

bogen bei der Arbeitsleistung des Muskels entsprechend einem Übergang in einen statistisch wahrscheinlicheren Zustand.

### Summary

The behaviour of three-dimensional networks whose filaments consist, at least partly, of linear polyelectrolytes of high molecular weight, is in essential respects similar to the behaviour of biological contractile systems of the muscle type. Accordingly, artificial networks built up partly of polyacrylic acid show large reversible dilations and contractions when their ionization is increased or decreased through the addition of alkali or acid respectively to the surrounding medium. By means of the contractions thus produced chemical energy can be transformed into mechanical energy.

The dilation and contraction of the large scale system corresponds to the change in average shape that the separate polyvalent chain molecules undergo in solution when the degree of ionization is altered e.g. by addition of alkali or acid to a dilute aqueous solution of polyacrylic acid. Complete stretching is in the case of this example produced by alkali (increased ionization of the polyvalent acid), coiling up, on the other hand, by the

addition of acid (transition from the ionized to the electrolytically undissociated state). The retractive force which causes a nearly stretched unionized molecule to contract is of the same nature as the retractive force in stretched rubber and can be calculated by the use of the same formulæ. By applying this result to a three-dimensional network formed of polyvalent chain molecules, the maximum weight which can just be lifted away from a support can be calculated approximately. It is thereby imagined that the network before being connected to the weight is first stretched by an ionizing agent and then caused to contract by transition to the unionized state. From this consideration the maximum weight is expected to be about 70,000 times the weight of the contractile substance contained in a length of 1 cm of the sample. Experimentally it is shown that in the case of networks containing 80% of polyvinylalcohol and 20% of polyacrylic acid the maximum weight which may be lifted is indeed about 15,000 to 70,000 times the weight of the polyacrylic acid contained in 1 cm of the sample, while the corresponding figure for natural muscle is 15,000 to 60,000. The efficiency of the artificial system thus equals approximately that of the natural muscle and can be accounted for theoretically in a more or less quantitative way.

## L'action indirecte du rayonnement X et ultra-violet<sup>1</sup>

Par Z. M. BACQ<sup>2</sup>

On a répandu, ces dernières années, une abondante littérature basée sur l'affirmation suivante: *le rayonnement atomique est de nature physique, on ne peut se protéger contre ce rayonnement que par des moyens physiques*. Ce raisonnement simpliste est évidemment faux.

Le mode d'action des rayonnements atomiques est identique – ou tout au moins semblable – à celui du rayonnement X, qu'il est plus aisé de doser et de manipuler avec précision. Or, depuis 1940 et surtout dans ces deux ou trois dernières années, le concept d'une action indirecte des rayons X s'est imposé par une série d'expériences faites indépendamment dans divers pays et dont les résultats sont, en général, fort concordants. Nous nous proposons d'exposer l'essentiel de ces faits et de comparer brièvement l'action des X à celle des U.V.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> D'après une conférence tenue à l'occasion de l'inauguration de l'Institut Théodore Kocher, à Berne, le 8 juillet 1950.

<sup>2</sup> Laboratoire de Pathologie Générale, Université de Liège. Centre National de Recherche sur la Croissance Normale et Pathologique.

<sup>3</sup> Revues générales à consulter: D. E. LEA, *Actions of radiations on living cells* (MacMillan Co., New-York, 1947). – Divers auteurs, *Brit. Med. Bull.*, premier fascicule du vol. 4 (1946). – G. HEVESY, *Rev. Modern Physics* 17, 102 (1945). – R. L. DOBSON et J. H. LAWRENCE, *Ann. Rev. Physiol.* 10, 479 (1948). – A. HERVE, *Revue Médicale de Liège* 4, 510 (1949). – M. ERRERA et A. HERVE, *Alécanismes de l'action biologique des radiations*, Desoer, Liège (sous presse).

I. *Définitions*. – Un certain nombre de radiochimistes et de radiobiologistes réunis le 19 juillet 1950 à Paris<sup>1</sup> ont proposé officiellement d'admettre les définitions suivantes. On parle d'action *directe* lorsque la collision ou l'ionisation provoquée par un rayon se fait dans la molécule ou sur la surface (ce sont surtout les molécules protéiques en solution dans un milieu aqueux qui intéressent les radiobiologistes), même si le résultat est simplement d'activer cette molécule et de la rendre sensible à un enzyme dissous dans le milieu.

L'action *indirecte*, au contraire, suppose que l'ionisation du solvant donne naissance à des radicaux libres qui réagissent avec les molécules protéiques ou tout autre accepteur en solution dans le milieu (fig. 1). Le critère de l'action *indirecte*, c'est l'effet de dilution (diminution du rendement ionique lorsque l'enzyme exposé aux rayons X est très dilué); l'autre critère moins certain est l'effet de protection dont il sera question plus loin.

On appelle *actions à distance* les effets observés sur un tissu non irradié d'un être vivant dont certaines parties seulement sont soumises à l'action d'un rayonnement. Dans ces actions *à distance* peuvent inter-

<sup>1</sup> A l'occasion de la commémoration du cinquantenaire de la découverte du radium.

venir des glandes endocrines, le système nerveux, le transport par les humeurs (ou la diffusion) de substances antimitotiques élaborées dans les tissus irradiés.

II. — *La théorie de la cible* (hit theory)<sup>1</sup> veut qu'une mutation soit causée par un seul choc direct sur la cible sensible et que ce choc soit provoqué par une seule ionisation<sup>2</sup>.

Elle est née du désir d'expliquer pourquoi, en 1935, les rayons X (ou du radium) étaient les seuls agents mutagènes connus; elle n'était en contradiction avec aucun fait observé à cette époque. Elle reposait sur trois séries d'observations: a) le pourcentage de mutations léthales est directement proportionnel à la quantité de rayonnement administré; b) la fréquence des mutations est indépendante de l'intensité de la radiation, la même quantité totale d'X produisant le même nombre de mutations, quelle que soit l'intensité du rayonnement; c) la fréquence des mutations est, dans de larges limites, indépendante de la longueur d'onde.

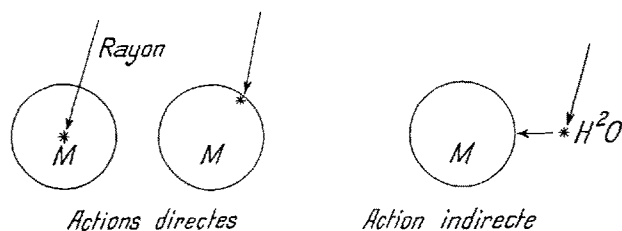


Fig. 1.

Cette théorie n'est plus valable, dans son exclusivité, parce que: 1° de nombreuses substances chimiques sont radiomimétiques, c'est-à-dire reproduisent presque parfaitement les effets du rayonnement X (et aussi des rayons ultra-violet); 2° les rayons X, à doses modérées, inactivent des enzymes; dans le cas des ultra-violets, des intermédiaires chimiques ont été saisis; 3° divers agents chimiques (cyanure, nitrure, cystéine, etc.) modifient considérablement l'action du rayonnement X. Les faits qui servent de base à la théorie de la cible (la théorie de l'action *directe* du rayonnement sur le récepteur) ne sont pas incompatibles avec une théorie d'action indirecte. Il suffit d'admettre que les intermédiaires chimiques sont insensibles aux modifications physico-chimiques du milieu à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules<sup>3</sup>.

III. — *Les substances chimiques radiomimétiques ou mutagènes*. Ce sont surtout les études sur les ypérites

(au soufre et à l'azote) qui ont imposé la notion que certaines substances chimiques sont susceptibles de reproduire fidèlement l'action des rayons X. Les recherches d'AUERBACH, ROBSON et CARR<sup>1</sup> chez la *Drosophile* ont été confirmées et sont en parfait accord avec les résultats obtenus avec un *Neurospora*<sup>2</sup> et avec un *Paramæcium*<sup>3</sup>. Chez *Neurospora crassa*, le sulfure de  $\beta\beta$ -dichloréthyle (ypérite au soufre) provoque l'apparition de 29 mutants (17 visibles et 12 biochimiques); la fréquence de ces mutations (7,6%) est voisine de celle qu'on obtient avec le rayonnement ultra-violet; les mutants incapables de synthétiser la méthionine sont les plus fréquents, comme c'est le cas dans les mutations provoquées par les radiations. Un seul mutant a été obtenu avec l'ypérite qui n'avait pas été vu après irradiation<sup>4</sup>.

Sur le même organisme, l'ypérite à l'azote (N-méthyl-bis-chloroéthylamine) provoque aussi un haut pourcentage de mutations (17%) qui sont semblables à celles qu'on obtient avec le rayonnement X<sup>5</sup>. Il est difficile de préciser si la fréquence des diverses mutations chez *Neurospora* diffère de façon significative quand on compare l'action des U.V., des X et des ypérites. Une irradiation à l'infrarouge proche augmente la fréquence des translocations chromosomiales chez la *Drosophile* soumise à l'action des rayons X ou de l'ypérite à l'azote, à la condition d'être faite *avant* l'exposition aux rayons X ou à l'ypérite<sup>6</sup>.

Si les mêmes mutations sont produites par les ypérites que par les X, une analyse détaillée démontre néanmoins qu'il y a des différences, notamment dans la proportion des mutations géniques et des réarrangements chromosomiques<sup>7</sup>; mais combien ces différences sont faibles par rapport aux similitudes!

Depuis les travaux d'AUERBACH, la liste des substances mutagènes s'est considérablement allongée; trois organismes, la *Drosophile*, *Neurospora* et *Escherichia coli* ont été particulièrement étudiés. Les phénols, la formaldéhyde, l'uréthane sont mutagènes chez l'insecte comme sur le bacille. Le chlorure ferreux, chose étonnante, serait sur *E. coli* un mutagène aussi puissant que l'ypérite ou les radiations alors que

<sup>1</sup> C. AUERBACH, J. M. ROBSON et J. G. CARR, *Science* **105**, 243 (1947). — C. AUERBACH et J. M. ROBSON, *Proc. Roy. Soc. Edinburgh B* **62**, 271 (1947).

<sup>2</sup> N. H. HOROWITZ, M. B. HOULAHAN, M. G. HUNGATE et B. WRIGHT, *Science* **104**, 233 (1946). — W. D. McELROY, J. E. CUSHING et H. MILLER, *J. Cell. Comp. Physiol.* **30**, 331 (1947).

<sup>3</sup> R. P. GECKLER, *Genetics* **35**, 253 (1950).

<sup>4</sup> N. H. HOROWITZ, M. B. HOULAHAN, M. G. HUNGATE et B. WRIGHT, *Science* **104**, 233 (1946).

<sup>5</sup> W. D. McELROY, J. E. CUSHING et H. MILLER, *J. Cell. Comp. Physiol.* **30**, 331 (1947). — E. L. TATUM, *Cold Spring Harbor Symp.* **11**, 278 (1946).

<sup>6</sup> B. P. KAUFMANN, H. GAY et H. ROTHBERG, jr., *J. exper. Zool.* **111**, 415 (1949). — B. P. KAUFMANN et K. WILSON, *Genetics* **34**, 425 (1949).

<sup>7</sup> Voir notamment C. AUERBACH et aussi d'autres auteurs dans: *Pubbl. Staz. zool. Napoli*, **22**, suppl. (1950); C. r. d'un symposium sur *Les agents mutagènes* tenu à Naples du 27 au 31 mai 1949.

<sup>1</sup> Voir un bel exposé récent de la théorie de la cible dans: W. MINDER et A. LIECHTI, *Exper.* **1**, 298 (1945). Ces auteurs montrent toute l'importance de l'activation de l'eau dans les suites chimiques et biologiques des irradiations ionisantes.

<sup>2</sup> N. W. TIMOFEEF-RESSOVSKY, K. G. ZIMMER et M. DELBRÜCK, *Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, N. S.* **1**, 189 (1935).

<sup>3</sup> E. CASPARI, *Production of mutations by ionizing radiations*. Brookhaven Conference. Report BNL-C-4. Biological applications of nuclear physics, July 12-17, 1948.

l'action des carcinogènes devient douteuse<sup>1</sup>. Le cyanure et le nitrure sont mutagènes<sup>2</sup>. Certaines substances qui bloquent les fonctions sulfhydryles: isosulfo-cyanate d'allyle<sup>3</sup>, les diépoxydes et les peroxydes<sup>4</sup>, peut-être les métaux lourds<sup>1</sup>, sont mutagènes et inhibent la croissance<sup>5</sup>. Il ne semble pas y avoir de relation nécessaire entre l'effet mutagène et l'action thiolo-prive; en effet, la chloropirine qui réagit très activement avec les fonctions thiols<sup>6</sup> n'est pas mutagène chez la *Drosophile*<sup>7</sup> bien qu'elle soit un excellent inhibiteur de la croissance du pois<sup>8</sup> et des embryons de batraciens<sup>9</sup>. Peut-être faut-il dissocier action mutagène et inhibition de croissance. En effet, tous les corps thiolo-prives, tous les bloqueurs de fonctions -SH paraissent inhiber la croissance du pois<sup>10</sup> ou des cultures de fibroblastes<sup>11</sup>.

L'hypothèse d'une action «thiolo-prive» (d'un blocage des groupes -SH) retient l'attention de CLARK, WYSS et STONE<sup>12</sup> qui y cherchent l'interprétation de l'action mutagène sur *Micrococcus pyogenes* de la 2-méthyl-1,4-naphtoquinone (homologue de la vit. K) à la concentration de  $1 \cdot 10^{-6}$ ; les quinones oxydent facilement les groupes sulfhydryles que la présence de cystéine protège efficacement. Selon ces auteurs, l'absence d'effet mutagène (sur leur test) des sels de Hg, Cu et Ag pourrait s'expliquer par une non-pénétration jusqu'au matériel génétique. Les recherches de DUSTIN jr. et de PARMENTIER<sup>13</sup> montrent que les actions de nombreuses substances antiméiotiques s'expliquent par leur affinité pour les fonctions -SH, mais que cette interprétation est loin de rendre compte de tous les faits.

Il est évidemment trop tôt pour se faire une idée générale précise des substances chimiques mutagènes et surtout de leur mode d'action; mais le fait paraît indéniable que des substances variées soient susceptibles de produire des effets biologiques qui étaient considérés, il y a quelques années, comme spécifiques des rayons X. On pourrait peut-être renverser le problème et se demander si l'action radiomimétique des

ypérites n'est pas liée au fait que ces corps, dès qu'on les met en solution dans l'eau, libèrent des radicaux libres tout comme l'irradiation aux X (voir plus loin). Il semble qu'on s'oriente dans cette direction<sup>1</sup>.

IV.— *Le rayonnement ultra-violet agit indirectement par formation de peroxydes*. En 1941, on défendait l'idée que les radiations ultra-violettes agissent directement sur les chromosomes, voire les gènes, parce que le maximum d'efficacité mutagène se trouve aux environs de 260 m $\mu$ , région dans laquelle l'acide nucléique absorbe fortement<sup>2</sup>. Cependant, déjà en 1936, ARNOW<sup>3</sup> attirait l'attention sur le fait que l'eau oxygénée reproduit l'effet des radiations sur les protéines et les acides aminés. Les expériences récentes appuient de façon formelle la conception d'une action indirecte. En effet, le bouillon irradié aux U.V. avant l'inoculation de *Staphylococcus aureus* provoque l'apparition d'un fort pourcentage de mutants résistants à la pénicilline ou à la streptomycine, ou encore inaptes à fermenter le mannitol<sup>4</sup>. Le peroxyde d'hydrogène joue un rôle certain. La catalase fait disparaître les actions du bouillon irradié sur *S. aureus*. En ajoutant à un bouillon normal la quantité d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosée dans le bouillon irradié, on reproduit les effets du milieu irradié sur la croissance et la fréquence des mutations de *S. aureus*<sup>5</sup>. Catalase et peroxydase réactivent jusqu'à 20% des *E. coli* stérilisés par les rayons U.V.<sup>6</sup>.

On peut faire à ces recherches le reproche d'être faites sur des populations plutôt que sur des individus<sup>7</sup>. STONE et ses collaborateurs<sup>8</sup> ont montré qu'il s'agit bien de mutation et non de sélection; mais l'objection est définitivement écartée par des études récentes<sup>9</sup> sur une souche non spontanément mutante de *Neurospora crassa* dont on traite les conidies qui sont ensuite mises à copuler sur agar; les ascospores sont isolés et traités *individuellement* en vue de déceler une modification morphologique ou une lésion biochimique. L'irradiation directe aux U.V. donne un pourcentage élevé de mutants (0,65%); l'exposition pendant 12 heures au milieu nutritif irradié aux U.V. pendant 30 à 120 minutes donne 0,21% de mutants; l'eau oxygénée  $1 \cdot 10^{-6}$ , 0,24%<sup>10</sup>.

<sup>1</sup> M. DEMEREC et coll., Ann. Rep. Depart. Genetics Carnegie Inst. Washington no. 48, p. 157 (1949).

<sup>2</sup> R. P. WAGNER, C. H. HADDOX, R. FUERST et W. S. STONE, Genetics 35, 237 (1950). — O. WYSS, J. B. CLARK, F. HAAS et W. S. STONE, J. Bact. 56, 51 (1948).

<sup>3</sup> C. AUERBACH et J. M. ROBSON, Nature 154, 81 (1944).

<sup>4</sup> O. WYSS, J. B. CLARK, F. HAAS et W. S. STONE, J. Bact. 56, 51 (1948). — F. H. DICKEY, G. H. CLELAND et C. LOTZ, Proc. Nat. Acad. Sci. 35, 581 (1949). — W. C. J. ROSS, Nature 165, 808 (1950).

<sup>5</sup> R. PARMENTIER et P. DUSTIN, Nature 161, 527 (1948). — P. DUSTIN et C. GOMPEL, C. r. Soc. Biol. 143, 874 (1949).

<sup>6</sup> Z. M. BACQ, Exper. 2, 1 (1946). — V. DESREUX et P. FISCHER, Actualités Biochimiques, Desoer, Liège, 10, 127 (1947).

<sup>7</sup> C. AUERBACH, Exper. 6, 17 (1950).

<sup>8</sup> C. HEUSGHEM, J. FIRKET et Z. M. BACQ, Bull. Soc. Chim. Biol. 29, 453 (1947).

<sup>9</sup> J. BRACHET, Embryologie chimique (Desoer, Liège, 1943).

<sup>10</sup> J. FIRKET et Z. M. BACQ, observations inédites.

<sup>11</sup> E. FRIEDMANN, D. H. MARRIAN et I. SIMON-REUSS, Brit. J. Pharmacol. 3, 335 (1948) et 4, 105 (1949).

<sup>12</sup> J. B. CLARK, O. WYSS et W. S. STONE, Nature 166, 340 (1950).

<sup>13</sup> P. DUSTIN, Acta Unio Internat. contra cancerum 6, 466 (1949).

<sup>1</sup> W. C. J. ROSS, Nature 165, 808 (1950).

<sup>2</sup> A. HOLLAENDER et C. W. EMMONS, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 9, 179 (1941).

<sup>3</sup> L. E. ARNOW, Physiol. Rev. 16, 671 (1936).

<sup>4</sup> W. S. STONE, O. WYSS et F. HAAS, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 33, 59 (1947). — W. S. STONE, F. HAAS, J. B. CLARK et O. WYSS, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 34, 142 (1948).

<sup>5</sup> O. WYSS, J. B. CLARK, F. HAAS et W. S. STONE, J. Bacter. 56, 51 (1948).

<sup>6</sup> J. MONOD, A. M. TORRIANI et M. JOLIT, C. r. Acad. Sci. 229, 557 (1949).

<sup>7</sup> E. CASPARI, Production of mutations by ionizing radiations. Brookhaven Conference. Report BNL-C-4. Biological application of nuclear physics, July 12-17, 1948.

<sup>8</sup> W. S. STONE, F. HAAS, J. B. CLARK et O. WYSS, Proc. Nat. Acad. Sci. 34, 142 (1948).

<sup>9</sup> R. P. WAGNER, C. H. HADDOX, R. FUERST et W. S. STONE, Genetics 35, 237 (1950).

<sup>10</sup> R. P. WAGNER, C. H. HADDOX, R. FUERST et W. S. STONE, Genetics 35, 237 (1950).

Les cyanures (et aussi les nitrures) sont des inhibiteurs des catalases qui décomposent  $H_2O_2$ ; ils devraient, théoriquement, assurer une accumulation, dans les cellules, du peroxyde d'hydrogène formé au cours de nombreuses réactions métaboliques, et par conséquent être mutagènes. L'expérience confirme cette prévision; KCN 0,05% donne chez *Neurospora* 0,27% de mutants; mais si l'on ajoute le cyanure au milieu irradié, on n'observe pas l'addition d'effet à laquelle on s'attend. Le mode d'action du cyanure n'est donc pas élucidé<sup>1</sup>.

L'eau oxygénée formée pendant l'irradiation agit-elle directement sur les récepteurs cellulaires? Est-elle l'agent mutagène vrai? Il semble que non. En effet, si l'on traite un bouillon par  $H_2O_2$ , qu'on attende que la présence de ce peroxyde ne soit plus décelable, on obtient après ensemencement avec *E. coli* le même résultat que si l'organisme est mis en présence du peroxyde. Si l'on traite par  $H_2O_2$  des *S. aureus* lavés, mis en suspension en solutions salines, on ne retrouve pas dans les survivants plus de mutants que chez les témoins<sup>2</sup>. Il semble que le peroxyde d'hydrogène provoque la formation dans le bouillon de peroxydes organiques. Les peroxydes organiques sont chez *Neurospora* des agents mutagènes<sup>3</sup>. Ces peroxydes organiques peuvent d'ailleurs être obtenus directement par irradiation, sans passer par le peroxyde d'hydrogène. Les lipides par exemple s'oxydent très rapidement sous l'influence de la lumière visible et du rayonnement ultra-violet; au contraire, et c'est là une différence considérable, une irradiation, même violente, aux X ne modifie pas les molécules lipidiques. On observe des modifications des tissus graisseux après irradiation aux X, mais ces actions sont relativement lentes et dues à des troubles métaboliques généraux<sup>4</sup>. Les peroxydes organiques ont aussi une action inhibitrice sur l'éclosion du cancer au benzopyrène de la souris<sup>5</sup>.

Cette théorie de l'action du rayonnement ultra-violet par l'intermédiaire de peroxydes nous ramène aux recherches publiées en 1904 par STRAUB<sup>6</sup> et qu'on semble oublier (voir toutefois<sup>7</sup>). STRAUB avait établi que les effets photodynamiques étaient dus à l'oxydation de certains constituants cellulaires, notamment par l'intermédiaire d'un peroxyde d'éosine formé pendant l'irradiation. On a parlé couramment, en 1920, de photooxydation des protéines, des acides aminés, du

plasma<sup>1</sup>. En somme, rien de bien révolutionnaire dans toute cette littérature moderne sur les U.V., sauf peut-être l'action mutagène des peroxydes (qui n'est d'ailleurs pas admise par certains auteurs<sup>2</sup>).

V. — *Action à distance et actions indirectes du rayonnement X*. Il y a des effets à distance du rayonnement X chez les mammifères. Par exemple, chez le rat cancéreux, les tumeurs non irradiées sont affectées (arrêt de la formation d'acide nucléique) par l'irradiation d'autres tumeurs<sup>3</sup>. Un groupe de biologistes liégeois a montré aussi que l'irradiation des seules pattes postérieures du lapin provoque des modifications dans le cerveau, la moelle des os non irradiés, les surrénales; mais on peut interpréter ces faits comme le résultat de la réaction neuro-endocrinienne du «stress» (voir <sup>4</sup>) et non comme une preuve formelle du transport par les humeurs de substances antimitotiques formées au lieu de l'irradiation<sup>5,6</sup>.

De toute évidence, il est nécessaire de s'adresser à des systèmes biologiques plus simples, et on songe tout d'abord aux enzymes. Mais, avant d'aborder cette question, il est bon de résumer brièvement nos connaissances sur les effets purement chimiques des rayons X ainsi que les conceptions modernes sur l'activation de l'eau par ce rayonnement.

VI. — *Effets physico-chimiques des rayons X<sup>7</sup> sur l'eau et les substances en solution aqueuse*. RISSE<sup>8</sup> a le premier formulé avec netteté une théorie de l'activation de l'eau par les radiations ionisantes, théorie qui s'est singulièrement précisée récemment à cause du grand intérêt que les biologistes lui accordent. RISSE confirme des travaux antérieurs, remontant à 1909 et montre que si les radiations ionisantes provoquent la formation dans l'eau de quantités dosables d' $H_2O_2$  à la

<sup>1</sup> D.T.HARRIS, Biochem. J. 20, 280 et 288 (1926).

<sup>2</sup> R.LATARJET, N.P.BUU-HOI et C.A.ELIAS, Publ. Staz. zool. Napoli 22, suppl., p. 78 (1950).

<sup>3</sup> G.HEVESY, Rev. Modern. Physics 17, 102 (1945).

<sup>4</sup> H.SELYE, STRESS, Acta Inc., Montreal, 1950.

<sup>5</sup> M.A.GEREBTZOFF et A.HERVE, C. r. Soc. Biol. 143, 880 (1949). — E.NIZET, C.HEUSCHEM et A.HERVE, C. r. Soc. Biol. 143, 876 (1949). — J.LECOMTE et P.FISCHER, C. r. Soc. Biol. 143, 878 (1949). — H.BETZ et J.LECOMTE, C. r. Soc. Biol. 144, 303 (1950).

<sup>6</sup> Cette critique ne peut s'appliquer aux faits décrits par B.JOLLES (Nature 164, 63 [1949]): si chez l'homme on irradie aux X deux surfaces cutanées de 2,5 x 2,5 cm, distantes de moins de 3 cm, les réactions de la peau sont plus fortes que si on irradie deux surfaces identiques non voisines. L'idée d'une substance diffusible élaborée dans la peau irradiée rend compte de ce fait.

<sup>7</sup> On peut admettre que, malgré certaines différences susceptibles de s'accroître dans un avenir proche, le mode d'action des rayons  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et des neutrons est fondamentalement le même que celui des X. Voir R.L.DOBSON et J.H.LAWRENCE, Ann. Rev. Physiol., 1948, un travail récent de W.M.DALE, L.H.GRAY et W.J.MEREDITH, Trans. Roy. Soc. London, A, 242, 33 (1949), où l'action des rayons  $\alpha$  sur un enzyme est comparée à celle des X; et l'inhibition des enzymes à fonctions -SH par les rayons  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ , par E.S.G.BARRON et S.DICKMAN, J. Gen. Physiol. 32, 595 (1949).

<sup>8</sup> O.RISSE, Die physikalischen Grundlagen der chemischen Wirkungen des Lichts und der Röntgenstrahlen, Ergebn. Physiol. 30, 242 (1930).

<sup>1</sup> R.P.WAGNER, C.H.HADDOX, R.FUERST et W.S.STONE, Genetics 35, 237 (1950).

<sup>2</sup> O.WYSS, J.B.CLARK, F.HAAS et W.S.STONE, J. Bact. 56, 51 (1948).

<sup>3</sup> F.H.DICKEY, G.H.CLELAND et C.LOTZ, Proc. Nat. Acad. Sci. 35, 581 (1949).

<sup>4</sup> A.CHEVALLIER et E.BURG, communication personnelle.

<sup>5</sup> J.MAISIN et F.ROBERT, C. r. Soc. Biol. 123, 26 et 156 (1936). — J.MAISIN, Y.POURBAIX et P.CAEMYAEX, C. r. Soc. Biol. 127, 14 et 1479 (1948).

<sup>6</sup> W.STRAUB, Arch. exper. Path. und Pharm. 61, 383 (1904).

<sup>7</sup> H.BLUM, Physiol. Rev. 12, 23 (1932).

condition que l'eau renferme de l'oxygène dissous, les mêmes radiations détruisent le peroxyde d'hydrogène en solution. Il s'établit un équilibre dans l'eau irradiée en présence d'oxygène moléculaire, et la teneur en peroxyde n'atteint pas les concentrations qu'on observe avec les U.V. L'action chimique des radiations ionisantes est double, oxydante ou réductrice: réduction des halogénures d'argent (plaques photographiques) oxydation de  $H_2S$  (précipitation de soufre colloïdal), oxydation de sels ferreux en sels ferriques, de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine, d'aldéhyde en acide, etc.

En 1942, LOISELEUR et LATARJET<sup>1</sup> observent aussi la formation de peroxyde d'hydrogène et d'hydroperoxydes organiques par irradiation aux X de l'eau et de certains corps organiques dissous. LOISELEUR<sup>2</sup> montre que si les X activent à la fois l'oxygène et l'hydrogène, seul l'oxygène est présent au début, et que, avec les doses d'X qu'utilisent les biologistes, seule l'activation de l'oxygène est à considérer. Au récent colloquium organisé à Paris lors de la commémoration du cinquantenaire de la découverte du radium, il apparut clairement 1° que les effets purement réducteurs des rayons X sont très rares, 2° que l'établissement d'un équilibre fixe d'oxydoréduction est plus fréquent, 3° que les effets d'oxydation sont de loin prépondérants<sup>3</sup>. Il est assez amusant de voir que l'oxydation du benzène en phénol, ou de l'acide benzoïque en acide salicylique, permet de doser un rayonnement X de façon précise<sup>4</sup>. Il ne peut s'agir de toute évidence d'une action *directe* du rayon sur la molécule en solution. Les auteurs s'accordent pour chercher une interprétation de leurs résultats dans le cadre de la chimie des radicaux libres<sup>5</sup>, et les physico-chimistes stimulés par les biologistes et les radiochimistes étudient en détail ce qui se passe dans l'eau et les solutions aqueuses soumises au rayonnement X.

L'accord n'est pas encore réalisé parmi les spécialistes de cette question, mais il semble acquis que ce qui se passe dans les systèmes gazeux s'applique également aux solutions aqueuses. Le phénomène photochimique primordial consiste en l'enlèvement d'un électron et à son transfert sur une autre molécule ou un autre ion. Si un électron est arraché à une molécule d'eau ( $H_2O - e = H_2O^+$ ), la molécule peut se briser en un ion hydrogène et un radical libre oxyhydrile ( $H_2O^+ \rightarrow H^+ + OH$ ). L'électron éjecté peut s'attacher à un ion H ou à une molécule d'eau ( $H^+ + e = H$  ou bien  $H_2O + e = H + OH^-$ ). On peut aussi admettre avec

WEISS que le rayon X arrache un électron à l'ion OH qui se transporte aussitôt sur l'hydrogène:  $OH^- - e = OH$ ;  $H^+ + e = H$ . La production d'hydrogène libre, atomique, et de radicaux libres OH explique fort bien les réactions chimiques qui se produisent en solutions aqueuses sous l'influence des rayons X.

Ce point de départ étant admis, de multiples possibilités de réactions se présentent entre ces radicaux libres, les molécules d'eau, l'oxygène ou les autres substances dissoutes dans l'eau. L'exposé et la discussion de ces réactions sort du cadre de cet article; le lecteur trouvera de quoi satisfaire sa curiosité sur ce point particulier en consultant le livre de LEA<sup>1</sup>, la revue de ALLSOPP<sup>2</sup>, les notes de WEISS<sup>3</sup>, les travaux de DALE et collaborateurs, de BARRON et collaborateurs, et les comptes rendus des récents colloquia de Paris et de Londres.

Il faut insister sur le fait que cette interprétation n'exclut pas la possibilité d'une attaque *directe* de la substance dissoute elle-même; l'action directe coexiste presque certainement avec l'indirecte. Dans de nombreux cas (voir LEA et DALE), on a pu évaluer ce qui, dans des conditions physico-chimiques bien définies, revient à l'effet direct et ce qui est dû à l'action indirecte.

Le premier corollaire de cette conception d'une action *indirecte* des X est d'attirer l'attention sur le solvant. La tendance classique en radiobiologie a toujours été de considérer uniquement les propriétés du rayonnement et celles du tissu sensible, et de ne point préciser certaines conditions importantes du milieu ambiant, ou de négliger celles-ci dans l'interprétation des résultats. Les cultures de tissus résistent fort bien aux rayons X. Cette insensibilité n'est-elle pas liée à une propriété du milieu de culture plutôt qu'à l'absence d'un récepteur particulièrement important dans l'intérieur des cellules? L'absence d'eau - c'est-à-dire du premier substrat sur lequel les X agissent - n'est-elle pas la cause profonde de la radioinsensibilité des graines sèches, insensibilité qui disparaît quand la graine est imbibée d'eau?

VII. - *Action du rayonnement x sur les enzymes.* Pendant fort longtemps, on a cru que les enzymes *in vitro* étaient très peu sensibles aux rayons X. On sait actuellement qu'il n'en est rien. FORRSBERG<sup>4</sup> observe une très nette inactivation de la catalase avec 5 r; en 1940, DALE<sup>5</sup> avait déjà montré que 45 r inactivent une partie appréciable des molécules de carboxypeptidase cristallisée.

<sup>1</sup> J. LOISELEUR et E. LATARJET, Bull. Soc. chim. Biol. 24, 172 (1942).

<sup>2</sup> J. LOISELEUR, Bull. Soc. chim. Biol. 25, 22 (1943).

<sup>3</sup> Voir surtout la communication de M. HAISSINSKY et M. LEFORT et P. BONNET-MAURY et M. LEFORT, C. r. Acad. Sci. Paris 226, 1363 et 1445 (1948).

<sup>4</sup> M. J. DAY et G. STEIN, Nature 164, 671 (1949).

<sup>5</sup> Voir à ce sujet W. A. WATERS, The Chemistry of free Radicals, (Clarendon Press, Oxford, 1948), 295 p.

<sup>1</sup> D. E. LEA, Actions of radiations on living cells (MacMillan Co., New-York, 1947).

<sup>2</sup> C. B. ALLSOPP, Trans. Faraday Soc. 40, 79 (1944).

<sup>3</sup> J. WEISS, Nature 153, 748 (1944). - G. STEIN et J. WEISS, Nature 161, 650 (1948).

<sup>4</sup> A. FORRSBERG, Nature 159, 308 (1947).

<sup>5</sup> W. M. DALE, Biochem. J. 34, 1367 (1940) et 36, 80 (1942).

Selon EVANS<sup>1</sup>, l'irradiation de l'eau aux rayons X provoque la formation d'une quantité d' $H_2O_2$  suffisante pour modifier les propriétés du sperme d'*Arbacia* (diminution du temps de survie, délai considérable pour la 1<sup>re</sup> division de l'œuf fécondé par ces spermatozoïdes). L' $H_2O_2$  reproduirait ces effets. Un traitement de l'eau irradiée par la catalase leur enlève toute activité. Cependant une solution de Ringer fortement irradiée n'acquiert pas la propriété de provoquer la contracture après travail du muscle de grenouille<sup>2</sup>; de même si l'on irradie (35 000 r) l'HCl dilué dans lequel on dissout ensuite une trypsine cristallisée, on n'observe aucune inactivation<sup>3</sup>. L'eau oxygénée 0,1 M n'inactive pas la carboxydipeptidase si sensible aux rayons X<sup>4</sup>. On peut donc conclure que ni  $H_2O_2$  ni d'autres substances relativement stables formées pendant l'irradiation ne sont responsables des effets observés.

La théorie qui veut que les radicaux libres soient les agents de l'action indirecte des rayons X comporte un certain nombre de corollaires vérifiés expérimentalement par DALE et ses collaborateurs dans leurs recherches sur la carboxydipeptidase<sup>5</sup> et par KAUFMANN et ses collaborateurs dans leurs études sur la trypsine<sup>3</sup>.

1° Les radicaux libres peuvent soit réagir avec un substrat présent dans la solution (ce sont les radicaux efficaces), soit se recombinaison entre eux et, par conséquent, s'inactiver sans avoir produit le moindre effet. Si la concentration du substrat sensible est faible, les chances de recombinaison des radicaux libres augmenteront et le rendement ionique baissera. Le rendement ionique (= le nombre de molécules détruites par paire d'ions) est, toutes autres conditions restant constantes, de 0,0074 pour une concentration  $9 \cdot 10^{-8}$  M (= 3,29  $\mu g$  par  $cm^3$ ) de trypsine cristallisée, alors qu'il monte à 0,0376 si la concentration en enzyme est de  $9,4 \cdot 10^{-6}$  M (344  $\mu g$  par  $cm^3$ )<sup>3</sup>. Les récents travaux de DALE, GRAY et MEREDITH<sup>4</sup> montrent que, en dessous de 200  $\mu g$  par  $cm^3$  de carboxypeptidase, le rendement ionique décroît, alors que, à forte concentration, ce rendement est assez constant (0,18 molécule d'enzyme inactivé par paire d'ions) (fig. 2). Des résultats semblables ont été publiés alors que le substrat était non pas un enzyme, mais l'acide oxalique, l'alcool méthylique, le glutathion, des virus ou l'alloxazine-adénine-dinucléotide.

2° Si, dans la solution aqueuse d'un enzyme sensible aux rayons X, on introduit un corps susceptible de réagir avec les radicaux libres, on doit observer une diminution de l'action des X. C'est l'effet de «protection», que DALE a mise en évidence dans nombre de cas: protection de la carboxydipeptidase par l'alloxane et surtout le formiate et la thiourée<sup>1</sup>, protection de l'acétylcholine par le glucose<sup>2</sup>. FORRSBERG<sup>3</sup> a retrouvé cet effet de protection en se servant de la catalase.

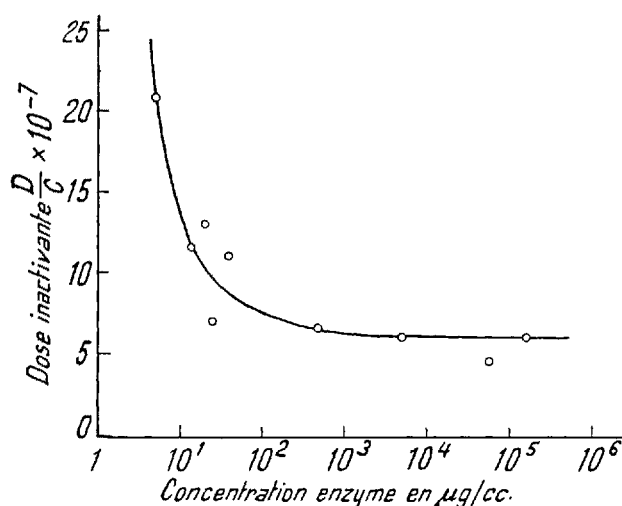


Fig. 2. — W.M.DALE, J.V.DAVIES et W.J.MEREDITH, Brit. J. Cancer 3, 31 (1949). En abscisse, concentration de carboxypeptidase en g/ml. — En ordonnée, dose inactivante spécifique:  $D/C \cdot 10^7$  où  $D$  représente la dose d'X nécessaire (exprimée en r) pour inactiver 63% de l'enzyme, et  $C$  la concentration initiale en enzyme.

Reste à savoir 1° quel est (ou quels sont) les radicaux libérés par les rayons X qui agissent sur la carboxypeptidase ou la trypsine et 2° quelles sont, dans la molécule de l'enzyme, les fonctions attaquées. Ces importantes questions sont à l'arrière-plan des travaux de DALE et de KAUFMANN, et nous n'avons d'eux que le résultat suivant: les rayons X désaminent les acides aminés et les polypeptides et l'ammoniaque formé peut avoir une signification biologique<sup>4</sup>.

Les recherches de BARRON et collaborateurs<sup>5</sup> précisent quels sont les groupes actifs de certains enzymes qui réagissent avec les radicaux libres oxydants. L'activité de solutions diluées de trois enzymes à groupes -SH est inhibée par une irradiation modérée aux X (1 à 500 r); lorsque l'inhibition est partielle, l'enzyme peut être réactivé par addition de glutathion réduit; lorsque l'inhibition est plus poussée, la réactivation n'est que partielle. Ces observations (et d'autres

<sup>1</sup> T.C.EVANS, Biol. Bull. 92, 99 (1947).

<sup>2</sup> Z.M.BACQ, J.LECOMTE et A.HERVE, Arch. Internat. Physiol. 57, 142 (1949); confirmé par S.ROSSI.

<sup>3</sup> B.P.KAUFMANN et coll., Ann. Rep. Depart. Genetics Carnegie Inst. Washington, no 48, 176 (1949).

<sup>4</sup> W.M.DALE, L.H.GRAY et W.J.MEREDITH, Trans. Roy. Soc. London [A], 242, 33 (1949).

<sup>5</sup> W.M.DALE, Biochem. J. 34, 1367 (1940); Biochem. J. 36, 80 (1942); Brit. J. Radiol. 16, 171 (1943). — W.M.DALE, W.J.MEREDITH et M.C.K.TWEEDIE, Nature 151, 280 (1943). — W.M.DALE, L.H.GRAY et W.J.MEREDITH, Trans. Roy. Soc. London [A], 242, 33 (1949).

<sup>1</sup> W.M.DALE, J.V.DAVIES et W.J.MEREDITH, Biochem. J. 40, 33 (1946); Brit. J. Cancer 3, 31 (1949).

<sup>2</sup> W.M.DALE, J. Physiol. 102, 50 (1943).

<sup>3</sup> A.FORRSBERG, Nature 159, 308 (1947).

<sup>4</sup> W.M.DALE, J.V.DAVIES et C.W.GILBERT, Biochem. J. 45, 93 (1949).

<sup>5</sup> E.S.G.BARRON, S.DICKMAN, J.A.MUNTZ et T.P.SINGER, J. Gen. Physiol. 32, 537 (1949).

encore dont le détail est intéressant à suivre) sont interprétées comme le résultat de l'oxydation des groupes -SH de la molécule enzymatique par les radicaux OH, O<sub>2</sub>H, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et l'oxygène atomique produits par l'irradiation de l'eau. L'inhibition irréversible des enzymes à -SH (et d'autres enzymes) observée après une forte irradiation (1000 à 5000 r) est attribuée, sans autre précision, à une dénaturation de la protéine. Ces conclusions de BARRON et collaborateurs rentrent parfaitement dans le cadre de la conception des corps «thioloprives» que nous avons développée en 1946<sup>1</sup>. Les oxydants sont des substances thioloprives et reproduisent parfaitement l'action des rayons X ou du P 32 sur un muscle isolé de grenouille<sup>2</sup>: contracture et inexcitabilité *après travail*, phénomène caractéristique du blocage (en un point quelconque du cycle) du catabolisme glucidique<sup>3</sup>.

La grosse difficulté qui se présente à l'heure actuelle est de savoir jusqu'à quel point on est en droit d'extrapoler à la cellule vivante les notions acquises en radiochimie et lors de l'étude des enzymes purs isolés en solution aqueuse. L'énorme travail histologique effectué par BLOOM et collaborateurs<sup>4</sup> se termine par cet aveu révélateur: «We have not seen anything in our material which helps solve the problem of the mechanisms of actions of radiation on protoplasm<sup>5</sup>». Il y a un large fossé, que seule l'histochimie pourrait combler, entre les enzymes en place dans les cellules et les mêmes enzymes purifiés à l'extrême, dans l'eau distillée. Dans les cellules, les enzymes sont probablement localisés, concentrés sur certaines structures; ils sont en présence d'un milieu intracellulaire complexe, en perpétuel échange avec les milieux extracellulaires; il existe souvent dans les cellules des systèmes freinateurs, des protections multiples, hiérarchisées, qui font que certains corps très instables en solution aqueuse neutre sont stables à l'intérieur de certaines cellules, par exemple l'adrénaline stabilisée dans les surrénales des mammifères et les glandes parotides des crapauds, par l'acide ascor-

bique et les porteurs de fonctions thiols. L'effet de protection étudié par DALE *in vitro* doit jouer *in vivo* de façon tout aussi nette.

En l'absence de données histochimiques précises, les expériences de physiologie ou de pharmacologie acquièrent un intérêt considérable, car elles utilisent le tissu ou l'animal tout entier vivant, et elles permettent de dire jusqu'à quel point les observations sur enzymes isolés peuvent s'appliquer aux organismes.

VIII. — *Protection des organismes contre le rayonnement X*. On retrouve dans la littérature biologique certains faits qui concordent avec les observations des physico-chimistes. Par exemple, LACASSAGNE<sup>1</sup> signale une chute de sensibilité aux rayons X chez la souris nouveau-née en état d'asphyxie; en général, la privation d'O<sub>2</sub> diminue la sensibilité aux rayons X des organismes, des tissus, des tumeurs. Les altérations chromosomiques chez *Vicia faba* sont moins nombreuses si l'on irradie cette graine aux rayons X en absence d'O<sub>2</sub><sup>2</sup>. On protège un bactériophage contre les X avec l'acide thioglycolique et divers acides aminés<sup>3</sup> comme on protège des virus d'animaux ou de végétaux. L'hyperglycémie diminue la radiosensibilité cutanée du lapin<sup>4</sup>.

Si on laisse de côté, à cause de leur intérêt théorique fondamental moindre, les diminutions de mortalité aux rayons X obtenus par la désoxycorticostérone<sup>5</sup>, l'acide ascorbique (non confirmé, voir<sup>6</sup>) l'atropine<sup>7</sup>, les flavonoïdes (substances à action vitaminique P<sup>8</sup>), les antibiotiques<sup>9</sup>, il reste trois importantes séries de recherches possédant une base biochimique intéressante.

a) MOLE<sup>10</sup> a retrouvé *in vivo* chez le mammifère la protection contre les X assurée par la thiourée aux enzymes, mais l'analyse de ce fait n'est pas encore terminée.

b) PATT et collaborateurs<sup>11</sup> obtiennent des différences de survie impressionnantes (de l'ordre de 70%) en injectant, 15 à 60 minutes avant une irradiation totale du rat (800 r) ou de la souris (600 r), des doses importantes de cystéine ou de glutathion réduit. La cystine, la méthionine, l'acide ascorbique, le sulfure

<sup>1</sup> Z. M. BACQ, Exper. 2, 349 et 385 (1946).

<sup>2</sup> Z. M. BACQ, J. LECOMTE et A. HERVE, Arch. Internat. Physiol. 57, 142 (1949).

<sup>3</sup> J. LECOMTE, M. GOFFART et Z. M. BACQ, Arch. Internat. Physiol. 56, 63 (1948). — Pour voir apparaître la lésion biochimique, il faut exciter le muscle, augmenter sa dépense énergétique. De même l'œuf d'oiseau irradié, et non incubé, ne montre pas d'altérations; ce n'est qu'au cours du développement, lorsqu'il y a consommation d'énergie, que celles-ci apparaissent. — S. ROSSI, de l'Université de Tucuman (communication personnelle) a obtenu des résultats identiques aux nôtres et a observé après une faible dose de rayons X (50 à 75 r) une augmentation des réponses du muscle isolé de grenouille, à l'acétylcholine et au potassium.

<sup>4</sup> W. BLOOM, *Histopathology of irradiation from external and internal sources* (MacGraw-Hill, New-York, 808 p. 1948).

<sup>5</sup> Signalons toutefois que les fonctions -SH disparaissent de la peau du cobaye après irradiation aux X (J. FREDERIC, Arch. Biol. 60, 79 1949). On a aussi observé chez l'homme et le lapin que les rayons X diminuent la teneur en acide ascorbique du sang (C. H. KRETZSCHMAN et F. ELLIS, Brit. J. Radiol. 20, 94 1947), mais ce fait mériterait d'être confirmé.

<sup>1</sup> A. LACASSAGNE, C. r. Acad. Sci. Paris 215, 231 (1942).

<sup>2</sup> J. M. THODAY et J. READ, Nature 160, 608 (1947).

<sup>3</sup> R. LATARJET et E. EPHIRATI, C. r. Soc. Biol. 142, 447 (1948).

<sup>4</sup> J. LOISELEUR et F. BACLESSE, C. r. Soc. Biol. 141, 1160 (1947).

<sup>5</sup> F. ELLINGER, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 64, 31 (1947).

<sup>6</sup> H. M. PATT, D. E. SMITH, E. B. TYREE et R. L. STRAUBE, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 73, 18 (1950).

<sup>7</sup> J. L. LARKIN, Amer. J. Roentgenol. 62, 547 (1949).

<sup>8</sup> W. G. CLARCK, R. P. UNCAPHER et M. L. JORDAN, Science 108, 629 (1948). — J. B. FIELD et P. E. REKERS, Amer. J. Med. Sci. 218, 1 (1949).

<sup>9</sup> C. P. MILLER, C. W. HAMMOND et M. THOMKINS, Science 111, 719 (1950).

<sup>10</sup> R. H. MOLE, Colloquium centenaire de la découverte du radium, Paris, 19 juillet 1950.

<sup>11</sup> H. M. PATT, E. B. TYREE, R. L. STRAUBE et D. E. SMITH, Science 110, 213 (1949). — H. M. PATT, D. E. SMITH, E. B. TYREE et R. L. STRAUBE, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 73, 18 (1950).

de sodium sont sans action. En ingestion avant l'irradiation, le glutathion est inactif, la cystéine moins active. Injectés 5 minutes après l'irradiation, la cystéine et le glutathion sont totalement inefficaces. Ainsi donc, la réversibilité de l'inactivation des enzymes à groupes thiols observée par BARRON et collaborateurs *in vitro* ne se retrouve pas *in vivo*, et il faudrait admettre que cette protection par les porteurs physiologiques d'-SH s'exerce non pas sur les enzymes à -SH, mais sur d'autres systèmes enzymatiques qui ne seraient pas dénaturés. FISCHER et collaborateurs<sup>1</sup> ont d'ailleurs montré que la teneur en glutathion réduit du sang, du foie, du cœur, des reins et des muscles n'est pas modifiée de façon significative chez le cobaye et la souris immédiatement après une irradiation mortelle aux X.

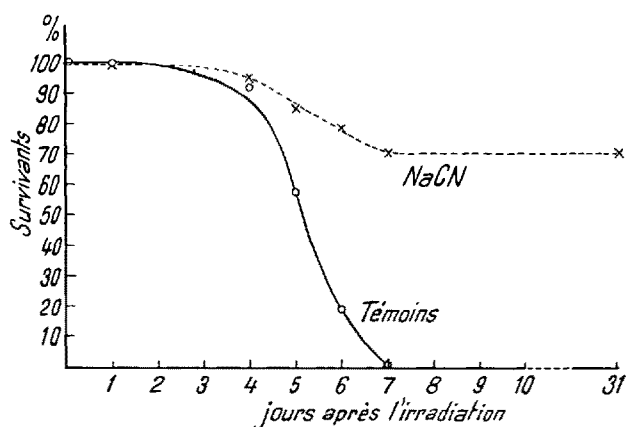


Fig. 3. — (Z.M. BACQ et A. HERVE.) En abscisse, jours après irradiation (700 r). En ordonnée, % de souris survivantes. Protection par injection intrapéritonéale de 0,1 mg NaCN avant l'irradiation.

c) HERVE et nous-même<sup>2</sup> (voir aussi <sup>3</sup>) avons opéré chez la souris dans des conditions plus strictes, en ce sens que tous nos témoins meurent quatre à dix jours après l'irradiation alors que dans les recherches de PATT et collaborateurs il y a toujours 10 à 20% de survie chez les témoins. Les résultats de nos premières recherches ont été déposés avant la sortie des publications de PATT et collaborateurs; il s'agit donc de travaux totalement indépendants. Deux inhibiteurs des systèmes catalasiques, peroxydasiques, cytochrome-oxydase: les cyanures<sup>2</sup> et les nitrures<sup>4</sup> (de Na ou de K), injectés immédiatement avant une irradiation mortelle chez toutes les souris témoins (700 r environ) donnent des survies impressionnantes: 75% en moyenne avec 0,1 mg de NaCN (fig. 3), 40% avec 0,2 mg de NaN<sub>3</sub>. Nous confirmons l'action du glutathion réduit, dont l'effet s'ajoute à celui du cyanure:

90% de survie si l'on injecte 1 mg de glutathion et 0,1 mg de cyanure immédiatement avant l'irradiation de 700 r. Le fluorure de sodium, le sulfite de sodium, les arsén oxydes, le cyanate de Na sont inefficaces. Le B.A.L. (1 mg) prolonge l'existence des souris irradiées (poids 20 g), mais toutes meurent. L' $\alpha$ -tocophérol, l'antioxygène physiologique des lipides, ne diminue la mortalité chez les souris irradiées aux X que si l'on utilise une dose inférieure à 700 r, c'est-à-dire une dose qui ne donne pas 100% de mortalité. Le cyanure injecté 15 minutes après la fin de l'irradiation ne modifie en rien la courbe de mortalité; mais il prolonge de quelques jours la vie des animaux irradiés si on l'injecte *immédiatement après* l'irradiation qui dure 15 minutes. Le sulfocyanure de Na aggrave l'action des X (voir tableau).

Donc, c'est bien l'ion CN<sup>-</sup> qui est responsable de l'effet de protection. La lésion biochimique fondamentale se constitue pendant l'irradiation; jusqu'à présent, on n'a pas encore réussi à la faire régresser. Les acides nucléiques sont, dans l'état actuel de nos connaissances, les seuls constituants cellulaires dont la formation soit considérablement ralentie chez la souris après une irradiation totale (950 r)<sup>1</sup>.

Une interprétation biochimique précise de ces résultats n'est pas encore possible. Il se peut que la simple anoxie tissulaire soit le fait capital; il se peut que certains enzymes, la cytochrome-réductase par exemple<sup>2</sup>, ou la catalase<sup>3</sup>, inactivés *in vivo* par les rayons X, soient temporairement protégés contre les X par leur combinaison avec le cyanure, et rapidement réactivés par la transformation de CN<sup>-</sup> en SCN<sup>-</sup>. Qu'il s'agisse de glutathion ou de cyanure, la protection est limitée, en ce sens que si l'on augmente la dose d'X à 900 r, la survie avec le glutathion tombe à zéro, et à 25% avec le cyanure, et que contre 1 200 r le NaCN n'a plus aucun effet protecteur<sup>4</sup>.

Ainsi donc, grâce aux progrès de la physico-chimie des radiations (grâce au concept de l'action *indirecte* des X), on assiste à la naissance d'une sorte de radiopharmacologie qui n'attend que le soutien de la biochimie et de l'histochemie pour progresser à grands pas.

### Summary

Recent literature and the author's experiments favour strongly the general idea that the action of ultraviolet and X-rays on enzymes, cells, and organisms is not

<sup>1</sup> G. HEVESY, *Nature* 164, 269 (1949).

<sup>2</sup> L. MARTIN, *C. r. Soc. Biol.* 140, 201 et 1245 (1946).

<sup>3</sup> R. N. FEINSTEIN, C. L. BUTLER et D. D. HENDLEY, *Science* 111, 149 (1950).

<sup>4</sup> J. LECOMTE, A. HERVE et Z. M. BACQ, *C. r. Soc. Biol.* 144, 708 (1950) n'ont pas réussi à inhiber par le cyanure ou la cystéine la contraction de Lundsgaard provoquée par les rayons X sur le muscle de grenouille isolé.

Le cyanure de sodium (0,2 à 1%) en injection intradermique chez l'homme inhibe l'érythème consécutif à une irradiation aux ultra-violet: CH. FASSOTTE et S. LAPIÈRE, *C. r. Soc. Biol.* 144, 710 (1950).

<sup>1</sup> P. FISCHER, J. LECOMTE et L. DE LANDTSHEER, *C. r. Soc. Biol.*, sous presse.

<sup>2</sup> A. HERVE et Z. M. BACQ, *C. r. Soc. Biol.* 143, 881 et 1158 (1949).

<sup>3</sup> Z. M. BACQ, A. HERVE, J. LECOMTE et P. FISCHER, *Science* 111, 356 (1950).

<sup>4</sup> Z. M. BACQ, A. HERVE et J. LECOMTE, sous presse ou observations inédites, résumées dans le tableau I.

Tableau

Essais de diverses substances en vue de protéger la souris contre une irradiation mortelle aux rayons X (A. HERVE et Z. M. BACQ).

Préparation des animaux	Dose en r	Nombre de souris	Survie définitive en %	Observations
Contrôles . . . . .	700	270	0	Toutes les souris sont mortes le 10 <sup>e</sup> jour.
NaCN				
0,1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . .	700	230	75	Effet protecteur très marqué.
2 min. après rayons X . . . . .	700	40	0	Courbe décalée vers la droite.
30 min. après rayons X . . . . .	700	30	0	Aucun effet.
immédiatement avant rayons X . . . . .	900	40	25	
immédiatement avant rayons X . . . . .	1200	40	0	
NaSCN				
0,5 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . .	700	30	0	
1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . .	700	30	0	
NaOCN				
0,1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . .	700	30	0	
NaN <sup>3</sup>				
0,1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . .	700	60	40	Effet protecteur marqué.
0,3 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . .	700	60	40	
Glutathion				
1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . . .	700	30	20	Effet protecteur faible, mais net.
2 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . . .	700	20	50	
3 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . . .	900	20	0	
NaCN 0,1 mg intrapéritonéal + Glutathion				
1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . . . . .	700	40	90	Effet additif probable.
NaCN 0,1 mg intrapéritonéal + Glutathion				
3 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . . .	900	20	20	A dose plus considérable, l'effet additif ne semble plus se marquer.
Sulfite de Na				
5 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . . .	860	20	0	
Arsenoxyde				
0,5 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . .	800	20	0	
0,2 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . .	700	20	0	
Fluorure de Na				
0,2 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X . .	800	20	0	
B.A.L.				
1 mg intramusculaire 5 min. avant rayons X . . . . .	700	30	0	Courbe de survie décalée vers la droite.
Arsénoxyde				
0,1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X + B.A.L.				
1 mg intramusculaire après rayons X . . . . .	700	30	0	
$\alpha$ -Tocophérol				
10 mg intramusculaire quotidiennement				
5 jours avant rayons X et 5 jours après rayons X . . . .	700	30	0	Quelques lots injectés de $\alpha$ -tocophérol et irradiés à plus faible dose (non mortelle pour 100% des témoins) ont montré un léger effet protecteur.

entirely a *direct* one, that chemical substances (peroxides in the case of U.V. rays, oxidizing short lived free radicals in the case of X-rays) resulting mainly from the action of rays on water molecules, are really the responsible agents. The greatest part of the action of U.V. or X-rays is *indirect*.

It is possible, by injection of cyanide, azide, cysteine, glutathione, thiourea, etc. to decrease very significantly the death rate of rats or mice irradiated with X-rays, but only if the substance is injected before irradiation; so far, the biochemical lesion of X-rays irradiation has been found irreversible.