

## Surcharge lipidique de l'organisme dans l'intoxication chronique du chien par le $\gamma$ -hexachlorocyclohexane

Nous avons signalé en 1948<sup>1</sup> la surcharge graisseuse du foie, constatée à l'autopsie de chiens et de lapins intoxiqués par des injections intramusculaires de l'isomère  $\gamma$  de l'hexachlorocyclohexane (HCH). Nous avons repris ces expériences, avec des contrôles histologiques rigoureux, en injectant à des chiens, par voie intramusculaire, 130 à 475 mg/kg de  $\gamma$ -HCH en solution huileuse à 10%, à raison de 10 à 30 mg/kg par injection. Les animaux sont morts ou ont été sacrifiés 7 à 44 jours après le début des injections. L'examen histologique a révélé que ce n'est pas uniquement le foie, mais tout l'organisme qui subit une surcharge ou une dégénérescence lipidique.

Dans certains organes et tissus, comme la peau, la rate, les ganglions lymphatiques ou encore les trompes utérines, les graisses paraissent limitées aux cellules adipouses et aux macrophages. Ceux-ci sont nombreux et bourrés de gouttelettes lipidiques. D'autres tissus et organes sont atteints dans leur parenchyme même. Les noyaux sont toujours intacts et nous n'avons pas vu de signes d'activité antimitotique; il n'y a pas de destructions cellulaires.

Le foie montre une surcharge graisseuse des cellules parenchymateuses qui débute autour des espaces périlobulaires, mais peut s'étendre à l'ensemble du lobule. Les parois vasculaires et le tissu conjonctif des espaces stellaires sont épargnés. Par contre, l'épithélium des canalicules biliaires porte une surcharge lipidique et celle-ci s'étend aux voies biliaires, y compris la vésicule.

Les tissus musculaires sont atteints de manière irrégulière: à côté de fibres striées normales, on voit des fibres dans lesquelles les myofibrilles portent des chapelets de granules lipidiques qui sont liés, à l'origine, aux disques sombres. Il en est de même pour le myocarde, mais ici la dégénérescence débute dans le sacroplasme périnucléaire; elle s'arrête nettement aux disques intercalaires, montrant l'individualité biochimique des éléments musculaires cardiaques. Nous n'avons observé une dégénérescence graisseuse des muscles lisses que dans l'utérus, où la musqueuse et les glandes portent une forte surcharge lipidique.

Au niveau du système nerveux, tant périphérique que central, on décèle un processus très particulier de dégénérescence graisseuse. Des granules lipidiques apparaissent dans le cytoplasme des cellules nerveuses; ces granules se groupent en un ou plusieurs endroits de la cellule, de préférence à sa périphérie, et s'entourent d'une vacuole. La vacuole fait saillie à la surface de la cellule et crève. Dans le système nerveux périphérique, qu'il s'agisse de ganglions spinaux ou de ganglions végétatifs, les granules sont repris par des histiocytes. Dans le système nerveux central, ils sont repris par des cellules de microglie qui les transportent vers les espaces péri-vasculaires de VIRCHOW-ROBIN où les gouttelettes forment des gouttes plus importantes qui passent aux espaces sous-arachnoïdiens; nous les retrouvons accumulées à proximité des grosses veines et des sinus. La dégénérescence graisseuse ne paraît pas toucher les prolongements cylindraxiles, ni les gaines de myéline; cependant des indices histochimiques suggèrent une modification de la structure lipidique des gaines de myéline.

Parmi d'autres organes atteints, signalons le poumon où nous trouvons des graisses non seulement dans les macrophages, mais aussi dans l'épithélium des bronchioles.

Enfin, le rein montre une surcharge importante, à grosses gouttelettes, dans les cellules des portions terminales, rectilignes, des tubes contournés proximaux; les autres portions des tubes contournés ne portent qu'une surcharge très discrète; on aperçoit quelques gouttelettes dans la lumière des tubes. La médullaire est intacte, sauf au niveau des portions finales des tubes collecteurs où l'on trouve, à côté de cylindres hyalins, des boudins graisseux extracellulaires. On aperçoit encore de la surcharge lipidique dans l'épithélium des calices et du bassinet, mais pas dans celui de l'uretère.

A côté des localisations principales de la surcharge lipidique - parenchyme hépatique, muscles striés squelettiques et cardiaque, tissu nerveux, reins - on trouve donc des dépôts de graisses dans certains muscles lisses, dans certains épithéliums glandulaires et dans le système histiocytaire.

La surcharge lipidique dans l'intoxication expérimentale chronique par le  $\gamma$ -HCH ne semble pas due uniquement à un dépôt de graisses alimentaires. En effet, la localisation des lipides à des endroits où normalement on trouve des dépôts importants de glycogène (foie, muscle, muqueuse utérine) suggère une déviation du métabolisme des glucides et des lipides. D'autre part, la disposition très particulière des granules graisseux dans les cellules nerveuses et surtout dans les muscles striés ne peut s'expliquer, à notre avis, que par une rupture des cénapses lipo-protidique avec démasquage des constituants lipidiques de ces cénapses.

M. J. DALLEMAGNE, M. A. GEREBTZOFF et E. PHILLIPOT

Instituts de thérapeutique expérimentale (Dept. de pharmacodynamie) et d'anatomie de l'Université de Liège, le 26 novembre 1949.

### Summary

Experimental researches on  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane chronic intoxication on dogs show a general fatty degeneration of the organism: fat deposits exist in the liver, muscles, nervous tissue, kidneys, and other organs, and in the histiocytary system. Most peculiar is the degeneration of nerve cells and that of myofibrils in skeletal and cardiac muscle fibres, suggesting a rupture of lipo-protidic cénapses.

### PRO LABORATORIO

## Modification de l'appareil à aération de Van Slyke-Cullen et son adaption au microdosage de l'azote protéique après Kjeldahlisation et entraînement à froid de l'ammoniaque

VAN SLYKE et CULLEN<sup>1</sup> ont décrit un assemblage fréquemment utilisé pour le dosage de l'urée dans lequel, après transformation de l'urée en carbonate ammonique par l'action de l'uréase, l'ammoniac est libéré par un alcalin et entraîné par barbotage d'air jusqu'à une solution acide dont l'excès est titré, traduisant ainsi la

<sup>1</sup> M. J. DALLEMAGNE et E. PHILLIPOT, Arch. int. Pharmacod. Thér. 76, 274 (1948).

<sup>1</sup> D. D. VAN SLYKE et G. E. CULLEN, J. Biol. Chem. 24, 117 (1916).

proportion d'urée dans l'échantillon soumis au dosage. Nous avons élargi l'usage de cet appareil en l'adaptant au dosage de l'azote de matière protéiques quelconques, supprimant les transvasements et les distillations à chaud, tous deux générateurs de pertes matérielles et de temps. De plus, nous avons modifié l'appareil original de façon à assurer une étanchéité permanente au cours de l'opération entière en réalisant un système clos n'exigeant plus l'ouverture des récipients dès après la digestion sulfurique.

Nos essais ont porté sur divers microdosages de substances azotées en portant la limite de sensibilité au dixième de milligramme d'azote: sels ammoniacaux, urée, tyrosine, sérum, fibrinogène. Les résultats obtenus livrent des chiffres qui voisinent avec les valeurs théoriques. Nous dosons les divers éléments azotés du sang, avec détermination concomitante de l'urée par le procédé à l'uréase, dans le même appareil et en une matinée. Nous utilisons soit une rampe de Kjeldahlisation constituée par une résistance électrique rectiligne pouvant chauffer plusieurs tubes, soit de préférence un bain de sable. — La Kjeldahlisation se fait suivant la technique classique mais en utilisant les tubes Pyrex de 200 × 25 mm servant dans l'appareil à uréase de VAN SLYKE-CULLEN pour y opérer la digestion sulfurique. Le produit de digestion est laissé dans le tube. Une fois refroidi, on y ajoute goutte à goutte 3 cm<sup>3</sup> d'eau bidistillée bouillie et on bouche au moyen du bouchon en caoutchouc muni de son tube barboteur et du tube à dégagement. Ce bouchon livrera, en outre, passage à un troisième tube adducteur de l'alcalin (NaOH 50%) destiné à libérer l'ammoniac du digestat.

Ceci constitue la modification de l'appareil original de VAN SLYKE-CULLEN. Ce troisième tube dépasse de 1 cm la face inférieure du bouchon et est muni, du côté de la face supérieur du bouchon, d'un robinet rodé. Ce tube, enfin, se prolonge, au-dessus du robinet, en entonnoir allongé de la forme de la partie médiane d'une pipette volumétrique de 15 cm<sup>3</sup> sectionnée à la partie la plus distale. Lors de la dépression opérée dans le système par l'ouverture de la pompe à vide, le robinet de ce troisième tube est ouvert livrant passage à la presque totalité de NaOH 50% qui a été, au préalable, versée dans cet entonnoir. On ferme le robinet et l'ammoniac, entraîné à froid par la succion opérée par la pompe, est reçu par barbotage dans la solution acide qui garnit le tube correspondant de l'appareil de VAN SLYKE. Le barbotage est continué durant 30 à 45 minutes à une allure modérée qui évite la condensation d'eau dans le tube Pyrex. Peu avant la fin de l'opération on reprend, par inclinaison du tube contenant le digestat et l'alcalin, l'eau qui aurait pu se condenser sur les parties supérieures du tube et qui pourrait retenir du gaz ammoniac. On laisse barboter encore quelques instants et on titre enfin l'excès d'acide par NaOH en présence de rouge de méthyle.

J. LEURQUIN et J. P. DELVILLE

Laboratoire médical d'Elisabethville, Congo belge, le 1<sup>er</sup> avril 1950.

### Summary

VAN SLYKE and CULLEN devised and described the use of an aeration-assembly for the estimation of urinary and blood urea by the titration of ammonia set free out of a blood-urease mixture treated with an alkaline solution and aerated into a solution of known acidity. This assembly has been modified and adapted to a microkjeldahl procedure suitable for the estimation of all kind of proteinic matter by employing the reaction-

tube itself for the Kjeldahl digestion and titrating the ammonium salt thus formed by cold-aeration technic in the same apparatus without loss of solution and without hot distillation. Correct manipulation attains a sensitivity of 0.1 mg nitrogen.

### Modification de la cellule de Conway pour les dosages par microdiffusion

CONWAY<sup>1</sup>, VAN SLYKE<sup>2</sup> ont respectivement décrit et relaté l'emploi d'une cellule pour la diffusion de gaz libérés lors de réactions susceptibles de les dégager de leurs combinaisons et pour leur absorption dans une solution titrée dont l'excès, titré à son tour, peut déterminer le pourcentage de l'élément à doser dans l'échantillon original. Comme il s'agit toujours de microdosages affectant des différences de quelques gammes il nous a semblé opportun de relater la modification que nous avons apportée à la cellule originale de CONWAY et qui tend à éliminer les erreurs provenant, en ordre principal, des fuites du gaz à doser rendues inévitables par la conception de la cellule et par les manipulations que cette conception impose. En effet, la cellule doit être ouverte pour y introduire les réactifs destinés à dégager les gaz des combinaisons qui ont pris naissance dans le premier temps de l'opération. La réaction est immédiate et, entre l'écoulement total du réactif hors de la pipette qui l'amène à la cellule et la fermeture de celle-ci, des gaz dégagés peuvent se perdre. Les précautions recommandées par CONWAY pour réduire au strict minimum le temps d'ouverture de la cellule illustrent à suffisance ce défaut majeur de «l'unité» utilisée jusqu'à présent.

La modification que nous avons apportée à la cellule de CONWAY et que nous décrivons ici permet d'obvier à ces inconvénients et d'obtenir des résultats situés à la limite des chiffres théoriques.

La cellule modifiée est constituée par deux boîtes circulaires concentriques en verre de la forme de petites boîtes de Petri dont la plus grande est rodée extérieurement sur le tiers supérieur de sa hauteur, en pente légèrement inclinée (cône tronqué), de façon à pouvoir être emboîtée par un couvercle, rodé également sur son pourtour interne, qui épouse la forme du rodage de la boîte inférieure et assure l'étanchéité du système. — La petite cellule interne est disposée au centre de la première et laisse entre elle et la cellule externe une rigole destinée à recevoir la solution absorbante du gaz dégagé de la cellule centrale par la réaction chimique qui le libère. La paroi latérale de la cellule interne est moins élevée que celle de la cellule externe. Cette cellule interne est, en outre, divisée transversalement en deux compartiments affectant la forme d'un demi-cercle par une arête prismatique en verre. Cette arête est, à son tour, moins élevée que les parois de la cellule interne qu'elle divise, de façon à permettre le mélange des solutions contenues dans ses deux compartiments sans risque d'écoulement de celles-ci dans la rigole externe. La petite boîte reçoit dans un de ses compartiments l'élément à doser (plus l'uréase dans le cas du dosage de l'urée) qui fournira le gaz; dans l'autre compartiment elle reçoit la solution qui le libérera. Le mélange des solutions contenues dans les deux compartiments de la cellule centrale est opéré par un mouvement à la fois

<sup>1</sup> E. J. CONWAY, *Microdiffusion, Analysis, and Volumetric Error*. (Crosby Lockwood & Son, Ltd., London, 1947).

<sup>2</sup> DAVID E. GREEN, *Currents in Biochemical Research*. (Interscience Publishers, Inc. New York, 1946), p. 118.