

test with 10 cm³ of pregnant woman's urine or with 200 I.U. of F.S.H. gonadotrophins was performed and the transplanted gonad showed a reaction which was entirely analogous to that induced by FRIEDMANN's test for rabbit's ovaries *in situ*.

L.H. gonadotrophin had no trophic action on the thriving and functioning of the ovarian graft.

The ovarian transplants in the anterior chamber which had been favorably influenced by F.S.H. gonadotrophin, did not react to non-pregnant woman's or man's urine, as normal ovaries *in situ* do. The operative technique followed for the ovarian grafts was essentially that of VORS¹.

The animals employed were albino female rabbits weighing about 2 kilos. PABYRN's gonadotrophin was used.

Further details on the biological behaviour of the grafts treated with gonado-stimuline will be published elsewhere.

M. COLONNA

Istituto Regina Elena per lo Studio e la Cura dei Tumori, Rome, March 12, 1954.

Riassunto

È stata studiata la possibilità di ottenere in camera anteriore innesti ovarici, sensibili all'azione di urina di donna gravida.

È stato osservato che le gonadotropine F.S.H. favoriscono la crescita dell'ovaio innestato, mentre le gonadotropine L. H. non mostrano alcuna azione.

Il preparato innestato in camera anteriore reagisce all'inoculazione di urina di donna gravida, mentre non è influenzato dall'inoculazione di urina di donna non gravida o di urina di uomo.

¹ J. VORS, *Gréffe Ovariennne intra-oculaire chez la Lapine castrée. Application au Diagnostic de la Gestation* (Vigot Frères, Paris, 1949).

Examen histopathologique de souris irradiées après injection de cystéamine

La cystéamine¹ (= β -mercaptoprothylamine = Bécaptan = HS-CH₂-CH₂-NH₂) injectée avant l'irradiation, protège la souris C57 contre une dose de 700 r, mortelle en 8 à 15 jours pour tous les témoins. On ignore les raisons de la survie des animaux injectés². Si on suit le poids et la leucocytose, on voit que l'effet de l'irradiation est le même chez les témoins et les injectés pendant deux à quatre jours; ce n'est qu'après ce laps de temps que les animaux protégés se séparent nettement des contrôles³; ils augmentent de poids et régénèrent rapidement leurs tissus atteints, à l'exception de l'ovaire⁴.

Deux interprétations ont été proposées pour expliquer l'action d'autres protecteurs. BETZ⁵ pense que le cyanure ne fait que diminuer l'intensité de la réaction hypophysosurrénalienne, ce qui revient à dire que le cyanure diminuerait la radiosensibilité soit des centres nerveux

¹ Synthétisée par les Laboratoires de Recherches de la Société LABAZ.

² Z. M. BACQ, A. HERVÉ, P. FISCHER, J. LECOMTE, M. PIROTE, G. DECHAMPS, H. LE BIHAN et P. RAYET, Rev. méd. Liège 8, 104 (1953); Science 117, 633 (1953).

³ Z. M. BACQ, A. HERVÉ et F. SCHERBER, Arch. intern. Phar. thérap. 94, 93 (1953).

⁴ Z. M. BACQ, P. DESAIVE et A. HERVÉ, Exper. 8, 436 (1952).

⁵ H. BETZ, C. r. Soc. Biol. 144, 593 (1950).

qui contrôlent l'hypophyse, soit de cette glande elle-même.

CRONKITE, BRECHER et CHAPMAN¹ admettent que la cystéamine protège, contre la destruction par les rayons X, un facteur de régénération dont l'action ne se fait sentir qu'après une latence de quelques jours. Cette seconde interprétation peut devenir une utile hypothèse de travail.

Des travaux récents de MAISIN et de ses collaborateurs² ont montré l'importance du foie dans la régénération des organes hématopoïétiques après irradiation.

C'est pourquoi nous avons examiné en détail les lésions histologiquement visibles du foie et de trois organes radiosensibles (la rate, le thymus et l'épithélium intestinal) chez la souris irradiée immédiatement après injection intrapéritonéale de cystéamine (3 mg pour une souris de 20 g). La dose de rayons X a toujours été de 700 r (250 kv, Cu 0,5 mm, distance focale 10 cm, champ 100 cm², débit 90 r/min); les animaux étaient irradiés par groupes de 5 à 8 dans une boîte en carton ou en plastique³.

I.-Dans une recherche préliminaire sur des souris «champagne» de race pure, nous n'avons observé aucune différence dans l'aspect des lésions du thymus, de la rate et de l'intestin, en comparant 1, 3, 6 et 24 h après l'irradiation, les organes des contrôles et des souris injectées de Bécaptan. Le foie de ces souris n'a pas été examiné.

II.-Les souris noires C57 de notre propre élevage paraissent plus favorables à une étude fouillée. Dans une première série, la rate des animaux protégés est moins pycnotique que chez les contrôles 6 h après l'irradiation; trois jours après, la régénération est nettement plus forte chez les premières. Les thymus présentent des images identiques dans les deux groupes de souris. Dans l'intestin, pas de différence non plus, la régénération paraissant à peu près aussi rapide et intense chez les témoins que chez les souris injectées de cystéamine.

III.-Si on prolonge le temps de survie après l'irradiation (4, 5 et 6 jours) on constate que la régénération est influencée favorablement par l'injection préalable de cystéamine, du moins quand il s'agit de la rate et de l'intestin.

IV.-Une étude quantitative et statistique était nécessaire. Elle fut réalisée sur les organes de 20 souris C57; les critères varient selon les organes parce qu'ils sont choisis pour des raisons de facilité technique.

Groupe I: 5 souris sacrifiées 6 h après 700 r.
Groupe II: 5 souris ayant reçu 700 r après injection de 3 mg de Bécaptan et sacrifiées 6 h après.
Groupe III: 5 souris sacrifiées 4 jours après 700 r.
Groupe IV: 5 souris ayant reçu 700 r après injection de 3 mg de Bécaptan, et sacrifiées 4 jours plus tard.

Nous admettons que, après 6 h, se sont essentiellement les processus de dégénérescence, l'action primaire des rayons X que l'on voit. Après 4 jours, c'est l'intensité de la régénération que l'on observe.

A.-Processus de dégénérescence (groupes I et II)

1° Rate. L'intensité du processus de pycnose nucléaire a été estimé en mesurant, dans les nodules lym-

¹ F. P. CRONKITE, G. BRECHER et W. H. CHAPMAN, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 76, 396 (1951).

² M. MANDART, G. LAMBERT, H. MAISIN et J. MAISIN, C. r. Soc. Biol. 146, 1647 (1952).

³ Ces irradiations ont été faites par le Dr A. HERVÉ dans le service de radiothérapie du Prof. DESAIVE. Nous tenons à les remercier.

phoïdes, le rapport entre la surface où les noyaux sont en majorité intacts et la surface totale des nodules.

Pour le groupe I, ce rapport varie de 0,063 à 0,221 et il est en moyenne de 0,151. Pour le groupe II, il varie de 0,290 à 0,471, avec une moyenne de 0,371. L'étendue des plages pycnotiques est donc plus petite chez les souris traitées par la cystéamine. Chez les contrôles (groupe I), la pycnose s'étend au delà des nodules lymphoïdes, ce qui n'est pas le cas chez les souris injectées.

2° *Thymus*. Dans le thymus, nous avons étudié l'intensité de la pycnose en établissant le rapport entre le diamètre transversal des régions intactes et le diamètre transversal du lobule thymique.

Pour le groupe I, ce rapport varie de 0,217 à 0,287, avec une moyenne de 0,242. Pour le groupe II, il varie de 0,229 à 0,300 avec une moyenne de 0,268.

La différence n'est pas significative. En effet, un calcul montre que le degré de signification statistique $SS = 1,6$, alors qu'il devrait atteindre 3.

3° *Foie*. La différence entre les groupes I et II apparaît clairement: dans le groupe I, les cellules parenchymateuses présentent un aspect spongieux, tandis que celui-ci est à peine esquisse chez les souris du groupe II.

4° *Intestin*. Nous avons compté les noyaux pycnotiques (10 champs microscopiques par animal).

Dans le groupe I, le nombre varie de 40 à 55; il est en moyenne de 45.

Dans le groupe II, il varie de 29 à 61, et reste en moyenne de 44.

Aucune différence significative entre les deux groupes.

B. - Processus de régénération

(groupes III et IV)

1° *Rate*. Dans le groupe III (contrôles), à côté de nodules formés d'éléments lymphatiques normaux, il en est d'autres où prédominent des éléments à noyaux pycnotiques. Cela se produit surtout à la périphérie de l'organe. Par contre, dans le groupe IV, les noyaux en pycnose sont très rares.

Après injection de cystéamine, l'élimination des débris nucléaires et la régénération sont donc plus rapides au niveau de la rate.

2° *Thymus*. La numération des mitoses (10 champs microscopiques par animal) donne les résultats suivants: pour le groupe III, 40 à 54 mitoses, avec une moyenne de 48; pour le groupe IV, 45 à 66 mitoses, avec une moyenne de 60. Cependant, la différence n'est pas entièrement significative: $SS = 2,66$.

3° *Foie*. Alors que dans le groupe III, le parenchyme est très spongieux, il présente un aspect pratiquement normal dans le groupe IV. L'effet du Bécaptan est net.

4° *Intestin*. La numération des mitoses (par 10 champs microscopiques) donne: pour le groupe III: 51 à 71, avec 61 en moyenne; pour le groupe IV: 80 à 93, avec 83 en moyenne.

La régénération est donc plus intense chez les animaux traités à la cystéamine.

V. - Dans les expériences précédentes, les pièces étaient fixées au Bouin et enrobées à la paraffine. Dans cette nouvelle série, nous avons repris l'expérience IV en fixant le foie et la rate au formol et en coupant les pièces à congélation.

Pour la rate, nous retrouvons les mêmes résultats qu'auparavant; mais les différences entre le tissu hépatique des témoins et celui des souris injectées s'estompent. C'est ainsi que les cellules du parenchyme hépatique présentent, 6 h après l'irradiation, un aspect légèrement spongieux, qu'il s'agisse d'animaux injectés ou non. Par contre, 4 jours après l'irradiation, l'état

vacuolaire du cytoplasme est très prononcé chez tous ces animaux.

Cet aspect faisait penser à une dégénérescence lipidique du foie. En effet, 6 h après l'irradiation, il y a une surcharge à fins grains. Mais 4 jours plus tard, les gouttelettes graisseuses sont peu nombreuses chez les témoins, et elles ont pratiquement disparu chez les souris injectées. La cystéamine n'a donc pas d'action nette sur le contenu lipidique des cellules hépatiques.

On a signalé¹ que le Bécaptan réduit la destruction des acides nucléiques de la rate après irradiation totale par les rayons X. Cette réduction s'explique, sans doute, par l'action frénatrice sur le processus de dégénérescence et l'action accélératrice sur le processus de régénération. En effet, des coupes colorées au vert de méthyle-pyronine (expérience IV) ne montrent pas de différence dans l'intensité de la coloration au niveau des cellules individuelles. Une exception: le foie. Dans cet organe, la coloration est plus intense chez les souris traitées au Bécaptan; chez les témoins, une partie du cytoplasme est remplacée par des vacuoles.

Par conséquent, la cystéamine influence à la fois le processus de dégénérescence et celui de régénération chez les animaux irradiés. Elle modère le premier processus dans la rate et accentue le second dans cet organe, dans l'intestin et probablement dans le thymus.

Le foie constitue un cas particulier. Dans cet organe, c'est le cytoplasme qui est altéré, il semble que les noyaux le soient aussi, mais l'étude de ces lésions discrètes demande un appareillage spécial². Le gonflement du cytoplasme est une manifestation précoce et générale dans les lésions par les rayons X et par les substances radiomimétiques³. Ici, ce gonflement aboutit à la vacuolisation. Chez les souris injectées de Bécaptan⁴, cette altération apparaît sur pièces fixées au formol mais ne s'observe pas sur les pièces traitées par un liquide picriqué. Elle est plus profonde chez les animaux témoins, car la vacuolisation est nette dans les deux cas. L'acide picrique est un excellent fixateur du glycogène. La protection du foie se ramène peut-être à une protection de facteurs intervenant dans le métabolisme des glucides; en effet, FISCHER⁵ a démontré que la cystéamine empêche chez le rat à jeun l'augmentation de la teneur en glycogène du foie qui survient dans les 8 h qui suivent l'irradiation totale.

Ces observations sont favorables à l'hypothèse qui fait du foie une source radiosensible de facteurs de régénération. Elles montrent que la cystéamine peut avoir un effet de protection directe sur certains organes (foie, rate), et pas uniquement une action sur la régénération. Signalons que des protections directes ont été observées, sur des cellules végétales, par la cystéine⁶ et par le glutathion⁷; d'autre part, DEVIK⁸ constate la protection des cellules de la moelle osseuse par la cystéine neutralisée.

M. A. GEREBTZOFF et Z. M. BACQ

Laboratoires d'anatomie et de pathologie de l'université de Liège; Centre interuniversitaire belge de recherches sur la croissance, Liège, le 29 janvier 1954.

¹ C. GROS, P. MANDEL et J. RODESH, C. r. Acad. Sci. 236, 2010 (1953).

² S. WARREN, M. W. HOLT et S. C. SOMMERS, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 77, 288 (1951); Lab. Invest. 2, 408 (1953).

³ S. WARREN, M. W. HOLT et S. C. SOMMERS, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 77, 288 (1951); Lab. Invest. 2, 408 (1953). - P. DUSTIN, Nature 159, 794 (1947).

⁴ J. PASTEELS et G. LEONARD, Bull. Histol. appl. 8, 293 (1935).

⁵ P. FISCHER, Arch. internat. Physiol. 57, 134 (1954).

⁶ A. FORSSBERG et N. NYBOM, Physiol. Plantarum 6, 78 (1953).

⁷ K. MIKAELSEN, Science 116, 172 (1952).

⁸ F. DEVIK, Brit. J. Radiol. 26 (1954) (sous presse).

Summary

The injection of β -mercaptoethylamine to C 57 black mice before irradiation (700 r) effects a partial protection of liver and spleen. It has a strong accelerating action on regeneration in spleen, intestine and probably thymus. The experiments suggest that this action is related to a protection of glucidic metabolism.

Diminution de radiosensibilité du rat adulte en hypothermie profonde

Dans les travaux consacrés à l'influence des températures basses en radiobiologie on utilise presque toujours des unicellulaires, des tissus, des organes isolés ou des poikilothermes. La réponse des homéothermes a été beaucoup moins étudiée.

BARLOW et SELLER¹, KIMELDORF et NEWSON² et SMITH³ ont étudié la question chez des rats, LACASSAGNE⁴ chez des souriceaux, STORER et HEMPELMANN⁵ chez des souris adultes et des souriceaux, EVANS, GOODRICH et SLAUGHTER⁶ sur la peau du rat et DOULL et coll.⁷ chez des animaux hibernants.

Nous avons étudié chez le rat l'action d'une hypothermie profonde réalisée pendant le temps nécessaire à l'administration d'une dose mortelle de rayons X.

Matériel expérimental et méthodes

Les homéothermes peuvent être amenés en hypothermie soit par immobilisation et immersion dans l'eau glacée (HORWATH⁸), soit par asphyxie et refroidissement, conditions dans lesquelles l'animal abaisse très vite sa température corporelle (DJAJA⁹). Nous avons employé ce procédé parce qu'il est simple et ne provoque pas de troubles visibles chez l'animal après le réveil de l'hypothermie. Cette méthode a été décrite en détail dans l'étude de l'influence de l'hypothermie sur le fonctionnement de la glande thyroïde chez les homéothermes¹⁰. Dans ce travail nous avons employé des rats des deux sexes, d'un poids de 130–150 g. Les animaux ont été irradiés lorsque la température rectale était de 14–15°C. *Conditions d'irradiation:* Appareil PICKER, 250 kV, 18 mA, filtre 0,25 mm Cu, distance focale 50 cm; champ d'irradiation: 10 × 10 cm; intensité: 80 r/min; temps d'irradiation: 10 min. Pendant l'irradiation les animaux sont installés dans une boîte en carton. La dose a été mesurée par un dosimètre «Universal» Siemens. Pour nos animaux normaux, une dose de 800 r est mortelle en 17 jours. Après l'irradiation les rats sont laissés à la température de la chambre. Nous avons observé les animaux pendant 30 jours.

Partie expérimentale

1° *Irradiation durant l'hypothermie. a) Hypothermie avec asphyxie.* 13 animaux ont été refroidis jusqu'à une

température rectale de 14–15°C et, tout de suite après, irradiés à la dose mortelle de 800 r. 13 animaux témoins ont reçu la même dose. Après un mois, 8 des 13 animaux refroidis étaient encore vivants tandis que tous les animaux témoins étaient morts 17 jours après l'irradiation.

Un second groupe de 9 rats a été irradié en hypothermie profonde à la dose de 900 r. Après un mois, 5 de ces animaux étaient en vie tandis que les 10 animaux témoins irradiés à la même dose étaient morts endéans les 12 jours suivant l'irradiation (Fig. 1).

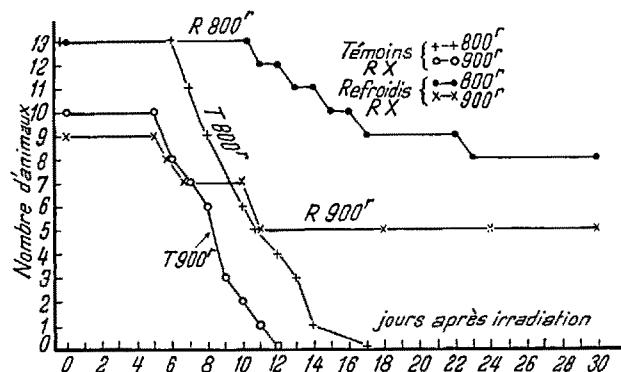


Fig. 1. Courbe de mortalité des rats irradiés en hypothermie profonde.

b) *Hypothermie en présence d'oxygène.* Dans les expériences suivantes nous avons examiné l'influence de l'hypothermie sans hypoxie.

A.—Dans un premier groupe de rats, le refroidissement a été effectué dans des bocaux individuels munis d'un système d'aération sous pression normale. La température des animaux ainsi traités est tombée plus bas que celle des rats de la première série (de 13 à 11°C).

Des 10 animaux refroidis et irradiés par 800 r, 8 étaient encore en vie le 30^e jour.

B.—Dans un second groupe de 8 rats, le refroidissement s'est effectué en deux phases: 1° dans un milieu confiné pendant 1 h jusqu'à obtention d'une température de 20°C; 2° dans un flacon en matière plastique dont la pression intérieure a été maintenue à 1,25 at. pendant 1 h. Les 8 animaux ont été irradiés dans l'enceinte sous pression par une dose de 800 r.

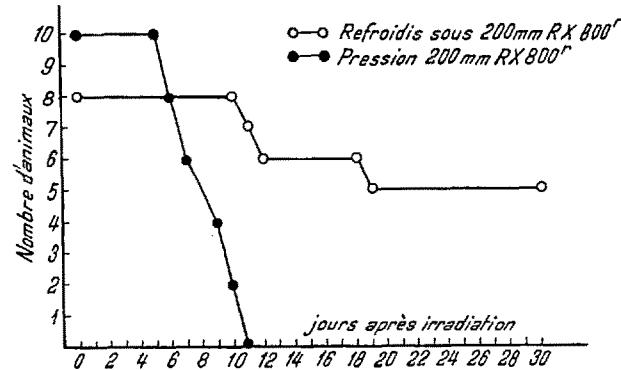


Fig. 2. Courbe de mortalité des rats irradiés en hypothermie profonde sous 1,25 at.

10 animaux témoins ont été soumis au même traitement, refroidissement excepté. 30 jours après l'irradiation, 5 des 8 animaux refroidis étaient en vie tandis que tous les témoins étaient morts le 11^e jour (Fig. 2).

¹ J. C. D. BARLOW et E. A. SELLER Fed. Proc. 11, 9 (1952).

² D. J. KIMELDORF et B. D. NEWSON, Amer. J. Physiol. 171, 349 (1952).

³ W. W. SMITH, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 71, 498 (1949).

⁴ A. LACASSAGNE, C. r. Acad. Sci. 215, 231 (1942).

⁵ STORER et L. HEMPELMANN, Amer. J. Physiol. 171, 341 (1952).

⁶ T. C. EVANS, J. P. GOODRICH et J. C. SLAUGHTER, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 47, 434 (1941).

⁷ J. DOULL, J. P. PETERSON et K. P. DUBOIS, Fed. Proc. 11, 340 (1952).

⁸ A. HORWATH, Zbl. med. Wiss. 45, 47 (1872).

⁹ J. DJAJA, C. r. Acad. Sci. 210, 80 (1940).

¹⁰ E. VERZÁR, V. VIDOVIC et S. HAJDUKOVIC, J. Endocrin. 10, 46 (1953).