P
	Témoïn	Traité			
5 jours	19.72 ± .07	13.93 ± .06	-29.4	15	<.001
10 jours	19.0 ± .89	11.4 ± .89	-42.0	7	<.001
10 jours	19.42 ± .92	8.37 ± .42	-56.9	14	<.001
20 jours	18.60 ± .61	7.30 ± .48	-60.7	15	<.001
30 jours	20.5 ± 1.4	9.70 ± .44	-52.7	15	<.001

Tableau référence a-4

Effets du "Traitement-Cortisone" sur la teneur totale en zinc dans la surrénale séchée					
Durée du traitement	Teneur totale en µg de zinc		N	t	P
	Témoïn	Traité			
5 jours	4.93 ± .44	4.69 ± .27	15	0.460	n.s.
10 jours	5.06 ± .51	6.74 ± .67	7	1.98	n.s.
10 jours	4.42 ± .43	5.56 ± .41	14	1.75	n.s.
20 jours	3.41 ± .27	3.08 ± .41	12	0.665	n.s.

TABLEAU SYNOPTIQUE B

Effets du "Traitement-Cortisone" sur divers paramètres de la surrénale et sur le poids corporel. Différence en % par rapport au groupe témoin.					
Durée du traitement	Poids corporel		Poids frais de la surrénale	Teneur en eau	
	Témoin	Traité		Témoin	Traité
5 jours	+ 16.0 %	+ 0.5 %	-29.4 %	71.4%	71.4%
10 jours	+ 29.0 %	+ 0.8 %	-42.0 %	71.05%	71.9%
10 jours	+ 42.0 %	+ 1.4 %	-56.9 %	71.4%	71.6%
10 jours	+ 30.0 %	- 0.6 %	-52.8 %	72.4%	74.5%
20 jours	+ 72.0 %	+13.3 %	-60.7 %	68.8%	71.6%
30 jours	+ 100.1 %	+12.2 %	-52.7 %	70.9%	67.9%
Référence	b-3		a-3	b-1, b-2	

Tableau référence b-1

Effet du "Traitement-Cortisone" sur la teneur en eau des surrénales.	
Groupe témoin	Groupe traité
<p>Nombre d'animaux dans chaque groupe: 15</p> <p>Poids frais moyen: 19.72 mg</p> <p>Poids sec moyen: - <u>5.63</u> mg</p> <p>Eau: 14.09 mg</p> <p>Pourcentage: 71.4 %</p>	<p>Durée du traitement: 5 jours</p> <p>Degré de l'atrophie: 29.4%</p> <p>Poids frais moyen : 13.93 mg</p> <p>Poids sec moyen :- <u>3.98</u> mg</p> <p>Eau : 9.95 mg</p> <p>Pourcentage : 71.4 %</p>
<p>Nombre d'animaux dans chaque groupe: 7</p> <p>Poids frais moyen: 19.00 mg</p> <p>Poids sec moyen: - <u>5.50</u> mg</p> <p>Eau: 13.50 mg</p> <p>Pourcentage: 71.05 %</p>	<p>Durée du traitement: 10 jours</p> <p>Degré de l'atrophie: 42.0%</p> <p>Poids frais moyen : 11.40 mg</p> <p>Poids sec moyen :- <u>3.20</u> mg</p> <p>Eau : 8.20 mg</p> <p>Pourcentage : 71.9 %</p>
<p>Nombre d'animaux dans chaque groupe: 14</p> <p>Poids frais moyen: 19.42 mg</p> <p>Poids sec moyen: - <u>5.56</u> mg</p> <p>Eau: 13.86 mg</p> <p>Pourcentage: 71.4 %</p>	<p>Durée du traitement: 10 jours</p> <p>Degré de l'atrophie: 56.9%</p> <p>Poids frais moyen : 8.37 mg</p> <p>Poids sec moyen :- <u>2.37</u> mg</p> <p>Eau : 6.00 mg</p> <p>Pourcentage : 71.6 %</p>

Tableau référence b-2

Effet du "Traitement-Cortisone" sur la teneur en eau des surrénales.	
Groupe témoin	Groupe traité
<p>Nombre d'animaux dans chaque groupe: 10</p> <p>Poids frais moyen: 34.96 mg</p> <p>Poids sec moyen: - <u>9.64</u> mg</p> <p>Eau: 25.32 mg</p> <p>Pourcentage: 72.4 %</p>	<p>Durée du traitement: 10 jours</p> <p>Degré de l'atrophie: 52.8%</p> <p>Poids frais moyen : 16.50 mg</p> <p>Poids sec moyen : - <u>4.20</u> mg</p> <p>Eau : 12.30 mg</p> <p>Pourcentage : 74.5 %</p>
<p>Nombre d'animaux dans chaque groupe: 15</p> <p>Poids frais moyen: 18.60 mg</p> <p>Poids sec moyen: - <u>5.80</u> mg</p> <p>Eau: 12.80 mg</p> <p>Pourcentage: 68.8 %</p>	<p>Durée du traitement: 20 jours</p> <p>Degré de l'atrophie: 58.2%</p> <p>Poids frais moyen : 7.30 mg</p> <p>Poids sec moyen :- <u>2.07</u> mg</p> <p>Eau : 5.23 mg</p> <p>Pourcentage : 71.6 %</p>
<p>Nombre d'animaux dans chaque groupe: 15</p> <p>Poids frais moyen: 20.50 mg</p> <p>Poids sec moyen: - <u>5.96</u> mg</p> <p>Eau: 14.54 mg</p> <p>Pourcentage: 70.9 %</p>	<p>Durée du traitement: 30 jours</p> <p>Degré de l'atrophie: 52.0%</p> <p>Poids frais moyen: : 8.89 mg</p> <p>Poids sec moyen :- <u>2.85</u> mg</p> <p>Eau : 6.04 mg</p> <p>Pourcentage : 67.9 %</p>

Tableau référence b-3

Effets du "Traitement-Cortisone" sur le poids corporel.					
Groupe Témoin					
Durée du traitement	Poids corporel en grammes		Diff. %	N	P
	Poids initial	Poids final			
5 jours	199.0 ± 4.3	232.0 ± 4.7	+ 16.0	15	< .001
10 jours	232.7 ± 4.0	302.3 ± 7.9	+ 29.0	7	< .001
10 jours	171.5 ± 2.5	242.5 ± 7.4	+ 42.0	14	< .001
10 jours	192.7 ± 3.6	250.6 ± 6.9	+ 30.0	10	< .001
20 jours	173.0 ± 3.0	298.0 ± 7.9	+ 72.0	15	< .001
30 jours	166.9 ± 4.0	334.0 ± 12.	+ 100.1	15	< .001
Groupe traité					
5 jours	196.0 ± 6.0	197.0 ± 4.9	+ 0.5	15	n.s.
10 jours	224.0 ± 2.6	225.9 ± 6.7	+ 0.8	7	n.s.
10 jours	167.6 ± 3.2	170.1 ± 7.7	+ 1.4	14	n.s.
10 jours	191.3 ± 6.8	190.1 ± 8.2	- 0.6	10	n.s.
20 jours	185.6 ± 3.4	210.3 ± 6.6	+ 13.3	15	n.s.
30 jours	196.0 ± 3.1	220.4 ± 4.0	+ 12.2	15	n.s.

TABLEAU SYNOPTIQUE C

Effets du "Traitement-Cortisone" sur divers paramètres de la surrénale.				
Durée du traitement	Poids frais de la surrénale	% de la "partie protéique" par rapport au poids sec.		Concentration en zinc dans la surrénale délipidée
		Témoin	Traité	
10 jours	-41.7%	83.1%	86.7%	+ 358.6%
10 jours	-52.5%	74.1%	74.7%	+ 274.4%
Référence	c-1	c-2		c-3

Tableau référence c-1

Effet du "Traitement-Cortisone" sur le poids frais de la surrénale.					
Durée du traitement	Poids frais en mg de la surrénale		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
10 jours	38.05 ± 1.7	22.17 ± 0.6	-41.7	10	<.001
10 jours	34.96 ± 2.8	16.50 ± 0.8	-52.5	10	<.001

Tableau référence c-2

Effet du "Traitement-Cortisone" sur le % de la "partie protéique" par rapport au poids sec.					
Durée du traitement	% de la "partie protéique" par rapport au poids sec		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
10 jours	83.1 ± 1.85	86.7 ± 1.67	+ 3.60	10	n.s.
10 jours	74.1 ± 1.46	74.7 ± 1.62	+ 0.8	10	n.s.

Tableau référence c-3

Effet du "Traitement-Cortisone" sur la concentration en Zn dans la "surrénale délipidée".					
Durée du traitement	µmg de Zinc/100 mg surrénale délipidée		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
10 jours	71.69 ± 2.7	257.12 ± 29.	+ 358.6%	10	<.001
10 jours	35.14 ± 3.6	131.55 ± 22.	+ 274.4%	10	<.001

TABLEAU SYNOPSIS D

Effets du "Traitement-Froid" sur divers paramètres de la surrénale.					
Durée du traitement	Différence en % par rapport au groupe témoin			Teneur totale en µg de Zinc	
	Concentration en zinc	Activité de D.S.	Poids frais de la surrénale	Témoin	Traité
5 jours	-16.46%	+ 47.2%	+ 12.97%	4.69 ± .49	4.89 ± .68
20 jours	-35.30%	+ 1.2%	+ 27.70%	4.75 ± .59	4.93 ± .67
30 jours	-32.30%	+ 8.83%	+ 24.90%	5.55 ± .51	5.42 ± .57
Référence	d-1	d-2	d-3	d-4	

Tableau référence d-1

Effets du "Traitement-Froid" sur la concentration en zinc dans la surrénale.					
Durée du traitement	µg de Zinc/100 mg poids sec		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	80.88 ± 8.06	67.56 ± 9.80	-16.46	15	n.s.
20 jours	79.22 ± 5.07	51.26 ± 3.27	-35.3	16	<.001
30 jours	93.6 ± 6.1	63.37 ± 3.66	-32.3	16	<.001

Tableau référence d-2

Effets du "Traitement-Froid" sur l'activité de D.S. dans la surrénale.					
Durée du traitement	µg de CTT réduit/100 mg poids frais		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	465.0 ± 27.9	684.3 ± 32.3	+ 47.2	15	<.001
20 jours	467.0 ± 28.0	472.8 ± 25.0	+ 1.2	16	n.s.
30 jours	608.5 ± 30.7	662.2 ± 23.4	+ 8.83	16	n.s.

Tableau référence d-3

Effets du "Traitement-Froid" sur le poids frais de la surrénale.					
Durée du traitement	Poids frais en mg de la surrénale		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	19.42 ± .84	21.94 ± .94	+ 12.97	15	n.s.
20 jours	19.69 ± .64	25.15 ± .73	+ 27.70	16	< .001
30 jours	20.01 ± .52	25.00 ± .68	+ 24.90	16	< .001

Tableau référence d-4

Effets du "Traitement-Froid" sur la teneur totale en zinc dans la surrénale.					
Durée du traitement	Teneur totale en µg de zinc		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	4.69 ± .49	4.89 ± .68	+ 4.26	15	n.s.
20 jours	4.75 ± .59	4.93 ± .67	+ 3.78	16	n.s.
30 jours	5.55 ± .51	5.42 ± .57	-2.34	16	n.s.

TABLEAU SYNOPTIQUE E

Effets du "Traitement-Cortisone" sur:	
Divers paramètres du foie	Gain du poids corporel
Différence en % par rapport au groupe témoin	
Durée du traitement	Témoin      Traité
5 jours	+ 24.3%      - 8.1%      + 16.58%      + 0.50%
10 jours	- 8.1%      -28.3%      + 42.39%      + 1.49%
20 jours	-14.1%      + 0.8%      + 72.20%      + 13.30%
30 jours	-22.3%      - 5.3%      + 100.10%      + 12.20%
Référence	e-1      e-2

Tableau référence e-1

Effets du "Traitement-Cortisone" sur la concentration en Zinc dans le foie.					
Durée du traitement	µg de Zinc/100 mg poids sec		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	12.26 ± .38	15.24 ± .73	+24.3	15	< .01
10 jours	9.82 ± .45	9.02 ± .60	- 8.1	14	n.s.
20 jours	7.60 ± .25	6.53 ± .13	-14.1	16	< .001
30 jours	11.16 ± .25	8.67 ± .36	-22.3	14	< .001

Tableau référence e-2

Effets du "Traitement-Cortisone" sur l'activité de D.S. dans le foie.					
Durée du traitement	µg de CTT réduit/100 mg de poids frais		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	454.3 ± 43.0	417.9 ± 30.5	- 8.1	15	n.s.
10 jours	773.0 ± 19.7	554.4 ± 30.1	-28.3	15	< .001
20 jours	757.7 ± 43.0	764.4 ± 29.5	+ 0.8	15	n.s.
30 jours	636.7 ± 25.4	602.6 ± 30.5	- 5.3	16	n.s.



Tableau référence f-1

Effets du "Traitement-Froid" sur la concentration en Zinc dans le foie.					
Durée du traitement	µg de Zinc/100 mg poids sec		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	—	—	—	—	—
10 jours	9.82 ± .45	9.46 ± .39	-3.66	15	n.s.
20 jours	7.60 ± .25	7.88 ± .41	+3.68	16	n.s.
30 jours	11.16 ± .25	10.08 ± .43	-9.67	15	n.s.

Tableau référence f-2

Effets du "Traitement-Froid" sur l'activité de D.S. dans le foie.					
Durée du traitement	µg de CTT réduit/100 mg de poids frais		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	454.3 ± 43.0	459.2 ± 25.3	+ 1.07	14	n.s.
10 jours	773.5 ± 19.7	961.4 ± 42.2	+24.2	15	< .001
20 jours	757.7 ± 43.0	897.3 ± 39.0	+18.4	16	< .001
30 jours	636.7 ± 25.4	750.7 ± 28.7	+17.9	13	< .01

TABLEAU SYNOPTIQUE G

Effets du "Traitement-Cortisone" sur:		Gain du poids corporel	
Divers paramètres du diaphragme.			
Différence en % par rapport au groupe témoin.			
Durée du traitement	Concentration en zinc	Activité de D.S.	Témoin Traité
5 jours	+ 50.5%	+ 3.6%	+ 16.58%
10 jours	+ 37.7%	-22.8%	+ 42.39%
20 jours	+ 114.0%	+ 6.7%	+ 72.20%
30 jours	+ 67.1%	- 2.15%	+ 100.10%
Référence	g-1	g-2	

Tableau référence g-1

Effets du "Traitement-Cortisone" sur la concentration en Zinc dans le diaphragme.					
Durée du traitement	µg de Zinc/100 mg poids sec		Diff.	N	P
	Témoin	Traité	%		
5 jours	12.45 ± .60	18.94 ± .61	+ 50.5	15	< .001
10 jours	9.33 ± .37	12.85 ± .73	+ 37.7	15	< .001
20 jours	6.94 ± .56	14.87 ± .58	+114.0	16	< .001
30 jours	5.09 ± .47	8.49 ± .34	+ 67.1	16	< .001

Tableau référence g-2

Effets du "Traitement-Cortisone" sur l'activité de D.S. dans le diaphragme.					
Durée du traitement	µg de CTT réduit/100 mg de poids frais		Diff.	N	P
	Témoin	Traité	%		
5 jours	269.3 ± 31.3	279.0 ± 17.6	+ 3.6	15	n.s.
10 jours	560.3 ± 37.0	432.5 ± 32.7	-22.8	15	< .001
20 jours	501.0 ± 47.0	535.9 ± 26.9	+ 6.7	16	n.s.
30 jours	389.5 ± 22.9	381.2 ± 19.9	- 2.1	16	n.s.

TABLEAU SYNOPTIQUE H

Effets du "Traitement-Froid" sur:			
Divers paramètres du diaphragme Différence en % par rapport au groupe témoin		Gain du poids corporel	
Durée du traitement	Concentration en zinc	Activité de D.S.	Témoin      Traité
5 jours	+ 30.5%	+ 1.7%	+ 16.58 %      + 4.71 %
10 jours	- 1.5%	+ 14.1%	+ 42.39 %      + 12.79 %
20 jours	+ 46.1%	+ 14.9%	+ 72.20 %      + 41.90 %
30 jours	+ 28.4%	+ 15.7%	+ 100.10 %      + 27.50 %
Référence	h-1	h-2	

Tableau référence h-1

Effets du "Traitement-Froid" sur la concentration en Zinc dans le diaphragme.					
Durée du traitement	µg de Zinc/100 mg poids sec		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	12.45 ± .60	16.5 ± .64	+ 30.5	14	< .001
10 jours	9.33 ± .37	9.19 ± .17	- 1.5	15	n.s.
20 jours	6.94 ± .56	10.14 ± .78	+ 46.1	9	< .01
30 jours	5.09 ± .47	6.75 ± .26	+ 28.4	14	< .001

Tableau référence h-2

Effets du "Traitement-Froid" sur l'activité de D.S. dans le diaphragme.					
Durée du traitement	µg de CTT réduit/100 mg de poids frais		Diff. %	N	P
	Témoin	Traité			
5 jours	269.3 ± 31.3	273.9 ± 29.5	+ 1.7	14	n.s.
10 jours	560.3 ± 37.0	639.4 ± 43.9	+ 14.1	15	n.s.
20 jours	501.0 ± 47.0	575.8 ± 31.0	+ 14.9	16	n.s.
30 jours	389.5 ± 22.9	477.2 ± 16.8	+ 22.5	13	< .05

DISCUSSION

I. SURRENALE.

Les résultats concernant la surrénale sont résumés dans les quatre premiers "Tableaux Synoptiques" (T.S.) A, B, C et D. Comme nous l'indiquons au début du chapitre intitulé: "Résultats", nous ne trouvons dans ces tableaux que l'effet des traitements, exprimé en pourcentage de variation par rapport aux valeurs trouvées pour le groupe témoin. On voudra bien se reporter aux "Tableaux référence" (t.r.) pour les détails des valeurs actuelles et leur signification statistique.

a) "Effet du "Traitement-Cortisone".

i- Augmentation de la concentration en zinc.

Comme on le voit dans le Tableau Synoptique A (T.S.-A), le traitement à la cortisone produit une augmentation dramatique de la concentration en zinc dans la surrénale. Le Tableau référence a-1 (t.r. a-1) montre que cet effet est déjà décelable après cinq jours de traitement, et qu'il devient hautement significatif lorsque le traitement est prolongé.

ii- Diminution de l'activité enzymatique de D.S.

Le même tableau (T.S.-A) nous montre qu'à cette augmentation de la concentration en zinc correspond une diminution de l'activité enzymatique de D.S. dans la surrénale du même animal. Ce phénomène est aussi décelable après cinq jours de traitement, et devient hautement significatif (t.r. a-2) quand on prolonge le traitement.

Devant cette situation paradoxale (relation inverse et progressive entre la concentration en zinc et l'activité enzymatique de D.S.), nous avons repris nos données pour le zinc; mais cette fois, au lieu de les exprimer en valeur spécifique, nous les avons exprimées en valeur absolue. La validité de ce traitement réside dans le fait que les déterminations furent faites sur la glande entière.

iii- Stabilité de la teneur totale en zinc.

Si l'on se réfère au tableau (T.S.-A), on s'aperçoit que si les valeurs spécifiques (concentration) changent pour le zinc, les valeurs absolues (teneur totale) ne changent pas significativement (t.r. a-4).

iiii- Atrophie pondérale de la glande.

Dans l'ordre chronologique, la toute première chose qui nous a frappée à la suite du traitement à la cortisone fut évidemment son effet dramatique sur le poids de la glande (T.S.-A). Nous pensions que cet effet, tout dramatique qu'il fût, était en somme un résultat bien facile à prévoir: en effet, l'atrophie d'une glande endocrine à la suite de l'injection quotidienne de ses produits de sécrétion est un phénomène bien connu et généralement admis. Or, dans leurs travaux publiés en 1961, Rudzik et Riedel (44) rapportent qu'ils observent une augmentation de la concentration en zinc dans les surrénales à la suite du traitement à la cortisone, mais ne peuvent pas l'expliquer:

... "Treatment with cortisone over a period of 14 days... (12.5 mg/day) ... resulted in a dramatic increase in the zinc concentration... Adrenal hormones from an external source have a profound effect on the adrenal glands... The weight of the gland however did not alter

sufficiently to account for the large increase in the zinc concentration".

Leurs résultats:	<u>"Group</u>	<u>Adrenal Weight"</u>
	Normal	36.5 mg
	Cortisone	32.8 mg

Bien que nos résultats correspondent à ceux des auteurs mentionnés plus haut en ce qui concerne l'augmentation de la concentration en zinc, nous affirmons que dans nos expériences (t.r. a-3), cela vient du fait que la surrénale s'atrophie à la suite du traitement à la cortisone, sans que la teneur totale en zinc en soit affectée de façon importante (t.r. a-4). Ainsi, lorsque ces résultats sont exprimés en valeur spécifique (concentration), ils montrent évidemment une augmentation dans la glande atrophiée.

Pour notre part, nous ne pouvons pas nous expliquer les résultats des auteurs mentionnés plus haut. La dose utilisée (12.5 mg/jour) étant plus de deux fois supérieure à celle que nous avons employée (5 mg/jour), nous devrions nous attendre à une atrophie certaine. De plus, même si la croissance générale des animaux traités est retardée (T.S.-B) nous maintenons que cela n'est pas la seule cause de l'atrophie. En effet, quand nous trouvons dans des rats pesant environ 200 grammes, des surrénales pesant 10 mg au maximum (t.r. a-3), nous sommes définitivement en face de surrénales atrophiées, et cette situation est due surtout au traitement.

Si donc le traitement donné a pour effet d'atrophier la glande sans qu'il y ait de changement important dans la quantité absolue de zinc, il est évident que ce que l'on appelle "concentration", i.e. le rapport quantité de zinc, s'en trouvera augmenté.

Poids

Pour notre part, dans chacune de nos expériences où nous avons donné de la cortisone, nous avons toujours observé une atrophie (t.r. a-3). Pourtant, ce traitement comme nous l'avons indiqué plus haut, n'affecte pas la quantité absolue de zinc. Voilà pourquoi nous avons obtenu, nous aussi, une augmentation de la concentration en zinc dans les surrénales à la suite du traitement à la cortisone.

Enfin, la diminution de l'activité enzymatique de D.S. mentionnée plus haut n'a rien de mystérieux puisqu'elle coïncide avec l'atrophie pondérale. Le traitement chronique à la cortisone produit un phénomène dont le principe est général et applicable à toutes les glandes endocrines: l'administration d'une hormone à un sujet normal diminue la production endogène de cette même hormone. Dans le cas qui nous occupe, l'on sait que la production de la corticotrophine (ACTH) par le lobe antérieur de l'hypophyse est contrôlée en grande partie par le taux de corticoïdes circulants. L'apport exogène quotidien de la cortisone a donc eu pour effet de diminuer la production d'ACTH et de produire ainsi cette chute de l'activité métabolique. Celle-ci est suivie de l'atrophie pondérale, conséquence normale du ralentissement fonctionnel. DesMarais, Dugal et Gagnon notaient en 1955 (45) ce même phénomène de chute de l'activité métabolique chez des animaux hypophysectomisés. En 1952, Perry et Cummings (40) obtenaient des résultats identiques après injections de cortisone. Pour ces auteurs, l'activité de D.S. était employée comme indice de l'activité métabolique.

Il reste donc à expliquer pourquoi le zinc ne quitte pas la surrénale qui s'atrophie. Cet élément n'existe pratiquement pas dans la nature à l'état élémentaire. Sa réactivité remarquable avec les groupements

chimiques chargés négativement est particulièrement importante dans le milieu biologique, où il s'accumule en quantité supérieure à celle d'autres éléments, pourtant plus abondants dans le milieu extérieur. Toute la littérature sur le métabolisme du zinc est unanime à considérer cet élément comme un contaminant ubiquiste. Dans les tissus biologiques, on trouve le zinc sous forme de complexes avec les matières protéiques plutôt qu'à l'état d'ion libre en solution. Cet ensemble de propriétés pourrait alors expliquer le fait que nous ayons observé dans nos expériences la même quantité de zinc dans les glandes atrophiées expérimentalement (58%) que celle trouvée dans des glandes normales d'animaux non traités.

En 1940, P. Simakov (46) publiait les résultats d'une étude faite sur la teneur en zinc des muscles "entraînés" de lapin. Dans ces muscles exercés, c'est-à-dire, mis en action par un courant d'induction pendant cinq minutes à raison de deux séances par jour, il trouvait une augmentation de la teneur en zinc au bout d'une période d'entraînement de quinze jours. Cette augmentation était de l'ordre de 300%. Or cette haute teneur en zinc persistait bien au-delà de la période d'entraînement. Ainsi après six jours de repos, il trouvait encore dans le muscle "entraîné" une quantité de zinc relativement élevée. Il concluait sans plus: "... à ce qu'il paraît, le zinc se dépense assez lentement". Quoiqu'il en soit, nous avons tenu compte de cette propriété du zinc de former spontanément des complexes avec les matières protéiques pour tenter d'expliquer ce phénomène de rétention, et nous avons formulé l'hypothèse suivante: Dans les surrénales dont le poids est diminué de 29, 42, 56, et 58% selon la durée du traitement, (t.r. a-3), c'est la perte en eau

beaucoup plus que la perte protéique qui est responsable de l'atrophie. De telles surrénales, contenant autant de zinc que celles des témoins devraient donc contenir autant de matériel protéique. Si tel est le cas, la permanence de la teneur totale en zinc dans les surrénales atrophiées se trouve expliquée.

Nous avons donc repris nos calculs faits sur les poids humides et secs des surrénales atrophiées et normales. A notre surprise, comme le démontre le tableau synoptique B, nous nous apercevons que l'atrophie est due à une perte de matériel protéique aussi bien qu'à une perte en eau, et ce, dans des proportions rigoureusement identiques. Les tableaux référence b-1 et b-2 montrent que dans les six expériences (153 animaux) où nous nous sommes servis de la cortisone, nous obtenons des surrénales atrophiées contenant 71.9% d'eau, et des surrénales normales en contenant 71.2%. Ces calculs rejettent donc cette première hypothèse, mais en même temps nous permettent d'en proposer une deuxième, que nous pourrions considérer comme valable mais pas exclusive.

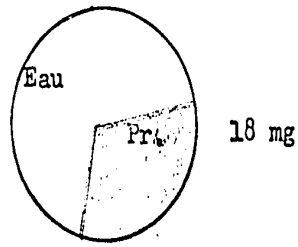
En reprenant le raisonnement au tout début, nous posons les données suivantes que nous considérons comme bien établies.

- La cortisone produit l'atrophie de la surrénale.
- Dans ces glandes atrophiées, nous n'observons pas d'augmentation importante de la quantité absolue de zinc.
- Ces surrénales atrophiées contiennent toujours les mêmes proportions d'eau.

Il ne nous reste plus qu'à admettre que s'il n'y a pas de changement important dans la quantité absolue de zinc dans les surrénales atrophiées ayant perdu autant d'éléments protoplasmiques que l'eau, il s'est donc accumulé en concentration plus grande sur le matériel protéique restant. Le schéma de la page suivante illustrera notre pensée.

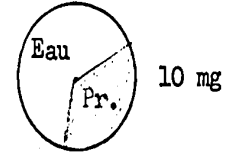
Surrénale

Normale

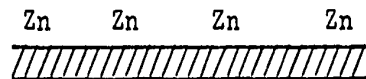
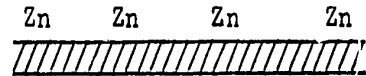
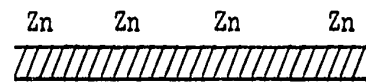


70% eau  
30% protéines

Atrophiée



70% eau  
30% protéines



Six molécules de protéines ayant complexé deux atomes de zinc chacune.

Teneur totale: 12 atomes.

Concentration:  $\frac{12 \text{ atomes}}{6 \text{ molécules}}$

Concentration:  $\frac{.2 \text{ atomes}}{\text{molécule}}$

Trois molécules de protéines complexant chacune quatre atomes de zinc.

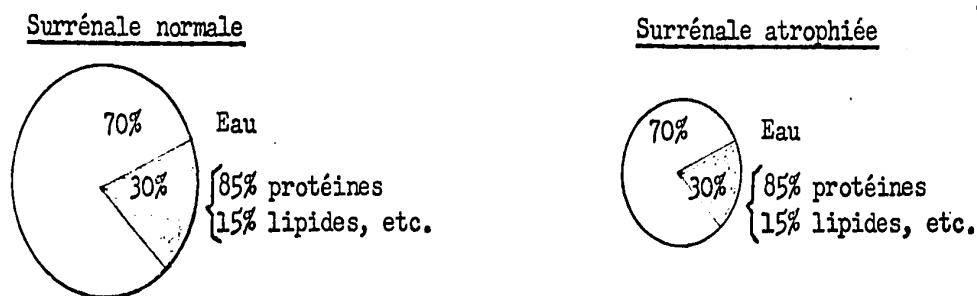
Teneur totale: 12 atomes.

Concentration:  $\frac{12 \text{ atomes}}{3 \text{ molécules}}$

Concentration:  $\frac{4 \text{ atomes}}{\text{molécule}}$

Schéma illustrant la deuxième hypothèse énoncée plus haut, montrant que si le zinc demeure toujours en quantité égale absolue dans des surrénales

Evidemment, nous nous rendons compte que tout le raisonnement apporté dans ces hypothèses présume d'une chose. En effet, nous présumons que le poids sec de la surrénale, qui est notre unité de base pour exprimer nos valeurs de concentration, est une valeur constamment représentative de la teneur en éléments protoplasmiques. Or, on pourrait objecter que dans ce poids sec, qui représente environ 30% du poids frais, la proportion en matériel protéique soit, disons, de 85% dans les surrénales normales, mais d'un pourcentage différent dans des surrénales atrophiées. Autrement dit, ce que nous présumons peut être représenté par le schéma suivant:



Or il se peut bien que ces proportions 85%-15% (ou quel qu'elles soient) changent avec le traitement au point que la deuxième hypothèse ne tienne plus.

C'est pourquoi nous avons entrepris les expériences, résumées dans le tableau synoptique C, où nous avons d'abord estimé quantitativement la proportion de la "partie protéique" dans les surrénales normales et atrophiées; puis, nous avons fait des déterminations de zinc sur cette "partie protéique" de la surrénale pour obtenir des résultats comme ceux

---

atrophiées ayant perdu autant d'éléments protoplasmiques que d'eau, il s'est donc accumulé en concentration plus grande sur le matériel protéique restant.

suggérés au bas du schéma illustrant la deuxième hypothèse, i.e., en termes de 
$$\frac{\mu\text{mg Zn}}{\text{Unité de poids protéine}}$$

Disons avant de discuter ces résultats, que ce que nous appelons la "partie protéique" est plus précisément la surrénale asséchée, traitée à l'alcool et à l'acétone bouillants; le résidu de la surrénale ainsi délipidée représente assez bien la "partie protéique" de la glande. Ainsi, on retrouvera dans les tableaux des résultats le pourcentage de ce résidu de la surrénale délipidée par rapport au poids sec sous le titre: % de la "partie protéique" par rapport au poids sec. Les résultats des déterminations de zinc faites sur ce résidu de la surrénale après délipidation sont trouvés sous le titre "Concentration en zinc dans la surrénale délipidée."

L'examen des résultats (T.S. -C) nous montre d'abord le même phénomène de régression pondérale de la glande que nous avons observé dans toutes les expériences où nous sommes servis de la cortisone. Mais ce qui nous intéresse surtout dans ces résultats, c'est de constater que la quantité spécifique de matériel protéique est demeurée pratiquement la même chez les animaux traités et non-traités. En effet, nous avons recueilli quantitativement le résidu délipidé après traitement à l'alcool et à l'acétone bouillants. En exprimant ce poids en pourcentage par rapport au poids sec, nous nous apercevons qu'il est pratiquement le même dans les surrénales atrophiées que dans les surrénales normales. Ce qui signifie que nous sommes justifiés d'assumer que le poids sec est une valeur constamment représentative de la teneur protéique dans nos conditions de traitement.

Comme nous nous y attendions, la teneur spécifique en zinc s'est trouvée augmentée, comme ce fut le cas dans les autres expériences; mais cette fois-ci, l'augmentation de la concentration en zinc est encore plus spectaculaire (+ 274. %, + 358. %) comme en fait foi le tableau synoptique C, puisque les déterminations ne furent faites que sur la "partie protéique" de la glande. Nous pouvons donc considérer cette deuxième hypothèse comme valable.

b) Effet du "Traitement-Froid".

i- Hypertrophie des surrénales.

Le froid a produit chez nos animaux un effet inverse à celui de la cortisone, quant au poids des surrénales. En effet, alors que les injections à la cortisone produisent invariablement l'atrophie pondérale, l'exposition au froid produit chez nos animaux une augmentation de poids significative à partir de vingt jours d'exposition à +2°C.

ii- Diminution de la concentration en zinc.

L'exposition au froid a produit un autre effet inverse à celui de la cortisone. Nous avons vu que dans les surrénales d'animaux recevant de la cortisone (surrénales atrophiées), la concentration en zinc augmente. Or chez les animaux exposés au froid, la concentration en zinc diminue d'une façon significative.

iii- Activité enzymatique de D.S.

Au début de l'exposition (5 jours), l'élévation totale de l'activité métabolique précède la croissance de la glande, au point que l'activité de D.S. par unité de poids se trouve augmentée.

Jusqu'ici, on observe donc des effets inverses à la suite des traitements: alors que la cortisone produit une augmentation de la con-

centration en zinc, une diminution de l'activité spécifique de D.S. et l'atrophie pondérale, le froid produit une diminution de la concentration en zinc, une augmentation de l'activité spécifique de D.S. et l'hypertrophie. On remarque, de plus, un phénomène paradoxal à la suite des traitements. Lorsque, après le "Traitement-Froid", la concentration en zinc diminue, l'activité de D.S. augmente. Et on est bien tenté de dire qu'il existe une relation inverse entre l'activité de D.S. et la concentration en zinc. Mais il faut insister sur le fait qu'il s'agit de la concentration en zinc (valeur spécifique) et non de la teneur en zinc (valeur absolue). Cette précaution montre bien comme cette relation n'est qu'apparente, puisque, comme on en a fait état plus haut, si on exprime la teneur en zinc en valeur absolue, on s'aperçoit qu'il n'y a pas de diminution ou d'augmentation (phénomène de rétention). Après les "Traitement-Cortisone" et "Traitement-Froid" respectivement, l'augmentation et la diminution ne sont observées que dans les valeurs relatives (concentration).

De plus, il faut encore préciser que cela ne se produit qu'au début de l'exposition au froid. A ce moment, la concentration en zinc diminue et l'activité de D.S. augmente. Mais si l'on prolonge le traitement jusqu'à vingt et trente jours, l'activité de D.S. ne répond plus de la même façon. En effet, si l'on examine le Tableau Synoptique D, on constate que l'augmentation spécifique de D.S. au froid est un phénomène transitoire. La croissance de la glande s'accompagne d'une élévation totale de l'activité métabolique telle que l'activité de D.S. par unité de poids ne change plus. Ces observations rejoignent celles de

DesMarais (2), qui a trouvé une augmentation progressive de l'activité dont le maximum est atteint après six jours d'exposition. Cette augmentation est suivie d'un retour aux valeurs normales vers dix jours. D'ailleurs, ce phénomène d'hyperfonction transitoire du cortex surrénalien au début de l'exposition au froid est assez bien documenté, et Hart (47) l'a résumé dans une excellente revue sur les altérations du métabolisme pendant l'exposition au froid.

iiii- Stabilité de la teneur totale en zinc.

Ici nous avons repris le même raisonnement que nous avons appliqué pour expliquer l'augmentation de la concentration en zinc dans les surrénales atrophiées à la suite du traitement à la cortisone, mais nous l'avons appliqué à l'inverse.

Nous avons affaire à des surrénales hypertrophiées; et il arrive que la concentration en zinc se trouve diminuée. Or nous pouvons dire après examen de nos résultats que cette fois, la diminution de la concentration en zinc vient du fait que la surrénale s'hypertrophie à la suite de l'exposition au froid, sans que la teneur totale en zinc en soit affectée. Ces résultats exprimés en valeurs spécifiques donneront donc une diminution.

II. FOIE

Comme pour la surrénale, on trouvera les résultats obtenus dans le foie dans les deux Tableaux Synoptiques E et F et dans les tableaux référence appropriés.

a) Effet du "Traitement-Cortisone".

i- Concentration en zinc.

Les valeurs de teneur en zinc obtenues dans le foie d'animaux traités à la cortisone varient d'une façon inconsistante, pas toujours de manière "statistiquement" significative. Nous croyons qu'il s'agit là de valeurs aberrantes qui ne sont pas significatives biologiquement.

ii- Déshydrogénase succinique du foie.

Chez ces mêmes animaux, nous observons une diminution de l'activité de D.S. dans le foie. En examinant le tableau référence e-2, on constate que cette diminution ne devient significative qu'après dix jours de traitement. Ces résultats confirment ceux obtenus par Leusen et Lacroix (41), qui ont obtenus une diminution de 26% après quinze jours, alors que la nôtre est de 28% après dix jours ( $P < .001$ ). Mais nous avons prolongé le traitement jusqu'à 20 et 30 jours, et nous avons constaté qu'alors l'effet de la cortisone disparaît, et les valeurs de D.S. redeviennent normales.

Relation D.S. et teneur en zinc.

De toute façon, ce qui nous importe c'est de constater qu'il n'existe aucune relation entre les variations de l'activité de D.S. et les variations de la concentration en zinc dans le foie.

b) Effet du "Traitement-Froid". (T.S.-F)

i- Concentration en zinc.

Quelle que soit la durée de l'exposition, il semble que le froid n'affecte pas de façon significative la concentration en zinc dans le foie. Ceci est d'ailleurs amplement confirmé par des résultats publiés par Dugal (39).

ii- Déshydrogénase succinique.

L'activité de D.S. est augmentée dans le foie après exposition au froid; nos résultats montrent que cette augmentation passe par un maximum, atteint vers dix jours. De toute façon, nos résultats rejoignent les données de Hannon (1) et de DesMarais (2).

Relation D.S. et teneur en zinc.

Encore ici il est évident qu'il n'existe aucune relation entre les variations de l'activité de D.S. et celles de la concentration en zinc.

III. DIAPHRAGME.

L'examen des Tableaux Synoptiques G et H nous résumant les effets du "Traitement-Cortisone" et du "Traitement-Froid" dans le diaphragme.

a) Effets du "Traitement-Cortisone".

i- Concentration en zinc.

Contrairement à ce qui se passe dans le foie, les valeurs de concentration en zinc sont supérieures à celles trouvées chez les animaux témoins, et ce, après chaque période de traitement.

ii- Déshydrogénase succinique.

La cortisone semble affecter l'activité de D.S. de ce tissu de la même façon que dans le foie. En effet, une diminution de l'activité apparaît après dix jours de traitement, mais les valeurs normales reviennent avec le prolongement du traitement.

Relation D.S. et teneur en zinc.

Il va sans dire qu'on ne peut déceler aucune relation dans

les changements de l'activité enzymatique de D.S. et ceux de la concentration en zinc.

b) Effets du "Traitement-Froid".

i- Concentration en zinc.

Si l'on fait exception d'un résultat aberrant obtenu après 10 jours de traitement, nous nous apercevons que le froid produit une augmentation de la concentration en zinc dans le diaphragme. Ces résultats sont en accord avec ceux partiellement publiés par Dugal (39).

ii- Déshydrogénase succinique.

Contrairement aux résultats publiés par DesMarais (2), nous avons observé une augmentation de l'activité de D.S. dans le diaphragme après l'exposition au froid. Même si cette augmentation ne commence à devenir significative que vers notre plus longue période d'exposition (trente jours), nos résultats montrent au moins une tendance à une augmentation, alors que ceux de DesMarais montrent une diminution progressive. Ajoutons cependant que la période d'exposition de ses animaux ne dépasse pas 8 jours. Eût-il prolongé le traitement qu'il aurait probablement trouvé une augmentation comme nous et comme Hannon (1), qui a trouvé une augmentation après 5 semaines.

Relation D.S. et teneur en zinc.

Dans le diaphragme comme dans le foie, on cherchera vainement une relation entre les variations de l'activité de D.S. et celles de la concentration en zinc. Bien qu'il y ait une correspondance dans ce dernier cas (augmentation de D.S. et de concentration en zinc après exposition au froid), il reste que le traitement à la cortisone a effectué dans le dia-

phragme des changements, dans les deux paramètres qui nous intéressent, qui sont tout à fait indépendants.

### CONCLUSIONS

Le but de cette recherche était de nous rendre compte s'il existe une relation entre les changements de l'activité enzymatique de D.S. et les changements de la teneur en zinc dans les homogénats complets de tissus du rat.

I- Dans la surrénale, nous obtenons, après une courte durée, la relation suivante:

- quand l'activité de D.S. diminue (Traitement-Cortisone), la concentration en zinc augmente.
- quand l'activité de D.S. augmente (Traitement-Froid), la concentration en zinc diminue.

Cette relation n'est qu'apparente, puisque si on exprime la teneur en zinc en valeur absolue, on s'aperçoit qu'il n'y a pas de diminution ou d'augmentation significatives (phénomène de rétention). L'augmentation et la diminution ne sont observées que dans les valeurs relatives (concentration), parce que les traitements ont un effet inverse sur le poids de cette glande: la cortisone produisant l'atrophie, le froid produisant l'hypertrophie.

De plus, le phénomène de l'augmentation de l'activité de D.S. avec l'exposition au froid ne se produit qu'au début du traitement. Si l'on prolonge l'exposition jusqu'à vingt et trente jours, les valeurs pour l'activité de D.S. redeviennent normales, mais celles de la concen-

tration en zinc sont toujours diminuées. Il n'y a donc plus à ce moment de relation, même apparente.

Le phénomène de rétention de la quantité absolue de zinc mentionné plus haut dans les surrénales atrophiées se produit au niveau de ce que nous appelons la "partie protéique" de la glande, i.e., de ce qui reste après que la glande est asséchée et a subi une délipidation par traitement à l'alcool et à l'acétone bouillants.

Dans le cas de la surrénale atrophée, le phénomène de rétention conduit à une accumulation de zinc sur la "partie protéique".

Le phénomène de stabilité dans la teneur absolue en zinc dans les surrénales d'animaux exposés au froid conduit à une diminution de la concentration en zinc dans la surrénale hypertrophiée. Dans ces surrénales, nous n'avons pas de données sur la proportion de la matière protéique, et sur la concentration du zinc à ce niveau. Nous devons donc réserver notre jugement en ce qui a trait au site de l'accumulation du zinc dans de telles surrénales.

II- Dans le foie, nous n'avons observé aucune relation entre les changements de l'activité enzymatique de D.S. et ceux de la teneur en zinc. Le traitement à la cortisone fait varier la teneur en zinc d'une façon inconsistante, alors que l'activité de D.S. diminue. L'exposition au froid produit une augmentation de l'activité de D.S., alors que la concentration en zinc demeure stable.

III- C'est le cas du diaphragme qui nous porte le plus à réfléchir.

Dans ce tissu, nous avons pu observer deux choses. D'abord, on cherchera en vain dans le diaphragme, tout comme dans le foie d'ailleurs, une relation dans les deux paramètres tels qu'ils furent étudiés dans ce travail.

Pourtant, et c'est là la deuxième chose, celle qui nous "inquiète" toujours puisque c'est en somme celle qui a présidé à la naissance de notre travail, il reste toujours à expliquer le fait mis à jour par Dugal et dont l'existence a été confirmée dans ce travail: l'accumulation du zinc dans certains tissus du rat acclimaté au froid.

Le fait demeure que si l'on a pas décelé de relation entre D.S. et teneur en zinc, c'est tout de même dans le diaphragme, et le diaphragme seulement, que l'on a trouvé au moins une coïncidence d'augmentation de l'activité de D.S. et de la teneur en zinc, après traitement au froid. Or, il est bien possible que dans le cas présent, il s'agisse plus que d'une simple coïncidence dans les variations des deux paramètres étudiés. Il est bien possible que l'augmentation du zinc dans ce tissu corresponde à une augmentation des "unités enzymatiques" qui opèrent cette production de chaleur accrue chez l'animal acclimaté au froid. Plus précisément, l'augmentation de la concentration en zinc observée au froid dans le diaphragme n'est-elle pas justement le témoin, et même la condition d'une synthèse accélérée de nouvelles unités enzymatiques, elles-mêmes responsables de la production de chaleur accrue que l'on retrouve dans le muscle strié chez l'animal acclimaté au froid?

Puisque c'est généralement à la fin d'un travail de ce genre qu'on nous permet une certaine liberté quant aux prévisions et aux directions suivant lesquelles les travaux à venir devraient être orientés, nous nous en voudrions de laisser passer cette occasion.

Nous sommes portés à croire que bien qu'on ait pu obtenir (26) une relation entre l'activité d'un enzyme isolé et purifié, et la proportion en zinc sur cet enzyme isolé, on cherchera en vain une relation entre l'activité d'un enzyme déterminée dans un homogénat complet et la teneur en zinc déterminée sur le tissu entier. Nous pensons que dans le tissu, l'enzyme peut, selon les circonstances de traitement, altérer son activité sans qu'il y ait besoin pour cela d'altérer la teneur en zinc du tissu. Si grande soit la demande en activité enzymatique, il y aurait toujours assez de zinc dans le tissu pour suffire aux besoins. Il faut penser qu'une molécule d'enzyme de poids moléculaire de 1,000,000 comme déshydrogénase glutamique, ou de 84,000 comme alcool déshydrogénase, ne requiert que deux ou trois atomes de zinc!

Pour ces raisons, nous pensons qu'il y aurait grand intérêt à isoler l'enzyme de ces tissus où l'on retrouve une augmentation de zinc au froid. Les déterminations d'activité enzymatique et de teneur en zinc faites sur l'enzyme ainsi isolé donnerait une réponse définitive à la question fondamentale: le besoin d'augmenter l'activité enzymatique est-il la raison de l'accumulation du zinc dans certains tissus du rat au froid? Et dans ce cas, le zinc est-il directement employé sur la molécule d'enzyme, ou sert-il ailleurs dans le tissu, à d'autres mécanismes du métabolisme, par exemple dans les liaisons entre l'ATP et les amines telles adrénaline et nor-adrénaline?

BIBLIOGRAPHIE

1. Hannon, J.P. Effect of prolonged cold exposure on components of the electron transport system. *Am. J. Physiol.* 198: 740, 1960.
2. DesMarais, A. Activité oxidative de différents tissus du rat blanc au cours de l'adaptation au froid. *Rev. Can. Biol.* Vol. 13, No. 2, 1954.
3. Solomon, D.H. and J.T. Dowling. The thyroid. A review. *Ann. Rev. Physiol.* 22: 640, 1960.
4. Rudzik, A.D. and B.E. Riedel. The effects of adrenalectomy and cortisone on zinc metabolism in the sex glands and adrenals of the male rat. *Can. J. Biochem. Physiol.* 38: 845, 1960.
5. Raulin, J. Etudes cliniques sur la végétation. *Ann. Sci. Nat. Botan. et Biol. Végétales* 11: 93, 1869.
6. Lutz, R.E. The normal occurrence of zinc in biological materials. *J. Ind. Hyg.* 8: 177, 1926.
7. Wallace, T. Diagnosis of mineral deficiencies in plants by visual symptoms. London: His Majesty's Stationery Office, 1951.
8. Stiles, W. Trace elements in plants and animals. New York: MacMillan, 1948.
9. Bertrand, G. and R.C. Bhattacharjee. L'action combinée du zinc et des vitamines dans l'alimentation des animaux. *Compt. Rend. Acad. Sc.* 198: 1823, 1934.
10. Idem-Recherches sur l'action combinée du zinc et des vitamines dans l'alimentation des animaux. *Ann. Inst. Pasteur.* 55: 265, 1935.
11. Stern, F.E., C.A. Elvehjem and E.B. Hart. Indispensability of zinc in nutrition of rat. *J. Biol. Chem.* 109: 347, 1935.

12. Day, H.G. Effect of zinc deficiency in the mouse. Fed. Proc. 1: 188, 1942.
13. Day, H.G. and B.E. Skidmore. Some effects of dietary zinc deficiency in the mouse. J. Nutrition. 33: 27, 1947.
14. Todd, W.R., C.A. Elvehjem and E.B. Hart. Zinc in the nutrition of rats. Am. J. Physiol. 107: 146, 1934.
15. Hove, E., C.A. Elvehjem and E.B. Hart. Physiology of zinc in nutrition of rat. Am. J. Physiol. 119: 768, 1937.
16. Hove, E., C.A. Elvehjem and E.B. Hart. Effect of zinc in alkaline phosphatases. J. Biol. Chem. 134: 425, 1940.
17. Follis, R.H., H.G. Day and E.V. McCollum. Histologic studies of the tissues of rats fed a diet extremely low in zinc. J. Nutrition. 22: 223, 1941.
18. Day, H.G. and E.V. McCollum. Effects of acute dietary zinc deficiency in the rat. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 45: 282, 1940.
19. Wachtel, L.W., E. Hove and C.A. Elvehjem. Blood uric acid and liver uricase of zinc-deficient rats on various diets. J. Biol. Chem. 138: 361, 1941.
20. Millar, M.J., P.V. Elcoate and C.A. Marvson. Effects of dietary zinc deficiency on reproductive system of male rats. Rev. Can. Biol. Vol. 13, No. 5, 1954.
21. Tucker, H.F. and W.D. Salmon. Parakeratosis or zinc deficiency disease in pig. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 88: 613, 1955.
22. Keilin, D. and T. Mann. Carbonic Anhydrase. Purification and nature of the enzyme. Biochem. J. 34: 1163, 1940.
23. Hegstead, D.M., J.M. McKibbin and C.K. Drinker. The biological, hygienic, and medical properties of zinc and zinc compounds. Publ. Health Rep., Suppl. 179, 1945.

24. Vallee, B.L. Metabolic role of zinc. *J. Am. Med. Assoc.* 162: 1053, 1956.
25. Vallee, B.L. Zinc and its biological significance. *Am. Med. Assoc. Arch. Industrial Health.* 16: 147, 1955.
26. Vallee, B.L. Biochemistry, Physiology and Pathology of zinc. *Physiol. Revs.* 39: 491, 1959.
27. Edsall, J.T., G. Felsenfeld, D.S. Goodman and F.R.N. Gurd. Association of imidazole with ions of zinc and cupric copper. *J. Am. Chem. Soc.* 76: 3054, 1954.
28. Gurd, F.R.N. and P.E. Wilcox. Complex formation between metallic cations and proteins, peptides, and amino acids. *Advances in Protein Chem.* 11: 311, 1956.
29. Tupper, R., R.W.E. Watts and Wormall. Some observations on zinc in carbonic anhydrase. *Biochem. J.* 50: 429, 1952.
30. Negelein, E. and H.J. Wulff. Diphosphopyridin proteid alkohol, acetaldehyd. *Biochem. Ztschr.* 293: 351, 1937.
31. Vallee, B.L. and F.L. Hoch. Yeast alcohol, dehydrogenase, a zinc metalloenzyme. *J. Am. Chem. Soc.* 77: 821, 1955.
32. Vallee, B.L., J.H.R. Kaegi and F.L. Hoch. Isotopically labelled sites of yeast alcohol dehydrogenase. *Fed. Proc.* 17: 326, 1958.
33. Theorell, H., A.P. Nygaard and N.K. Bonnichsen. Liver alcohol dehydrogenase III. Influence of pH and some anions on reaction velocity constants. *Acta Chem. Scand.* 9: 1148, 1955.
34. Vallee, B.L. and F.L. Hoch. Zinc in horse liver alcohol dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 225: 185, 1957.

35. Olson, J.A. and C.B. Anfinsen. Crystallization and characterization of l-glutamic acid dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 197: 67, 1952.
36. Adelstein, S.J. and B.L. Vallee. Inhibition of beef liver glutamic dehydrogenase by metal binding agents. *J. Biol. Chem.* 234: 824, 1959.
37. Vallee, B.L. and W.E.C. Wacker. Zinc, a component of rabbit muscle lactic dehydrogenase. *J. Am. Chem. Soc.* 78: 1771, 1956.
38. Vallee, B.L. and F.L. Hoch. Zinc, a component of yeast alcohol dehydrogenase. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 41: 327, 1955.
39. Dugal, L.-P. Variations de la teneur en zinc dans les tissus du rat acclimaté au froid. *Ann. de l'ACFAS.* 27: 41, 1961.
40. Perry, W.F. and G.R. Cumming. Adrenal succinic dehydrogenase activity determined by the reduction of tetrazolium salt by adrenal homogenate. *Endoc. Vol.* 50, No. 4, 1952.
41. Lacroix, E. and I. Leusen. Influence of cortisone on some enzyme systems in the heart and liver. *Exp. Med. Surg.* 17: 170, 1959.
42. You, R.W. and E.A. Sellers. Increased oxygen consumption and succinoxidase activity of liver tissue after exposure of rats to cold. *Endoc.* 49: 374, 1951.
43. Vallee, B.L. and J.G. Gibson. An improved method for the determination of small quantities of zinc in blood and tissue samples. *J. Biol. Chem.* 126: 435, 1948.
44. Rudzik, A.D. and B.E. Riedel. The effects of adrenalectomy and cortisone on zinc metabolism in the sex glands and adrenals of the male rat. *Can. J. Biochem. Physiol.* 38: 845, 1961.
45. DesMarais, A., L.-P. Dugal and Paul-M. Gagnon. Effet de l'hypophysectomie, de l'administration d'ACTH et de l'ACTH endogène sur

le poids et l'activité métabolique de la surrénale du rat blanc.

Rev. Can. Biol. 14: 108, 1955.

46. Simakov, P. Teneur en zinc des muscles entraînés du lapin. Bull. Biol. Med. Exp. 9: 79, 1940.
47. Hart, J.S. Metabolic alterations during chronic exposure to cold. Fed. Proc. 17: 1045, 1958.
48. Levin, L. Endocrinology. 37: 34, 1945.
49. Sayers, G., M.A. Sayers, E.G. Fry, A. White and C.N.H. Long. Yale J. Biol. Med. 16: 361, 1944.
50. Héroux, O. and J.S. Hart. Cold Acclimation and adrenal cortical activity as measured by eosinophil levels. Am. J. Physiol. 178: 453, 1954.
51. Sellers, E.A., S.S. You and N. Thomas. Acclimatisation and survival of rats in the cold. Am. J. Physiol. 165: 481, 1951.