

principle, which was termed by us *thermothyryin*. Further analysis demonstrated ultimately that two substances of similar activity but different solubility are present, known to-day as *thermothyryin A and B* respectively.

Table IX

Thermothryrin content of sera in different seasons and their effect on metabolism					
Date	Environmental temperature	Maximal change in % of the O <sub>2</sub> -consumption	CO <sub>2</sub> -production	Thermothryrin content of 100 cm <sup>3</sup> serum in mg	
		thermothyryin A	thermothyryin B		
in winter					
2. XII. 1940	cold	+ 6	+ 9	0	0
2. II. 1941	cold	-10	-3	0	0
28. XI. 1940	warm	-40	—	10	0
11. XII. 1940	warm	-26	-20	20	0
12. I. 1941	warm	-50	-12	11	0
in spring					
7. III. 1941	cold	-24	-36	0	4
3. V. 1941	cold	-57	-67	0	7,5
14. V. 1941	cold (man)	-41	-26	1,5	6
12. V. 1941	warm	-30	—	9,3	0,7
20. III. 1941	warm	-30	-34	22,0	9,0
16. V. 1941	warm (man)	-25	-20	4,6	1,5

The next important advance—isolation in crystalline form—was made after 4 years work by my daughter<sup>1</sup>. Abstaining from details I mention only that data furnished by elementary analysis and freezing point

<sup>1</sup> ANNA MANSFELD, Schweiz. med. Wschr. 76, 430 (1946).

determinations show that the summary formula for thermothryrin A is C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O, for thermothryrin B C<sub>20</sub>H<sub>42</sub>, with molecular weights of 296 and 288 respectively. It seems worth while mentioning that the number of C atoms is the same as in vitamin A, and that the latter, according to some investigators has a bearing on thyroid activity. I may add that the pure crystallines are of considerable potency. One mg may reduce the O<sub>2</sub>-consumption of white rats by 40–46%.

The next problem we had to deal with concerned the physiological function of thermothryrin A and B. Having been able at this time to isolate both thermothrytrins not only from the thyroid but from blood serum as well, we proceeded to ascertain laboriously under what conditions each of them appears in the serum<sup>1</sup> (see Table IX).

The results demonstrated clearly that thermothryrin A is present in the blood whenever the animal is exposed to high temperature and shows no seasonal fluctuations, while thermothryrin B is present in the blood only from March to October—but then independently of external temperature. During winter-temperature below +20° C—neither thermothryrin A nor thermothryrin B is present in the blood, and exposure to heat is followed exclusively by production of thermothryrin A. From March to October thermothryrin B is permanently secreted, and the presence of thermothryrin A depends also during this period exclusively on the external temperature. It therefore must be concluded that the two thermothrytrins have a distinctly different physiological function.

(To be continued)

<sup>1</sup> ANNA MANSFELD, Schweiz. med. Wschr. 76, 439 (1946).

## Différenciation de l'action antimitotique sur la cellule animale normale, *in vitro*

Par R. MEIER et B. SCHÄR<sup>1</sup>, Bâle

Les travaux fondamentaux de DUSTIN et de ses élèves (1929–37), concernant l'action inhibitrice de l'alcaloïde du Colchique d'automne sur la division cellulaire, constituent le point de départ d'un grand nombre de travaux en vue de la recherche de substances à action identique. C'est le mérite de DUSTIN<sup>2</sup> d'avoir reconnu que les substances à action antimitotiques attaquent avant tout les tissus qui se trouvent dans un état de croissance accrue. Le premier il étudia l'action de la colchicine sur les tissus de nature maligne. Un grand nombre de savants (v. BRODERSEN<sup>3</sup>) par la suite s'occupa de cette question. Ils constatèrent presque

toujours que la colchicine prolonge la survie dans le cas de tumeurs malignes chez l'animal et chez l'homme, mais sans aboutir à une guérison véritable. CRAMER et BRODERSEN<sup>1</sup> parvinrent à des résultats différents en faisant agir la colchicine (resp. la N-éthylcolchic-amide), très toxique, à l'usage interne, sous forme de pomade sur des cancers épithéliaux et des cancers du sein. Ils obtinrent un succès curatif complet. C'est ainsi que l'influence des agents chimiques sur le développement de la mitose acquit une grande signification pour la thérapie des tumeurs malignes.

De nombreux savants se sont efforcés par la suite d'élucider plus complètement l'action de la colchicine sur la

<sup>1</sup> Laboratoires scientifiques de la Ciba S.A., Bâle.

<sup>2</sup> P. DUSTIN, Bull. Acad. Méd. Belg. 5, 14 (1934).

<sup>3</sup> H. BRODERSEN, Strahlentherapie 73, 198 (1943).

<sup>1</sup> H. CRAMER und H. BRODERSEN, Dtsch. med. Wschr. 70, 494 (1944).

cellule en voie de division. Citons notamment LUDFORD, GANANDAN et ses collaborateurs, MAGENOT, LETTRÉ, VERNE, VILTER, BUCHER, SENTEIN et d'autres. Pendant longtemps la question de savoir si la colchicine inhibe ou favorise la mitose demeura controversée. Elle ne pouvait être résolue uniquement au moyen de préparations colorées, car les métaphases qui s'y trouvent en grand quantité donnent l'image d'une activité mitotique accrue. L'hypothèse d'une action favorable sur la mitose n'était donc, pour le moins, pas à rejeter. En utilisant des cultures de fibroblastes *in vitro* et le film au ralenti, O. BUCHER<sup>1</sup> put confirmer la justesse de l'opinion de LETTRÉ<sup>2</sup> que «le nombre des mitoses observées sous l'action de la colchicine employée en doses convenables, doit être estimé identique à celui qui se serait produit normalement et durant le même temps». Les résultats des recherches ultérieures peuvent se résumer dans le sens que la colchicine, dans la cellule végétale, attaque avant tout la substance achromatique, que la formation du fuseau manque, que les chromosomes se rassemblent bien pour la métaphase, mais que l'anaphase consécutive ne se produit pas, sans doute par suite de l'atteinte faite au système achromatique. La mitose reste «bloquée» au stade de la métaphase. Elle peut, après un certain temps d'arrêt et suivant la concentration du poison, reprendre son développement normal; il peut se former à partir des chromosomes plus de 2 noyaux fils ou des noyaux avec un nombre de chapelets de chromosomes accrus; enfin les chromosomes peuvent s'agréger, ensuite de quoi la cellule dégénère et se dissout. En ce qui concerne la cellule animale, une attaque du fuseau a été constatée par SENTEIN. Il a vu disparaître le fuseau, les chromosomes demeurer dispersés dans toute la cellule. Cependant le fuseau peut réapparaître, si l'action du poison est suspendue. Par contre, si la cellule reste sous l'influence du poison, les chromosomes s'agrègent et pycnose et dégénérescence s'ensuivent. LUDFORD<sup>3</sup>, v. MÖLLENDORF et leurs collaborateurs, ainsi que nombre d'autres savants ont étudié l'effet de la colchicine sur les cultures de tissus et constaté que l'action caractéristique de celle-ci consiste en un blocage des mitoses, au stade initial de la métaphase. Cette figure pathologique de la mitose due à la colchicine est caractéristique et susceptible d'être reproduite, aux concentrations appropriées, avec une grande sûreté. Ce sont v. MÖLLENDORF et ses élèves, ainsi que LETTRÉ qui l'ont étudiée sur des fibroblastes et comparée avec les figures obtenues avec un grand nombre d'autres substances possédant également une action mitotique. LETTRÉ<sup>4</sup> s'intéresse particulièrement à l'action toxique sur la mitose en rapport avec la constitution chimique. Il juge que pour le type col-

chicine le groupement sympathicomimétique noyau benzénique-carbone-carbone-azote est nécessaire à l'action toxique sur la mitose. En poursuivant l'application de cette théorie, LETTRÉ découvre l'action mitotique de la narcotine, du diéthylstilbœstrol et de l'oestradiol, ce qui lui fournit l'occasion de discuter les produits de transformation de l'adrénaline, leur activité antimitotique et leur rôle dans la genèse des tumeurs malignes dans l'organisme humain. Le travail le plus récent de LETTRÉ est consacré à l'étude systématique des alcaloïdes, qu'il partage en deux catégories, ceux sans rapport avec le groupe stilbylamine et ceux qui en ont un. C'est dans cette dernière catégorie seulement que l'on rencontre des poisons mitotiques. LETTRÉ en conclut que la nécessité du groupe stilbylamine est confirmée une fois de plus, mais qu'à elle seule, elle ne peut pas être une condition suffisante.

LETTRE recherche également dans les combinaisons organo-métalliques le groupe déterminant de l'activité mitotique. Il le trouve dans le type R.Hg X, où R représente un reste aliphatique ou aromatique et X un anion (chlore, brome, acides organiques, phénols). Parmi les combinaisons du mercure que nous avons examinées, justement celles qui se sont montrées les plus actives ne répondent pas entièrement au type ci-dessus. L'hypothèse de LETTRÉ sur la combinaison des métaux lourds avec la substance des chromosomes, d'après laquelle les forces normales ne suffiraient plus à effectuer la séparation ordonnée des combinaisons métalliques des chromosomes, ne s'appliquerait justement pas à ces forts poisons mitotiques appartenant aux combinaisons organo-métalliques. Des facteurs, pour le moment encore inconnus, doivent intervenir à côté des propriétés physiques que LETTRÉ mentionne également.

En ce qui concerne le groupe de la Trypaflavine, LETTRÉ estime nécessaire pour l'activité mitotique la présence du squelette acridinique avec au moins un groupe amino. BUCHER<sup>1</sup> en utilisant des cultures de fibroblastes a soumis la Trypaflavine à un examen approfondi et a constaté qu'à doses convenables, elle bloque plus ou moins complètement les nouvelles mitoses à leur début. Du reste, DUSTIN auparavant avait déjà caractérisé la Trypaflavine comme carioclastique. Si la division de la cellule néanmoins se poursuit, elle se déroule sans retard; cependant des filets de chromatine persistent dans l'anaphase, la télophase et la phase de reconstruction. De fortes concentrations de poisons provoqueraient dans la mitose des troubles semblables à ceux produits par la colchicine. BRODERSEN<sup>2</sup> expérimentant sur des cellules cancéreuses de l'ascite de la souris, donne une image différente de l'action de la Trypaflavine. Après injection de l'anti-

<sup>1</sup> O. BUCHER, Rev. suisse Zool. 52, 535 (1945).

<sup>2</sup> H. LETTRÉ, Naturwissenschaft. 31, 407 (1943).

<sup>3</sup> R. I. LUDFORD, Arch. exp. Zellforsch. 18, 411 (1936).

<sup>4</sup> H. LETTRÉ, Naturwissenschaft. 33, 75 (1946).

<sup>1</sup> O. BUCHER, Z. Zellforsch. 29, 238 (1939).

<sup>2</sup> H. BRODERSEN, Strahlentherapie 6, 196 (1943).

mitotique, le nombre des mitoses tombe jusqu'à zéro et à leur place, BRODERSEN trouve des cellules à noyaux pycnoses. L'attaque de l'antimitotique se ferait, selon BRODERSEN, au cours des premières phases de la division. Cette image correspond à peu près à celle que nous avons obtenue dans des cultures de fibroblastes soit avec la Trypaflavine, soit avec un groupe d'autres poisons mitotiques. Nous n'avons pas pu observer les effets, notamment les filets de chromatine, obtenus par BUCHER sur des fibroblastes. Ceci dépend certainement moins de la technique que d'autres facteurs inconnus.

VON MÖLLENDORF et ses élèves ont examiné très consciencieusement toute une série de substances. Au cours de l'analyse approfondie de l'action antimitotique, ces savants ont eu recours d'une part aux méthodes de l'histologie, d'autre part au film. Ce dernier mode d'examen fait tout d'abord voir quelles sont les phases dont la durée est prolongée par l'action des diverses substances, l'endroit où se produisent des modifications au cours de la migration des chromosomes et de quelle manière elles évoluent (fig. 1). C'est ainsi que

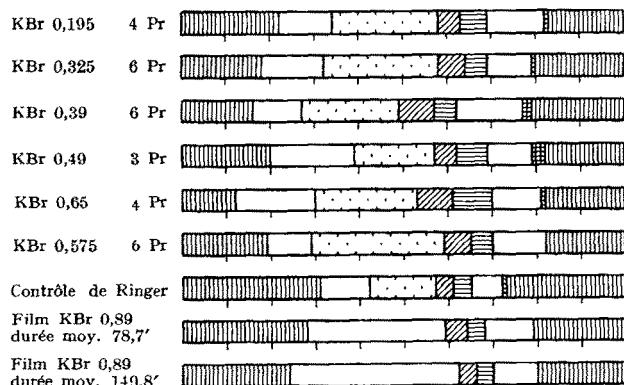


Fig. 1. Pourcentages des phases mitotiques des préparations à base de bromure de potassium, classés selon la force des concentrations de bromure de potassium utilisées. Comparaison avec les contrôles de Ringer et les mitoses du film. (Les diverses hachures représentent les valeurs des différents stades de la mitose)<sup>1</sup>.

v. MÖLLENDORF a pu expliquer l'action d'un grand nombre de corps, arsenic, alcool, cétones saturées et non saturées, hydrate de chloral, hydrocarbures cancérogènes, stéroïdes. Avec certaines hormones sexuelles, v. MÖLLENDORF a obtenu de très belles modifications morphologiques des mitoses, l'aspect des cellules au repos demeurant tout à fait normal. La figure 2 empruntée à son travail, montre des ruptures de chromosomes dans la métaphase en plein développement; c'est une figure morphologique absolument différente de celle résultant de l'activité de la colchicine. LETTRÉ donne un tableau comparatif de l'action au point de vue quantitatif de divers poisons mito-

tiques (fig. 3). Il discute la possibilité théorique et pratique d'un accroissement d'activité par des modifications chimiques des poisons mitotiques. La marge d'activité de ces derniers, c'est-à-dire la marge de concentration allant de la dose limite de l'action toxique pour la cellule au repos à la dose limite de l'action antimitotique, n'est pas prise en considération, si ce n'est pour la colchicine et cela seulement sous forme d'allusion.

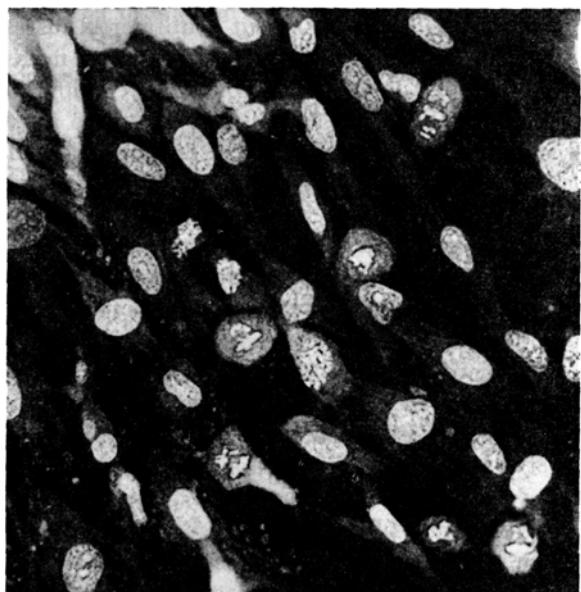


Fig. 2. Suite des recherches sur l'action des hydrocarbures et des stéroïdes sur la croissance. — Expériences sur des cultures de tissus et sur le frais de grenouilles. Relations entre ces substances et la croissance des tumeurs malignes .

LUDFORD a montré en 1936, en tout cas pour des cellules de cancer, des mitoses pathologiques morphologiquement différentes, mais il croyait tout de même que le même agent peut provoquer diverses anomalies mitotiques.

Il semblait donc intéressant de rechercher jusqu'à quel point des substances qui, indépendamment du caractère général de leur activité pharmacologique, possèdent la même propriété d'exercer une action locale sur les cellules et les tissus, pouvaient produire des actions mitotiques susceptibles d'être différenciées morphologiquement. Nous avons examiné une série de substances que l'on peut répartir dans les groupes suivants:

- 1<sup>o</sup> Substances irritantes
- 2<sup>o</sup> Substances de combat
- 3<sup>o</sup> Substances bactéricides
- 4<sup>o</sup> Chimiothérapiques
- 5<sup>o</sup> Poisons vis-à-vis des fermentes,
- 6<sup>o</sup> Antimitotiques.

<sup>1</sup> Tiré de W. v. MÖLLENDORF, Z. Zellforsch., 27, 301 (1938).

1 Tiré de W. v. MÖLLENDORF, Z. Zellforsch., 32, 35 (1942/43).

L'examen de l'action sur la cellule a été entrepris sur des fibroblastes de poule, cultivés de la manière habituelle en gouttes pendantes. Après division des cultures, on les met à l'étuve pendant 24 heures, on place dans la cavité contenant une culture, la solution à étudier, on maintient encore 8 heures à l'étuve. La culture sœur, traitée de la même manière avec du Tyrode, servait de contrôle. Ce mode de procéder ne permet de reconnaître que les substances dont l'action sur les cellules se développe dans le temps d'expérimentation donné.

un intérêt particulier. Toutefois leur action sur les cultures de tissus ne se manifeste qu'à certaines conditions, de sorte qu'il a fallu les laisser de côté. Le caractère de l'action des quinones sur les cultures de tissus est décrit par MEIER et ALLGÖWER<sup>1</sup> comme semblable à celui de la colchicine. L'action de l'allyl sénévol sur les cellules du cœur de grenouilles fraîchement explantées a été étudiée par VOLLMAR<sup>2</sup>. Il a constaté des modifications nettes des mitoses, sans les décrire cependant davantage.

Comme résultat de la série actuelle de recherches, il faut tout d'abord relever que dans presque tous les groupes examinés on trouve des substances agissant sur la division cellulaire, mais que chaque groupe, malgré le caractère général d'activité qui lui est propre, renferme des substances auxquelles l'action antimitotique fait défaut. Par contre, le fait que dans quelques groupes, on se trouve en présence d'une quantité de substances dont l'action mitotique est plus accentuée et peut-être aussi plus spécifique, paraît dépasser une simple coïncidence. A l'appui de nos observations, nous mentionnerons des représentants typiques de tels groupes.

<sup>1</sup> Substances irritantes; allyl sénévol,  $\alpha$ -chloro-croton-aldéhyde;

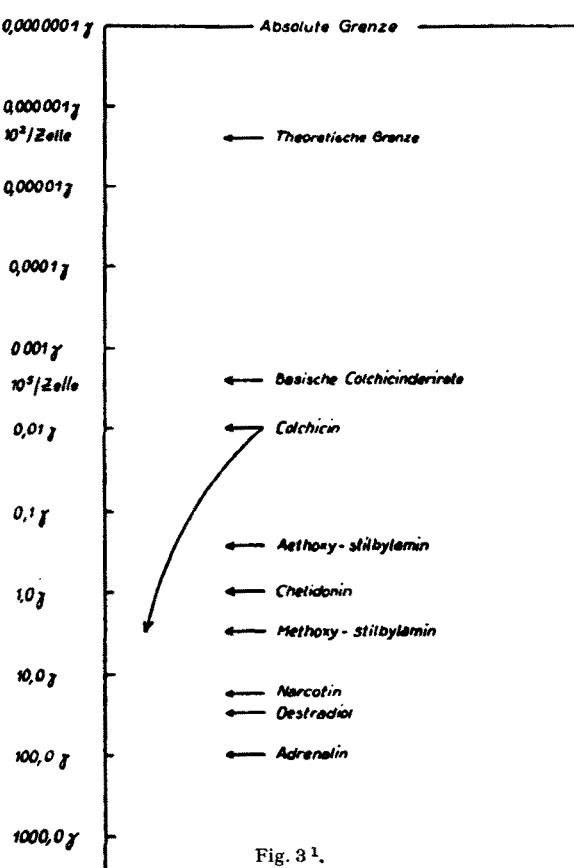
<sup>2</sup> Substances de combat: dérivé du gaz moutarde, chlorpicrine;

<sup>3</sup> Substances bactéricides: combinaisons organométalliques du mercure, savon cation-actif, Trypaflavine;

<sup>4</sup> Substances antimitotiques: quinones, amines aromatiques plusieurs fois substituées.

Pour l'appréciation des substances examinées on a recours d'une part au rapport entre doses et activité, d'autre part à la caractérisation qualitative de l'effet.

Le profil de la courbe dose-activité, dans le champ des concentrations — ceci vaut également pour d'autres représentants des séries — est très divers, en ce qui concerne l'étendue, l'inclinaison et les valeurs absolues. Ceci est important à plusieurs points de vue: il est préférable de faire agir des doses équitoxiques pour caractériser comparativement la nature de l'action. Des substances à grande marge d'activité peuvent présenter une utilisation prépondérante à condition que la qualité de l'action réponde au but. La 2-méthyl-1,4-naphtoquinone, prise comme type des quinones actives, montre une courbe doses-activité, établie en utilisant des cultures de fibroblastes, semblable à celle de la colchicine aussi bien pour l'allure que pour l'inclinaison du trajet. Le savon cation-actif présente une marge d'activité tout aussi grande, bien que les concentrations actives soient plus fortes à peu près dix fois. La combinaison organométallique du mercure et l'allyl sénévol ont une marge d'activité un peu plus petite, pour une toxicité sensiblement égale à l'égard des fibroblastes de poule, que celle



Un grand nombre de substances appartenant aux groupes précités ont été étudiées, sans tenir compte de leur structure chimique.

La colchicine, considérée comme le type des poisons mitotiques, et la Trypaflavine ont été utilisées à titre comparatif. En outre le dérivé N du gaz moutarde dont GILMAN et PHILIPS<sup>2</sup> ont constaté l'activité dans la lymphogranulomatose, a été étudié également. Les uréthanes déjà connus comme poisons pour les fermentes, agissent sur la leucémie et cette propriété découverte par HADDOCK et PATERSON<sup>3</sup> leur conférait

<sup>1</sup> Tiré de H. LETTRÉ, Naturwissenschaften 33, 75 (1946).

<sup>2</sup> A. GILMAN et F. S. PHILIPS, Science 103, 409 (1946).

<sup>3</sup> A. HADDOCK et W. A. SEXTON, Nature 157, 500 (1946). — E. PATERSON, A. HADDOCK, J. A. THOMAS et J. M. WATKINSON, Lancet, 677 (1946/I).

<sup>1</sup> R. MEIER et M. ALLGÖWER, Exper. 1, 57 (1945).

<sup>2</sup> H. VOLLMAR, Zbl. Bakteriol. 135, 101 (1935/36).

de la colchicine. La méthyl-bis- $\beta$ -chloréthylamine montre selon nos recherches une faible toxicité ainsi qu'une marge d'activité étroite ne s'étendant que sur un dixième de puissance. Les deux combinaisons chlorées, l' $\alpha$ -chlorocrotonaldéhyde et la chlorpicrine paraissent intéressantes; elles sont notablement plus toxiques et leur marge d'activité est encore un peu

ruptures du plasma. Le noyau est plus ou moins fortement ratatiné. A la limite d'activité antimitotique il n'y a plus que très peu de mitoses normales. Chez les mitoses pathologiques, le protoplasma, à la concentration  $10^{-7}$ , présente une colorabilité très forte, les chromosomes sont fortement pycnosés et les cellules offrent souvent des formes grotesques, du fait qu'à côté de

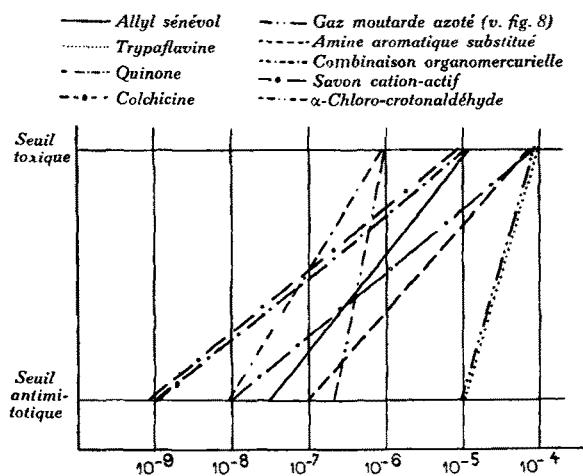


Fig. 4. Courbes d'activité de quelques substances caryoclasiques.

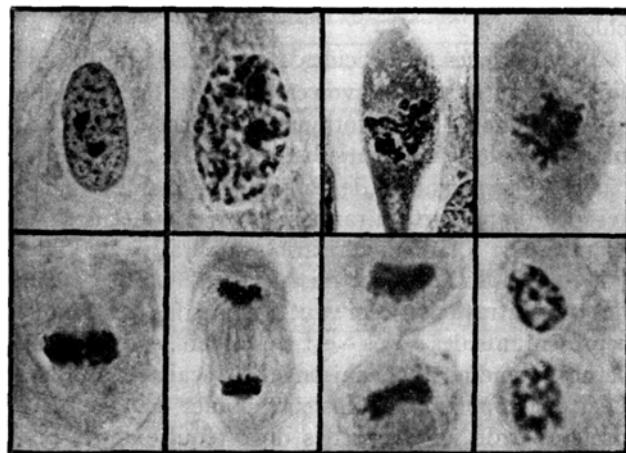


Fig. 5. Phases des mitoses normales.

plus petite que celle du dérivé du gaz moutarde. La Trypaflavine n'est pas très毒ique et présente une marge d'activité moyenne, tandis que dans le groupe des amines plusieurs fois substituées par des radicaxyl aromatiques, on trouve des représentants dont la courbe doses-activité est assez peu accentuée (fig. 4).

A côté de «l'action antimitotique» on relève de plus des caractères différentiels morphologiques aussi bien par rapport à l'«effet toxique» que par rapport aux effets spécifiques sur la divisions de la cellule et sur quelques-uns de ses éléments constitutifs. L'*allyl sénévol* à la concentration toxique ( $10^{-5}$ ) ne rend pas la cellule au repos globuleuse. De fins prolongements protoplasmiques subsistent. Il se produit parfois des

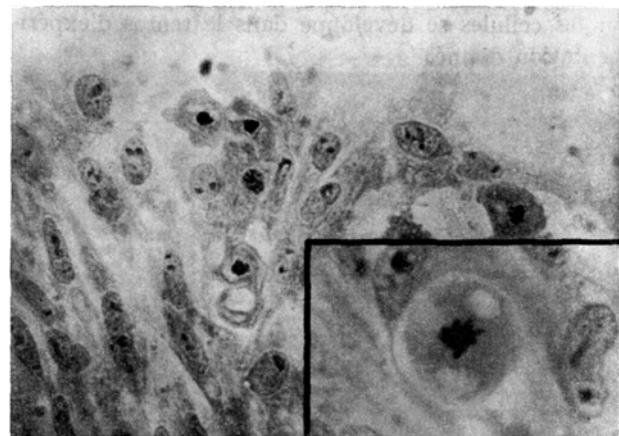


Fig. 6. Allyl-sénévol. Concentration:  $10^{-7}$ .

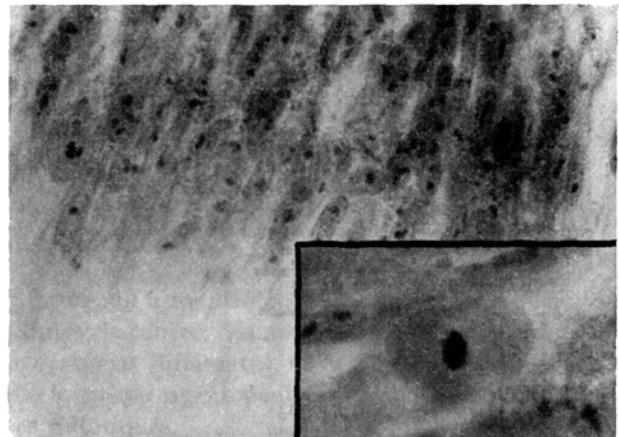


Fig. 7.  $\alpha$ -Chlorocrotonaldéhyde. Concentration:  $10^{-7}$ .

cellules au repos paraissant normales se trouvent des prolongements protoplasmiques en forme d'outres, ce qui est l'indice d'un mouvement amiboïde plus ralenti de la cellule (fig. 6).

A la concentration d' $\alpha$ -chlorocrotonaldéhyde  $10^{-6}$  il ne subsiste presque plus que des débris de cellules, un petit nombre de cellules globuleuses dont le noyau est faiblement ratatiné. A la concentration  $10^{-7}$  on rencontre surtout des mitoses normales, mais aussi des cellules rappelant la «métaphase du type colchicine» (fig. 7).

Si l'on compare la méthyl-bis- $\beta$ -chloréthylamine avec la colchicine, on constate que:

a) le nombre des mitoses n'est pas augmenté, mais diminué;

b) la pycnose au stade de la métaphase est rare, les chromosomes au contraire sont dispersés dans toute l'étendue du plasma;

c) les systèmes du fuseau sont visibles tandis que la colchicine attaquerait l'appareil du fuseau et, selon

cela l'arrondissement complet de la cellule s'ensuive. Le plasma est fortement colorable. Le noyau n'est pas ratatiné, mais de forme normale et souvent placé excentriquement. La concentration limite mitotique ne présente que des prophases normales. Les mitoses atteintes montrent des formes sphériques, en massue ou en hâties. Les chromosomes sont dispersés en tas, cependant le système de fuseau comme moyen de liaison entre les divers chromosomes est le plus souvent nettement visible. En se basant sur les préparations fixées, on ne peut pas discerner avec certitude dans quelle phase de la mitose la perturbation a lieu. Le déclanchement de la mitose est rendu peut-être plus difficile mais sûrement pas impossible (fig. 8).

Les combinaisons organométalliques du mercure provoquent à la limite de concentration toxique  $10^{-6}$  des modifications profondes dans la cellule au repos. Le plasma en lambeaux demeure étalé, se colore difficilement. Le noyau est ratatiné. On discerne encore les mitoses, et leurs chromosomes sont agglomérés en un tas. A la concentration limite mitotique, on observe à côté de quelques mitoses normales, passablement de cellules du «type colchicine»; on y rencontre également des cellules doubles. Leur plasma est fortement colorable, arrondi, l'amas de chromosomes pycnosés est situé au milieu ou faiblement excentrique. Les deux cellules sont reliées par un filet de plasma (fig. 9). Une séparation complète des cellules filles ne se produit pas. Il subsiste un filet de plasma visible et les cellules ne peuvent pas s'étaler normalement en cellules au repos; elles demeurent globuleuses. Nous avons pu observer qu'un groupe de cétones aromatiques hétérocycliques provoque une perturbation de la mitose tout-à-fait semblable. On observe là, comme pour les combinaisons organo-métalliques du mercure, des cellules doubles reliées par un filet de protoplasma. Elles représentent donc des télyphases pycnosées. La violente agitation de surface que l'on constate normalement dans cette phase de la division manque; les cellules sont globuleuses et les chromosomes plus fortement aggrégés qu'à la normale. Si la liaison protoplasmique fait défaut, ces cellules, dans les préparations fixées, ne se différencient plus des métaphases du type colchicine. L'examen de la figure histologique ne permet pas d'affirmer s'il s'agit là vraiment d'une substance capable aussi bien de pycnoser les chromosomes dans la métaphase que d'empêcher l'extension de la substance chromatique pendant la phase de reconstruction. C'est là cependant une question de grande importance pour la meilleure compréhension des conditions physiologiques et chimiques du mécanisme de la mitose.

A la dose toxique  $10^{-4}$ , le savon cation-actif provoque une vacuolisation du protoplasma dans la cellule au repos. Le protoplasma se colore mal et demeure étalé. Le noyau présente un rétrécissement plus ou moins accentué. La limite de concentration mitotique  $10^{-8}$  aboutit à des figures particulières. A côté de «cellules du type

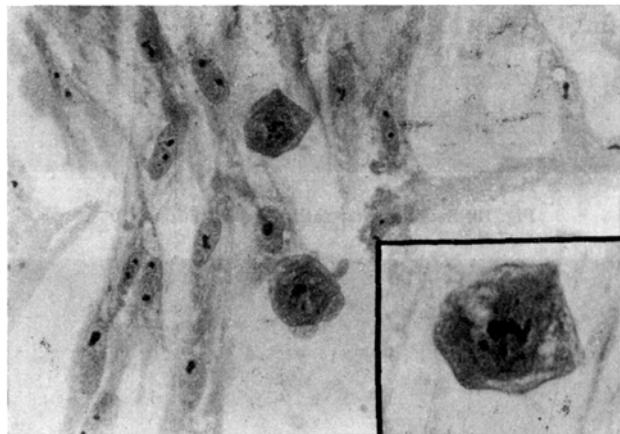


Fig. 8. Méthyl-bis- $\beta$ -chloréthyl-amine. Concentration:  $10^{-8}$ .

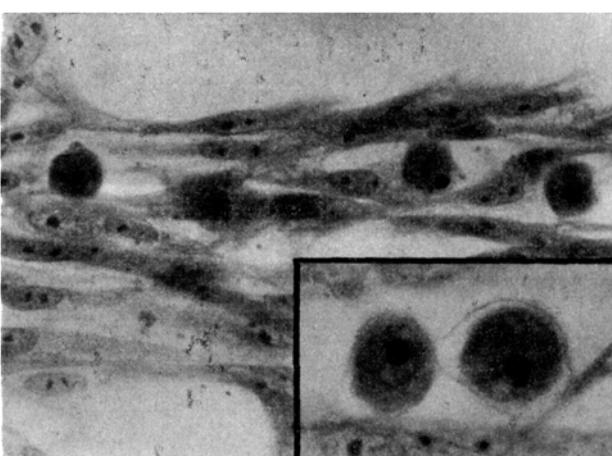


Fig. 9. Composé organométallique du mercure. Concentration:  $10^{-8}$ .

BUCHER, empêcherait la formation de la plaque équatoriale chez les fibroblastes du lapin;

d) la colchicine, toujours selon BUCHER, détermine bien des dislocations de chromosomes, mais seulement à des doses faibles qui n'aboutissent plus à la pycnose et permettent encore une division au plus grand nombre des cellules.

De tout cela, nous croyons pouvoir conclure que l'action de la méthyl-bis- $\beta$ -chloréthylamine sur la cellule en état de mitose du fibroblaste de poule diffère nettement de celle de la colchicine. La concentration toxique  $10^{-4}$  du gaz moutarde azoté montre la figure suivante: les fines ramifications du protoplasma font défaut, la surface du plasma est réduite sans que pour

«colchicine» on trouve des cellules qui ont éclaté en un très grand nombre de particules de protoplasma (fig. 10). Beaucoup de ces gouttelettes de protoplasma contiennent des chromosomes. En outre, on ne voit plus que des prophases normales. Quelques cellules au repos, peu nombreuses, présentent une très légère agitation superficielle. De plus, dans les cultures colorées on rencontre, mais très rarement, des cellules qui renferment 5 à 7 très petits noyaux au repos dans un protoplasma alvéolaire (fig. 11). La reconstruction, sans qu'il y ait étranglement du protoplasma, des particules de chromosome en tout petits noyaux au repos doit être considérée comme l'indice d'un développement ultérieur possible, côté à côté avec un rassemblement des chromosomes ou la destruction définitive de ces cellules brisées.

MEIER et ALLGÖWER, au cours de leurs recherches sur les *quinones*, ont établi «que le groupe des quinones et celui de la colchicine produisent des effets pathobiologiques qualitativement identiques ou semblables du point de vue morphologique».

1<sup>o</sup> Pour des concentrations fortes relatives à la dose de seuil: troubles «prémitotiques» de la division cellulaire; début avant le développement des chromosomes, avec forme globuleuse des cellules, pas de pycnose des chromosomes, étranglement amitotique ou division du noyau et/ou du protoplasma.

2<sup>o</sup> Pour des concentrations plus faibles relatives à la dose de seuil: troubles «mitotiques» de la division cellulaire, début après le développement des chromosomes, pycnose de ces derniers dans la métaphase avec cellules globuleuses, arrêt de la division du noyau et de la cellule.

La concentration limite de toxicité  $10^{-5}$  pour le noyau au repos amène l'arrondissement de la cellule au repos décrit par ces auteurs, ainsi que l'étranglement ou la scission du noyau au repos. Les noyaux sont aussi en partie faiblement ratatinés, le plasma prend un aspect grenu. A la concentration limite antimitotique,  $10^{-9}$  on observe, à côté de mitoses normales, des métaphases plus ou moins fortement pycnoscées (fig. 12).

Des figures du type *colchicine* sont présentées pour permettre la comparaison (fig. 13).

La *Trypaflavine* ainsi qu'un groupe de combinaisons présentant un noyau hétérocyclique lié à un noyau aromatique, déterminent une modification particulière dans la culture de fibroblastes du cœur de poule. A la dose toxique  $10^{-4}$ , les modifications produites dans la forme des cellules ne sont pas trop accentuées; toutefois la membrane du noyau habituellement visible par coloration à l'hématoxyline manque. Du plasma bleu clair, la coloration fonce graduellement jusqu'au centre bleu foncé du noyau. Les corpuscules nucléaires sont encore facilement perceptibles. A  $10^{-5}$ , les contours du noyau, la membrane et les corpuscules nucléaires ne se colorent pas aussi fortement qu'à la normale. Les cultures montrent, outre des prophases précoces,

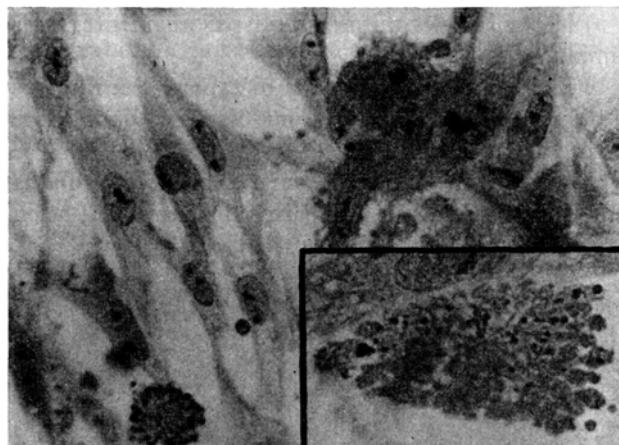


Fig. 10. Savon cation-actif. Concentrations:  $10^{-8}$ .

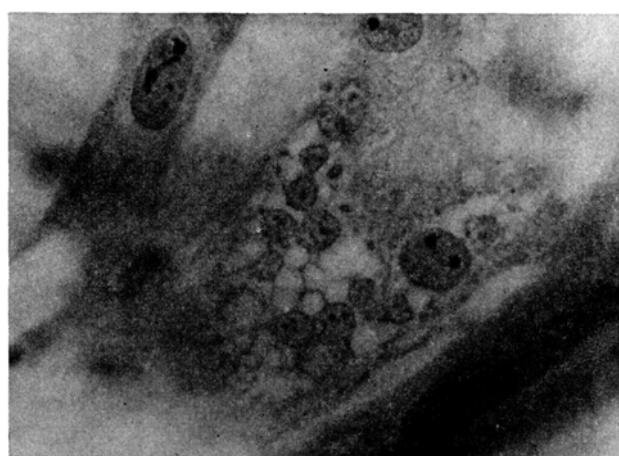


Fig. 11. Même légende que pour fig. 10.

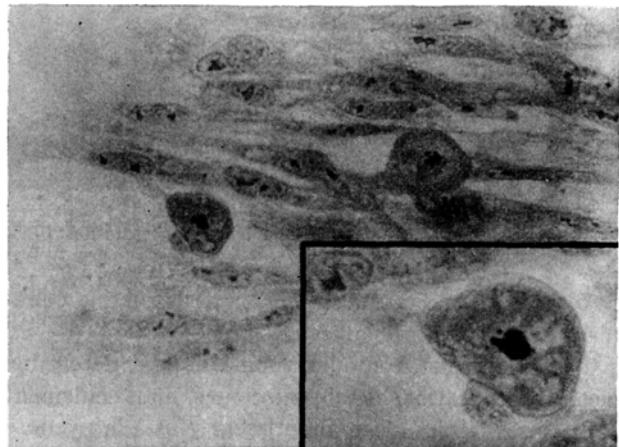
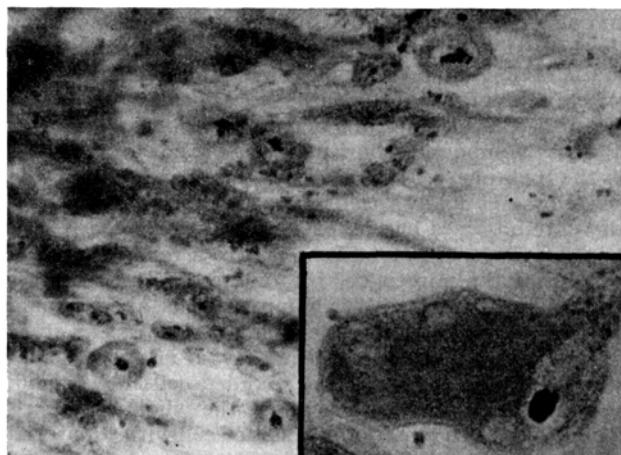
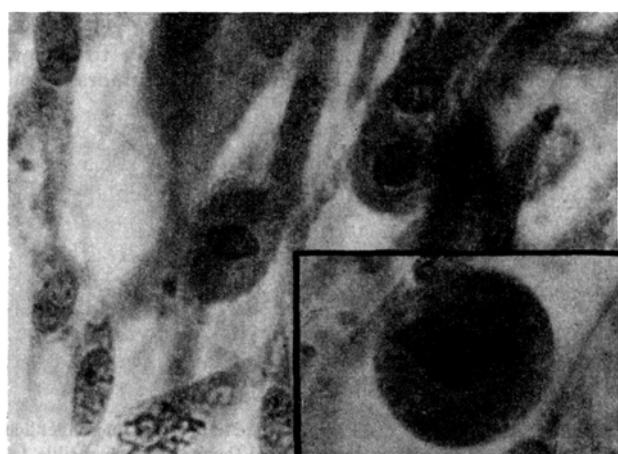
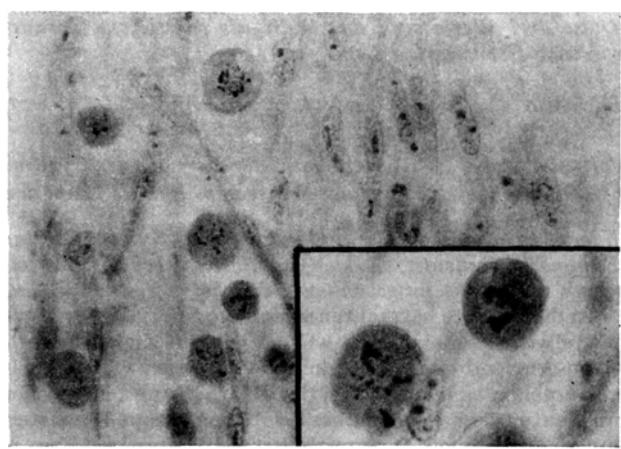


Fig. 12. Quinones. Concentration:  $10^{-9}$ .

beaucoup de cellules globuleuses que l'on prendrait avec un faible grossissement pour des métaphases ou des plaques équatoriales. Avec un grossissement plus fort, on constate que ce sont des cellules plus ou moins globuleuses avec un corps homogène, allongé à l'in-

Fig. 13. Colchicine. Concentration:  $10^{-9}$ .Fig. 14. Trypaflavine. Concentration:  $10^{-5}$ .Fig. 15. Amines aromatiques plusieurs fois substituées. Concentration:  $10^{-6}$ .

térieur (fig. 14). Cette formation provient-elle d'une cellule au repos ou de prophases précoces, c'est ce qu'on ne peut affirmer.

Une autre modification particulière de la mitose a été obtenue avec un groupe d'amines aromatiques plusieurs

fois substituées. Les doses toxiques  $10^{-4}$  provoquent le ratatinement du noyau au repos, le plasma se colore mal et se partage en lambeaux. On observe encore des mitoses de forme pathologique. A la concentration  $10^{-7}$ , on trouve, à côté de mitoses normales peu nombreuses, une quantité de cellules globuleuses dont les chromosomes sont dispersés dans le mixoplasma en de nombreux petits tas (fig. 15). La même modification des chromosomes se rencontre sporadiquement dans des cellules un peu plus petites, reliées deux par deux par un filet de protoplasma.

La comparaison, tant qualitative que quantitative de l'action caractéristique de substances étudiées et de celle de la colchicine, permet de les répartir en plusieurs groupes:

1<sup>o</sup> La quinone présente le même tableau d'action que la colchicine, le poison mitotique typique. Ceci aussi bien pour le rapport dose-activité que pour l'effet produit sur la figure morphologique de la cellule, dans l'étendue des doses moyennes et toxiques. Ce n'est qu'à la limite de l'action antimitotique que certaines différences peuvent se montrer.

2<sup>o</sup> Le savon cation-actif n'a de commun avec la colchicine que la grande marge d'activité et l'action, aux concentrations moyennes, sur la morphologie de la cellule mitotique. Mais il en diffère par sa toxicité absolue, l'effet de celle-ci et son action limite antimitotique.

3<sup>o</sup> Les combinaisons organo-métalliques du mercure,  $\alpha$ -chlorocrotonaldéhyde et l'allyl sénévol parmi toutes les actions étudiées, n'ont en commun avec la colchicine que les modifications morphologiques de la mitose du «type colchicine» obtenues dans le champ d'activité moyen.

4<sup>o</sup> Le gaz moutarde azoté, la Trypaflavine et des amines aromatiques plusieurs fois substituées ne montrent qu'une action mitotique; la figure morphologique obtenue sur la cellule de fibroblastes de poule ne rappelle cependant en rien celle de la colchicine.

Les résultats de ces recherches présentent, à notre avis, de l'importance à divers points de vue. Ils montrent d'une part que des substances chimiques très différentes peuvent exercer sur les mêmes cellules sous les mêmes conditions des actions antimitotiques très semblables et d'autre part que des figures morphologiques paraissant tout d'abord semblables, se révèlent, étudiées plus complètement, comme notablement différentes, tout au moins quant à leur genèse fonctionnelle et dans leur ensemble. Or, il n'est pas prouvé que la spécificité de l'action antimitotique soit déterminée exclusivement par la structure chimique des agents. Cette constatation est susceptible d'être détaillée encore davantage et dans plusieurs directions en utilisant le film pour ces mêmes recherches.

— Nous reviendrons du reste ultérieurement sur ce procédé. L'idée à la base de ces recherches sur les actions antimitotiques, à part le gain en connais-

sances scientifiques, est liée d'une façon ou d'une autre à la possibilité d'une action thérapeutique sur les tumeurs. L'état de chose présent n'autorise pas, pour le moment, de conclusion dans ce sens. Il faut attendre de voir si, à l'aide des constatations rapportées ici, une caractérisation plus complète des actions étudiées est possible. Ce serait là la condition préalable pour établir l'hypothèse conduisant à l'application thérapeutique. Nous y consacrerons nos prochains efforts.

#### Summary

After a short review of the pertinent literature, the authors demonstrate on the basis of their own investigations on a series of medicaments that various groups of substances have the property of inhibiting cell division. An individual group, a number of substances are found with a distinct antimitotic effect, which seems to go beyond chance. As typical representatives of such groups mustard oil, crotonic aldehyde, organic derivatives of mercury, cationic soaps, quinones, substituted amines with a colchicine and acriflavine effect were compared. The substances with an effect similar

to colchicine may be divided into 4 groups, according to their qualitative and quantitative effect. Moreover, in the same type of cell under the same conditions, these substances produce various pathological cell division pictures. Colchicine, quinone, mustard oil and organic mercury compounds show pyknosis of the chromosomes in the metaphase. With Hg compounds pyknosis of the chromosomes follows frequently only after division of the chromosomes has taken place. Cationic soaps lead to pyknosis in the metaphase and to a remarkable dispersion of the mitotic cell into numerous chromosomes and plasma divisions. With N-mustard gas, aberration of the chromosomes can be demonstrated at every stage of division. A group of repeatedly aromatically substituted amines shows in the rounded cell the chromosome particles strewn throughout the whole cell. Acriflavine leads to a remarkable rounded cell with equatorial plate-like pictures. This disturbance cannot be regarded with certainty as a mitotic disturbance.

The investigation of antimitotic modes of action of substances which belong to pharmacologically diverse groups leads, in addition to the increase of our knowledge in the field of cell division, possibly to a new approach to the possibilities of influencing tumors therapeutically.

## Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. — Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. — Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. — The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

### Mittlere Trefferzahlen und geometrische Wahrscheinlichkeiten

Wie die Verfasser an anderer Stelle ausführlicher darlegen und beweisen werden, gilt die folgende *Mittelwertaussage*:

*Ein einfach zusammenhängender Bereich G vom Flächeninhalt F und der Randlänge L werde in der Ebene eines Systems {G<sub>v</sub>} von einfach zusammenhängenden Bereichen G<sub>v</sub> (v = 1, 2, 3, ...) gleichmäßig beschränkter Durchmesser bewegt. In jeder Lage von G werde die totale Zahl S der verschiedenen zusammenhängenden Teile (Komponenten), aus welchen die nicht leeren Durchschnitte GG<sub>v</sub> (v = 1, 2, 3, ...) bestehen, festgestellt. Genügt das Bereichssystem den Voraussetzungen, die durch die Existenzforderung der drei unten folgenden Grenzwerte gegeben sind, so existiert auch der in passender Weise als Integralmittel definierte, über alle ebenen Bewegungen von G erstreckte Mittelwert von S, und dieser mittlere Stückzahl ist gegeben durch die Formel*

$$\bar{S} = D_0 \left( F + \bar{F} + \frac{L\bar{L}}{2\pi} \right). \quad (1)$$

Hier bedeuten D<sub>0</sub> die Anzahldichte (Bereichanzahl pro Flächeneinheit) und F bzw. L den mittleren Flächeninhalt, bzw. die mittlere Randlänge der Bereiche des Systems.

Diese drei Werte sind durch die als existierend vorausgesetzten Grenzwerte

$$D_0 = \lim_{R \rightarrow \infty} \frac{N(R)}{\pi R^2}; \bar{F} = \lim_{R \rightarrow \infty} \frac{\sum F_v}{N(R)}; \bar{L} = \lim_{R \rightarrow \infty} \frac{\sum L_v}{N(R)}. \quad (2)$$

definiert, wobei N(R) die Anzahl der Bereiche des Systems {G<sub>v</sub>} bezeichnet, die ganz im Kreise vom Radius R um den Ursprung der Ebene liegen und wo das Symbol  $\sum$  eine Summation bedeutet, die sich nur über die bei der Bestimmung von N(R) mitgezählten Bereiche zu erstrecken hat.

In dieser Note betrachten wir einige Spezialfälle obiger Mittelwertsformel, durch welche wir auf die vielgestaltigen Anwendungsmöglichkeiten hinweisen wollen. Solche ergeben sich häufig bei der Bearbeitung technischer und naturwissenschaftlicher Probleme, wenn Fragestellungen bezüglich geometrischer Mittelwerte, Erwartungswerte, geometrischer Wahrscheinlichkeiten usw. auftreten.

1. *Bereich im Punktsystem*. In einem Punktsystem der Punktdichte D wird ein beliebiger Bereich G vom Flächeninhalt F bewegt. Der Mittelwert  $\bar{N}$  der von G bedeckten Punkte ist dann gegeben durch

$$\bar{N} = DF. \quad (3)$$

Führen wir den Beweis in diesem Sonderfall direkt aus, so erkennen wir, daß man auf die Voraussetzung