

## Autoradiographies du tissu osseux spongieux<sup>1</sup>

La microradiographie permet d'affirmer<sup>2</sup> que le tissu osseux compact de l'adulte n'est pas uniformément calcifié: les ostéones de dernière formation accusent une moindre teneur en calcium que les ostéones ou les fragments d'ostéones plus anciens.

De plus, il ressort d'images autoradiographiques publiées récemment par AMPRINO<sup>3</sup> que les ostéones les moins calcifiés sont précisément ceux qui, *in vitro*, fixent le radiocalcium avec le plus d'avidité.

Avant de rechercher la signification de ce fait, il convenait de se demander si le tissu osseux spongieux obéit à la même loi que le tissu osseux compact.

La préparation a été baignée pendant 12 h dans une solution de  $\text{CaCl}_2$  contenant, par  $100 \text{ cm}^3$ , 10 mg de calcium et 400 microcuries de  $\text{Ca}^{45}$  (fourni par l'U.S. Atomic Energy Commission). La surface à étudier a été enfin recouverte d'une émulsion sensible (Eastman Kodak autoradiographic stripping film) qui a été développée après 48 h.

La technique mise en œuvre assurant un contact immédiat entre l'émulsion et les surfaces osseuses devenues radioactives, on obtient une autoradiographie dont la résolution est satisfaisante. La figure ci-jointe est caractéristique: les surfaces de section des travées osseuses marquent en gris et sont bordées çà et là d'un liséré noir. Si l'on compare cet aspect à celui des travées elles-mêmes, examinées au microscope, on constate que la radioactivité intense appartient aux lamelles osseuses de dernière formation.

D'autre part, la microradiographie nous apprend<sup>1</sup> que les lamelles récentes sont moins calcifiées que les anciennes, malgré une structure histologique apparemment identique.

La notion acquise par l'étude du tissu osseux compact doit donc être étendue au tissu osseux spongieux: ce sont les parties les plus jeunes et les moins calcifiées de l'os spongieux qui fixent le plus avidement le radiocalcium *in vitro*.

P. LACROIX

*Institut d'anatomie, Université de Louvain, Belgique, le 30 juillet 1952.*

### Summary

Embedding of cancellous bone in an acrylic resin is a suitable technique for radioautographic studies on this brittle tissue.

The fixation of radiocalcium by cancellous bone *in vitro* occurs mainly on the newly deposited lamellae.

<sup>1</sup> R. AMPRINO (communication personnelle, juin 1952).

## Action de la thyroxine, du propylthiouracile et de la thyroidectomie sur les acides nucléiques de la rate

Les relations entre le corps thyroïde et la morphologie de la rate ont été étudiées par divers auteurs<sup>1</sup> et les conclusions sont loin d'être concordantes. Il nous a semblé intéressant d'examiner un aspect biochimique de l'influence du corps thyroïde sur la rate en étudiant les variations quantitatives des acides pentosenucléique (A.P.N.) et désoxypentosenucléique (A.D.N.) à la suite d'administration de thyroxine, d'un antithyroïdien de synthèse, le propylthiouracile et après thyroidectomie. C'est qu'en effet, à la suite de BRACHET<sup>2</sup>, CASTERSSON<sup>3</sup>, DAVIDSON<sup>4</sup>, MIRSKY<sup>5</sup>, BOIVIN<sup>6</sup> et de nos propres recherches<sup>7</sup>, nous croyons judicieux de considérer l'A.P.N.

<sup>1</sup> I. SCIAKY, Ann. Anat. path. et Anat. norm. 15, 165 (1938). - F. S. DAFT, A. KORNBERG, L. L. ASHBURN et W. H. SEBRELL, Soc. exp. Biol. Med. 61, 15 (1946). - F. LAYANI, A. ASCHKENASY et J. MIGNOT, Ann. Endocr. 8, 205 (1947).

<sup>2</sup> J. BRACHET, Cold Spring Harbor Sympos. quant. Biol. 12, 18 (1947).

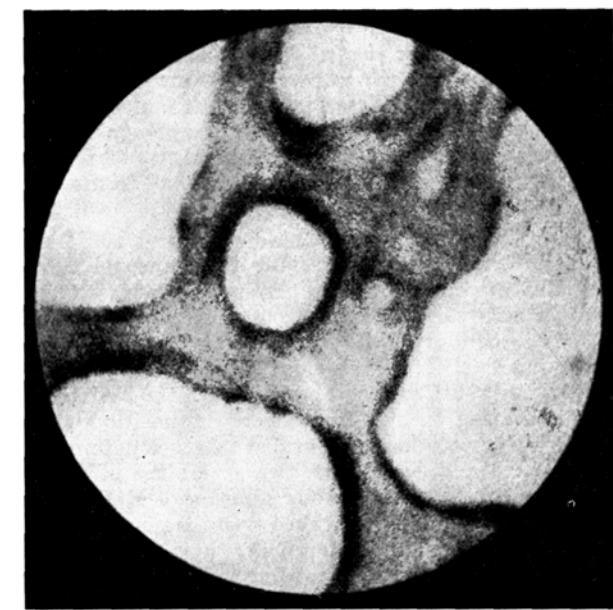
<sup>3</sup> T. CASTERSSON, Symp. Soc. Exp. Biol. 1, 127 (1947).

<sup>4</sup> J. N. DAVIDSON, Cold Spring Harbor Sympos. quant. Biol. 12, 50 (1947).

<sup>5</sup> A. E. MIRSKY, J. Gen. Physiol. 31, 1, 7 (1947).

<sup>6</sup> A. BOIVIN, Rev. Canad. Biol. 7, 368 (1948).

<sup>7</sup> P. MANDEL, L. MANDEL et M. JACOB, C. r. Acad. Sci. 226, 2019 (1948). - P. MANDEL, M. JACOB et L. MANDEL, J. Physiol. 42, 662 (1950). - P. MANDEL, L. MANDEL et M. JACOB, C. r. Soc. Biol. 145, 1231 (1950).



Autoradiographie ( $\times 38$ ) illustrant la fixation *in vitro* de radiocalcium sur le tissu osseux spongieux (extrémité inférieure du tibia d'un homme de 38 ans). Les portions du tissu les plus radioactives sont les lamelles osseuses de dernière formation.

Pour répondre à la question, il fallait d'abord résoudre un problème technique: couper le tissu spongieux non décalcifié de façon à obtenir, pour y étaler le film autoradiographique, une surface de section aussi lisse que possible.

Voici comment on y est parvenu. L'extrémité inférieure du tibia d'un homme de 38 ans a été débitée à la scie à ruban en tranches sagittales de quelques millimètres d'épaisseur. Chacune des tranches a été enrobée au méthacrylate de méthyle. Après polymérisation de cette substance, le bloc obtenu a été limé parallèlement à la surface de la pièce osseuse, de façon à emporter les travées les plus superficielles, peut-être abîmées par la scie, et à faire affleurer les travées profondes, intactes. La surface limée a été aplatie au papier-émeri de plus en plus fin puis polie sur drap de billard aspergé d'hydroxyde d'alumine.

<sup>1</sup> Recherches aidées par l'Institut interuniversitaire des Sciences nucléaires et par le Fonds national de la Recherche scientifique de Belgique.

<sup>2</sup> R. AMPRINO et A. ENGSTRÖM, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 26, 148 (1950); Acta Anat. 15, 1 (1952). - B. ENGFELDT, A. ENGSTRÖM et R. ZETTERSTRÖM, Biochim. Biophys. Acta 8, 375 (1952). - R. AMPRINO, Z. Zellforschung 37, 144 (1952).

<sup>3</sup> R. AMPRINO, Exper. 8, 20 (1952); Z. Zellforschung 37, 240 (1952).

comme représentant biochimique qualifié du cytoplasme et l'A.D.N. comme celui des noyaux.

Nos essais ont porté sur un total de 72 rats groupés en 12 lots. Dans chaque lot, les animaux étaient du même âge et du même sexe et provenaient d'une même portée issue de croisements entre frères et sœurs à travers plusieurs générations. Les diverses portées comportaient de ce fait des individus dont les organes avaient une constitution chimique voisine; il en était de même pour la quantité absolue d'A.P.N. et d'A.D.N. de leur rate. Dans une première série de 5 lots, 16 sujets ont servi de témoins et 20 ont reçu des injections de thyroxine à raison de 1 mg par jour pendant 15 jours. Dans une seconde série de 5 lots également, 11 rats ont servi de témoins et 13 autres ont reçu du propylthiouracile dans leur nourriture à raison de 12,5 mg par jour pendant 15 jours. Enfin, dans une troisième série de 2 lots, 5 sujets ont servi de témoins et 7 ont subi une thyroïdectomie. Les sujets thyroïdectomisés ainsi que leurs témoins ont été sacrifiés au bout de 4 mois. Il importe de noter que dans chaque lot, correspondant à une portée de 5 à 6 rats, 2 à 3 sujets ont servi de témoins, les autres ont subi l'un des traitements indiqués. Les animaux ont été sacrifiés par saignée, l'azote protéique déterminé par la méthode de KJELDAHL, les acides nucléiques par les techniques de SCHMIDT et THANNHAUSER et de SCHNEIDER selon les principes indiqués antérieurement<sup>1</sup>.

Les résultats de nos essais sont consignés dans les graphiques ci-joint. On y trouvera les moyennes concernant tous les témoins et animaux traités de chaque type d'expérience.

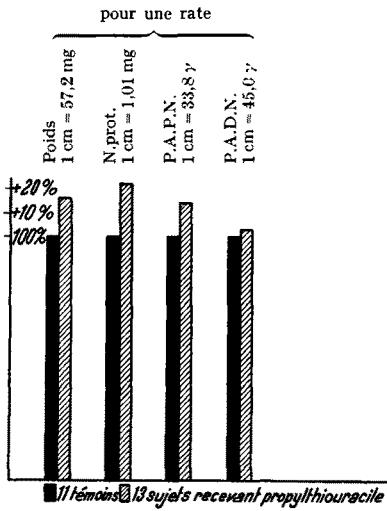


Fig. 1. Action du propylthiouracile sur le poids, l'azote protéique, le phosphore et les acides pentose et désoxypentosenucléiques de la rate. Colonnes noires: moyenne des témoins. Colonnes hachurées: moyenne des sujets ayant reçu du propylthiouracile.

#### Graphiques

Les valeurs concernant les témoins sont indiquées uniformément par des colonnes pleines de 100 mm de hauteur, celles répondant aux sujets ayant subi les divers traitements par des colonnes hachurées. On trouvera au-dessus des colonnes l'échelle adoptée permettant de retrouver les données expérimentales. Cette présentation permet de reconnaître directement sur le gra-

phique les différences en pour-cent. Notons que l'inégalité des valeurs relevées chez les témoins répond aux différences d'âge et de sexe des divers lots d'animaux. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle nous avons groupé les

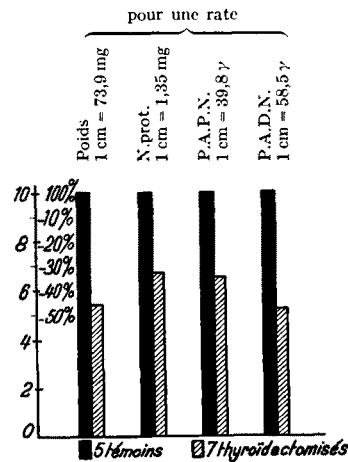


Fig. 2. Effet de la thyroïdectomie sur le poids, l'azote protéique, le phosphore et les acides pentose et désoxypentosenucléiques de la rate. Colonnes noires: moyenne des témoins. Colonnes hachurées: moyenne des sujets thyroïdectomisés.

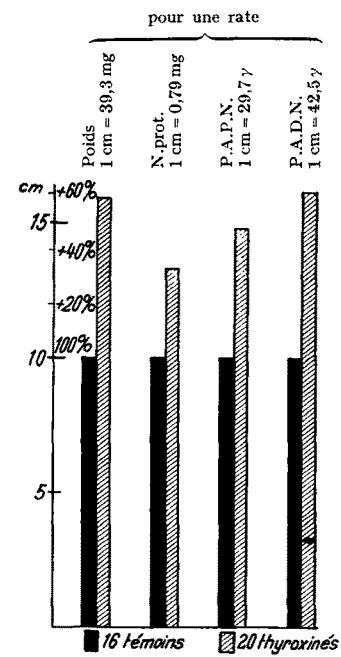


Fig. 3. Action de la thyroxine sur le poids, l'azote protéique, le phosphore et les acides pentose et désoxypentosenucléiques de la rate. Colonnes noires: moyenne des témoins. Colonnes hachurées: moyenne des sujets ayant reçu de la thyroxine.

animaux par portées et comparé uniquement des sujets témoins et traités appartenant à une même portée.

L'examen des graphiques nous révèle que la thyroxine provoque un accroissement du poids de la rate, de l'azote protéique et du phosphore des acides pentose et désoxypentosenucléiques. Les variations quantitatives des acides nucléiques traduisent une augmentation de l'ordre de 50% du cytoplasme et des noyaux.

La thyroïdectomie entraîne des modifications diamétralement opposées, à savoir diminution du poids de la rate, de l'azote protéique, ainsi que de l'A.P.N. et de l'A.D.N. oscillant entre 35 et 48%.

<sup>1</sup> P. MANDEL, M. JACOB et L. MANDEL, Bull. Soc. Chim. Biol. 32, 80 (1950).

L'administration de propylthiouracile pendant une période de 15 jours est suivie d'un léger accroissement du poids, de l'azote protéique et de l'A.P.N. alors que l'A.D.N. reste sensiblement invariable. Il y a lieu d'admettre, dans ce cas, tout au plus un accroissement de la masse cytoplasmique.

L. MANDEL, M. JACOB et P. MANDEL

*Institut de chimie biologique, Faculté de médecine, Université de Strasbourg, le 10 juillet 1952.*

### Zusammenfassung

Die Milz reichert sich nach Einwirkung von Schilddrüsenhormon an beiden Nukleinsäuren an. Dies zeigt sowohl eine Zunahme des aktiven Zytosplasmas sowie der Zellkerne an. Während derselben Versuchsdauer bewirkt Propylthiourazil eine leichte Zunahme des aktiven Zytosplasmas. Die Wirkung der Thyroidektomie ist derjenigen des Schilddrüsenhormones entgegengesetzt. Die Schilddrüsenhormone und die Thyroidektomie scheinen sich besonders auf die Desoxypentosenukleinsäure auszuwirken.

### Sur la L-aminoacideoxydase de nombreux invertébrés marins

L'analyse chromatographique sur papier d'extraits d'organes provenant de multiples invertébrés marins (mollusques, crustacés, annélides, géphyriens, échinodermes) a montré que les tissus de la plupart de ces animaux renferment de l'arginine associée aux acides  $\delta$ -guanido- $\alpha$ -cétovallérénique et  $\gamma$ -guanidobutyrique<sup>1</sup>. La présence de ces corps paraît devoir être reliée à un type de métabolisme de l'arginine différent de celui auquel participe l'arginase chez de nombreux vertébrés. Les homogénéisats d'hépatopancréas de moule (*Mytilus edulis* L.) oxydent en effet cet acide aminé en donnant naissance successivement à l'acide  $\delta$ -guanido-

$\alpha$ -cétovallérénique, à un corps intermédiaire non encore défini, et à l'acide  $\gamma$ -guanidobutyrique<sup>1</sup>. La L-aminoacideoxydase étant sans action sur l'arginine dans les tissus des vertébrés supérieurs<sup>2</sup>, il convenait de rechercher si elle présente des caractères particuliers chez les invertébrés, comme on l'a déjà observé dans les venins des reptiles (L-ophioaminoacideoxydase)<sup>3</sup>. Le but de cette note est de résumer le travail que nous avons poursuivi à ce sujet sur des organes de divers animaux marins.

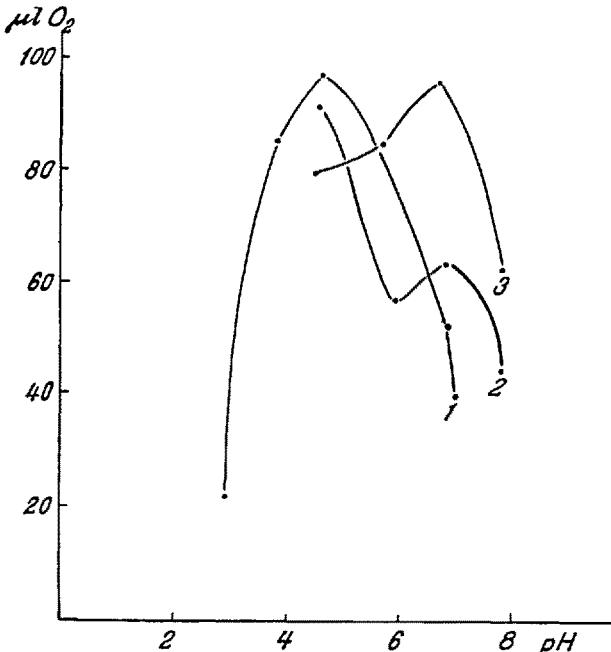


Fig. 2. Oxydation de la L(+)-arginine en fonction du pH par des préparations d'hépatopancréas de *Mytilus edulis* L. en l'absence (courbes 1 et 2) ou en la présence de  $\text{Na}_3\text{Na}$  (courbe 3).  
Abscisses: pH; Ordonnées:  $\mu\text{l O}_2$  fixés.

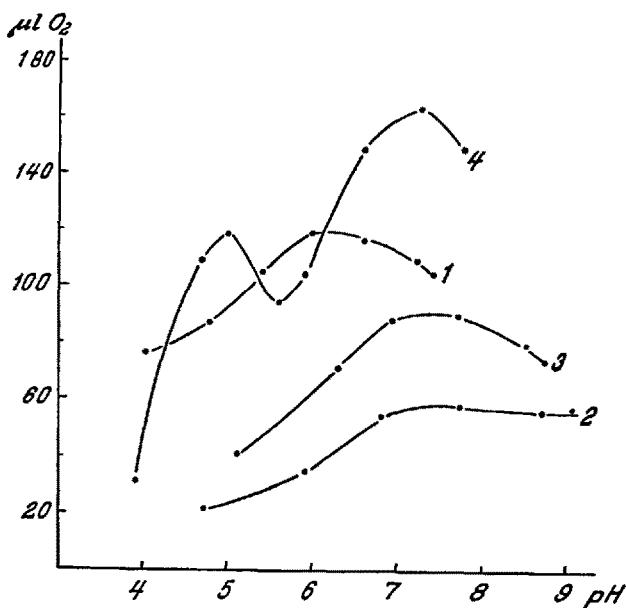


Fig. 1. Oxydation en fonction du pH de la L(+)-arginine par des préparations d'hépatopancréas de 1<sup>o</sup> *Sepia officinalis* L., 2<sup>o</sup> *Aplysia* sp., 3<sup>o</sup> de tractus intestinal de *Paracentrotus lividus* Lmk., 4<sup>o</sup> *Marthasterias glacialis* L. Abscisses: pH; Ordonnées:  $\mu\text{l O}_2$  fixés.

<sup>1</sup> Le cas de nombreux annélides présente des particularités sur lesquelles nous reviendrons avec I. GARCIA.

L'hépatopancréas (*Mytilus edulis* L., *Sepia officinalis* L., *Aplysia* sp.) ou le tractus digestif (*Paracentrotus lividus* Lmk., *Marthasterias glacialis* L.), broyés en présence d'un volume et demi d'eau distillée (waring blendor) ont été centrifugés pendant 15 à 20 min à 18 000 t./min et l'on a répété deux fois cette opération. Le résidu des lavages renferme l'enzyme. Il a été mis en suspension dans de l'eau et l'on a étudié son activité oxydase vis-à-vis de l'arginine et de divers acides aminés, en mesurant au moyen de l'appareil de WARBURG l'oxygène consommé par le milieu suivant: 0,3 ml de solution 0,5 M de mélange tampon de phosphates alcalins ou acéto-acétique de divers pH + 0,3 ml de substrat 0,1 M + 0,5 ml de suspension d'enzyme + eau distillée, q.s.p. 2,9 ml (fioles de WARBURG garnies de 0,1 ml de potasse à 20%, mesures faites après 10 min d'oxydation). Des essais ont été poursuivis à des pH compris entre 2,9 et 9,1, en la présence ou en l'absence d'azide de sodium 0,01 M. Les résultats obtenus en prenant l'arginine comme substrat de l'oxydation ont permis d'établir des courbes dont les figures 1 et 2 donnent des exemples.

<sup>1</sup> Ces données ont été établies au cours de recherches dont les résultats paraîtront prochainement [J. ROCHE, NGUYEN-VAN THOAI, Y. ROBIN, Biochim. Biophys. Acta (sous presse)].

<sup>2</sup> M. BLANCHARD, D. E. GREEN, V. NOVITO et S. RATNER, J. Biol. Chem. 155, 421 (1944); 161, 583 (1945).

<sup>3</sup> E. A. ZELLER, A. MARITZ et B. ISELIN, Helv. chim. Acta 28, 1615 (1945).