

glucosidin (besonders waren die IR.-Spektren der Azetate praktisch identisch), unterschied sich von diesem jedoch in der Farbreaktion mit 84%iger H_2SO_4 und in der optischen Drehung etwas. Es war zu vermuten, dass entweder das 3-Epimere des Scilliglaucosidins oder unreines Scilliglaucosidin vorlag. Gegen die letztgenannte Auffassung sprach die Tatsache, dass Nabogenin chromatographisch gereinigt war und im Papierchromatogramm nur einen Flecken zeigte. Zur Abklärung wurde nun Nabogenin mit $NaBH_4$ reduziert. Das rohe Reduktionsprodukt gab nach chromatographischer Reinigung an Al_2O_3 Kristalle, die sich auf Grund der Farbreaktionen, des Verhaltens im Papierchromatogramm und des IR.-Spektrums¹⁰ in Nujol als identisch mit V aus I und II erwiesen. Da sich gemäss obigen Ausführungen auch die Formel von 3-Episcilliglaucosidin für Nabogenin ausschliessen lässt, folgt, dass letzteres ein durch Chromatographie an Al_2O_3 nicht trennbares Gemisch war, das vorwiegend aus Scilliglaucosidin (I) bestand; Auftrennung des Gemisches gelang jedoch nach Reduktion der Aldehyd- zur Oxymethylgruppe.

Ich danke Herrn Prof. Dr. T. REICHSTEIN für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse.

Herrn W. ZÜRCHER sei für die gewissenhafte Hilfe bei der Ausführung der Versuche gedankt.

A. KATZ

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel,
den 3. Juni 1956.

Summary

Hellebrigenin was converted to Scilliglaucosidin-19-ol and 3-Epi-Scilliglaucosidin-19-ol. This proves the correctness of the assumption of STOLL *et al.*³ that the aldehydic group of Scilliglaucosidin is in position C-10.

Comparison of a reduction product of Nabogenin, a substance isolated earlier from the bulbs of *Bowiea volubilis* HARVEY, with Scilliglaucosidin-19-ol and 3-Epi-Scilliglaucosidin-19-ol showed its identity with the first named compound. This proves that the so called Nabogenin was a mixture consisting mainly of Scilliglaucosidin.

Action du becaptan (β -mercapto-éthylamine) sur la radiosensibilité des cellules vaginales du rat femelle

I. – *Introduction.* 1° Depuis 1946, nombre de chercheurs et en particulier ceux de l'Ecole de Liège se sont attachés à découvrir des substances chimiques susceptibles de protéger des organismes vivants contre les radiations ou les poisons radiomimétiques.

L'ensemble des travaux sur ces substances et leurs propriétés ont été excellemment étudiés et synthétisés par BACQ et ALEXANDER¹. Il semble bien que ce soit la cystéamine ou β -mercapto-éthylamine commercialisée par la firme Labaz sous le nom de Becaptan qui ait jusqu'à présent donné le plus de satisfactions aux expérimentateurs, tant par la qualité de son action radioprotectrice que par sa faible toxicité.

2° Pour mettre en évidence cette radioprotection, différents tests ont été utilisés: courbes de mortalité

(rats, souris, cobayes, infusoires), courbes de croissance des racines de pois, modifications histologiques au niveau des ovaires, de la muqueuse des intestins grêles, de la rate, du foie et du thymus, maturation des hématies jeunes, régénération des leucocytes, chute de poids.

3° Tandis que GEREBTZOFF et BACQ² pensent que le mécanisme intime de la radioprotection chimique consiste surtout en une accélération et une activation de la régénération cellulaire, DESAIVE³ a pu montrer qu'en plus de ce facteur, il faut aussi tenir compte d'un effet radioprotecteur direct.

4° D'autre part, R. et J. GRAHAM⁴ ainsi qu'à leur suite KOHN⁵, NIELSEN⁶ et d'autres ont mis en évidence dans les cellules vaginales normales de patientes atteintes de cancer du col et soignées par radiothérapie, des lésions anatomiques dues aux radiations; l'importance de ces lésions serait en rapport avec la plus ou moins grande radiosensibilité de la tumeur.

Laissant de côté pour l'instant leur importance pronostique, nous nous sommes demandés si ces lésions ne pourraient pas servir de test à la fois aisé et fidèle pour mettre en évidence l'effet radio-protecteur d'une substance donnée. C'est là le but de ce travail.

II. – *Technique.* Tous les frottis vaginaux sont colorés par la méthode trichromasique de PAPANICOLAOU. Dans chaque frottis, nous avons compté dans la mesure du possible 100 cellules intactes et nous avons déterminé le pourcentage de cellules lésées par les radiations. Pour des raisons qui apparaissent clairement dans la suite de l'exposé, nous n'avons fait entrer en ligne de compte que des cellules nucléées.

Par ailleurs, les animaux d'expérience furent des rates vierges de l'élevage sélectionné du Centre Anticancéreux, chacune pesant 150 à 175 g au départ.

III. – *Méthode.* Nous avons utilisé une irradiation intravaginale au moyen d'un tube de 50 mg de radium, dont la longueur active est de 12 mm et la filtration de 1 mm Pt; la durée d'irradiation est de 4 h. Dans ces conditions, la dose reçue à 0,5 cm de Ra serait de 4000 r γ (dose calculée d'après la méthode de Manchester).

Nous avons subdivisé notre groupe d'animaux en deux lots.

1° Un premier lot de 12 rates a subi l'irradiation dans les conditions décrites ci-dessus sous anesthésie au dial injecté par la voie intra-péritonéale.

2° Il en fut de même pour les 13 animaux du second lot mais ceux-ci reçurent immédiatement avant l'irradiation, 15 mg de Becaptan par la voie intra-péritonéale. Un frottis a été prélevé chaque jour chez chaque animal.

IV. – *Résultats.* a) *Lésions observées.* A notre connaissance R. et J. GRAHAM ont été les premiers à décrire les modifications observées après radiothérapie dans les cellules vaginales de la femme; elles sont de quatre ordres:

- 1° vacuolisation du cytoplasme;
- 2° augmentation de la taille cellulaire;
- 3° modifications nucléaires;
- 4° doubles noyaux.

² M. A. GEREBTZOFF et Z. M. BACQ, *Exper.* 10, 341 (1954).

³ P. DESAIVE et J. VARETTO-DENOEL, *Exper.* 11, 242 (1955).

⁴ R. M. GRAHAM, *Surg. Gynec. et Obst.* 84, 153 (1947); 93, 767 (1951). – J. B. GRAHAM et R. M. GRAHAM, *Cancer* 6, 68 (1953); 6, 215 (1953).

⁵ G. KOHN, *Acta radiol.* 12, 446 (1954).

⁶ A. M. NIELSEN, *Acta radiol.* 36, 479 (1952).

⁷ W. J. MEREDITH, *Radium dosage; the Manchester System* (The Williams and Wilkin Co., 1949).

¹ Z. M. BACQ et P. ALEXANDER, *Principes de Radiobiologie* (Sciences et Lettres, Liège 1955).

Tableau I

Pourcentage des lésions cellulaires observées dans les jours qui suivent l'irradiation des rates non protégées
(– = frottis illisible ou manquant, C = œstrus, + = sacrifice de l'animal)

Rats Jours	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	0	6	–	C	5	0	–	0	–	–	–	–
2	6	4	0	–	0	–	0	–	C	–	0	5
3	10	0	C	–	–	–	–	8	C	C	10	10
4	12	0	5	10	C	–	–	5	34	34	23	–
5	32	C	16	20	C	–	12	13	44	68	–	22
6	56	C	25	44	–	60	60	20	41	52	34	32
7	60	54	65	68	70	–	–	36	42	50	48	45
8	50	33	–	–	–	–	–	50	50	50	52	30
9	33	–	50	–	50	–	–	68	38	21	72	45
10	–	–	–	–	–	30	–	24	36	15	39	–
11	–	–	–	20	–	27	40	10	30	–	16	–
12	–	–	–	–	–	–	–	15	24	–	–	–
13	–	–	+	+	+	–	12	24	25	10	10	–
14	–	–	–	–	–	20	10	–	–	–	5	–
15	–	–	–	–	–	15	C	–	10	–	–	–
16	–	–	–	–	–	10	8	–	10	–	–	20
17	–	–	–	–	–	–	5	–	12	–	–	–
18	–	–	–	–	–	–	0	–	–	–	–	–
19	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
20	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	12
21	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
22	–	–	–	–	–	C	5	–	–	–	–	–
23	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–
24	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
25	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
26	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
27	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Tableau II

Pourcentage des lésions cellulaires observées dans les jours qui suivent l'irradiation des rates protégées

Rats Jours	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y
1	2	3	2	–	0	–	–	–	C	8	C	C	C
2	0	C	C	C	–	5	–	–	10	C	C	C	5
3	2	C	0	C	5	C	0	–	–	–	10	10	0
4	0	–	–	–	C	10	5	C	–	–	16	10	18
5	–	–	8	–	–	–	–	–	12	C	20	C	18
6	8	16	20	30	30	20	–	–	5	C	34	–	32
7	20	23	25	–	–	30	26	24	20	C	20	28	18
8	20	–	–	30	–	–	–	–	25	C	10	–	23
9	–	6	–	–	–	20	–	–	–	–	–	–	–
10	–	–	–	–	20	20	–	10	21	25	–	–	16
11	8	C	–	–	–	–	–	–	–	8	–	0	–
12	–	C	10	–	25	–	–	C	5	–	12	–	6
13	0	–	–	–	–	10	–	5	C	–	10	–	C
14	–	–	–	+	10	20	5	0	–	–	–	–	–
15	+	+	+	–	10	–	0	–	0	C	–	–	–
16	–	–	–	–	–	–	5	–	12	0	5	–	–
17	–	–	–	–	–	C	0	–	–	–	–	9	C
18	–	–	–	–	C	15	–	–	C	3	0	5	4
19	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	5	–	8
20	–	–	–	–	10	–	–	–	9	–	–	+	+
21	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–
22	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
23	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–
24	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
25	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
26	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
27	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–

Dans le présent travail, nous n'avons pu tenir compte des modifications nucléaires car nous pensons que leur appréciation est fort subjective chez la rate. De plus, les cellules vaginales du rat pouvant présenter spontanément

des cellules nucléées. Dans ces conditions, on peut considérer qu'un minimum de 10% de cellules anormales est indispensable pour pouvoir affirmer la présence de radio-lésions. En effet, un pourcentage variable, mais ne dé-

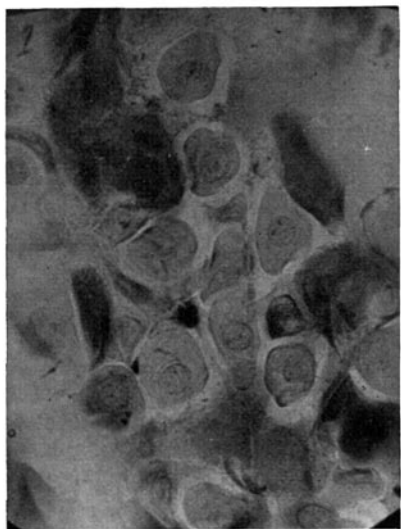


Fig. 1. Frottis vaginal de Rate normale – témoin (Gross. 580 $\times$).

de nombreuses vacuoles, nous n'avons considéré comme élément de radio-lésions que les vacuoles volumineuses distendant et boursouflant les cellules. Nous avons surtout tenu compte de la présence de noyaux multiples et

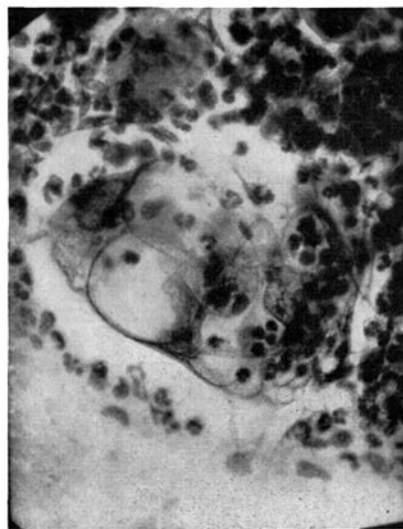


Fig. 3. Autre aspect du même frottis: en plus des caractères repris plus haut, on note l'abondance des vacuoles qui boursouflent la cellule. (Gross. 580 $\times$.)

passant pas 10% de cellules normales peuvent apparaître spontanément dans les frottis vaginaux de la rate.

Les microphotographies ci-dessous montrent les lésions observées après radiations.

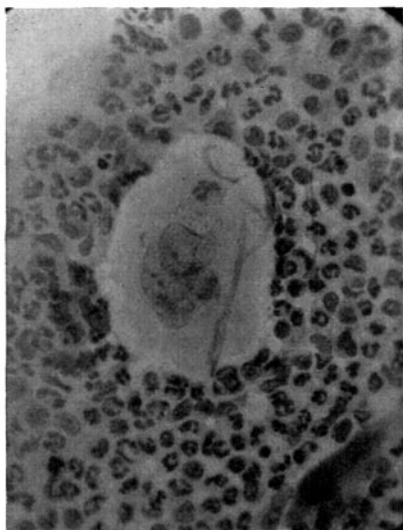


Fig. 2. Frottis vaginal pratiqué sur le même animal, 6 jours après l'irradiation. A noter, comme radio-lésions, l'énorme augmentation de volume des cellules vaginales et la présence de pus (infection surajoutée). (Gross. 580 $\times$.)

de l'augmentation de la taille cellulaire; nous pensons que toute cellule dont le plus grand diamètre dépasse 45μ peut être considérée comme anormale quant à la taille. Ces considérations expliquent que dans l'évaluation de nos pourcentages, nous n'avons tenu compte que

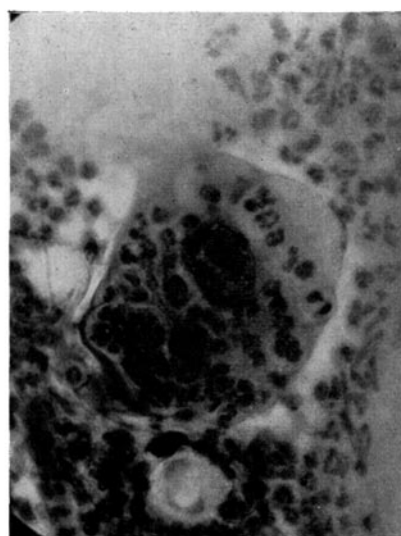


Fig. 4. Autre aspect du même frottis (Gross. 580 $\times$).

b) Résultats. Voici, exprimé en pourcent, le nombre de cellules radio-lésées observées le jour après l'irradiation chez chacun de nos animaux non protégés (Tableau I).

Le Tableau II donne, exprimé en %, le nombre de cellules radio-lésées observées le jour après l'irradiation chez les animaux non protégés.

V. – *Conclusions.* 1° Les radiolésions apparaissent dans les cellules vaginales de la rate le 4^e ou le 5^e jour qui suit l'irradiation (plutôt le 5^e ou le 6^e jour dans la série protégée par le Becaptan) pour atteindre leur maximum de fréquence du 5^e au 9^e jour (dans la série avec Becaptan, il semble que ce maximum se situe du 6^e au 10^e jour et puisse se maintenir pendant plusieurs jours), et redescendre petit à petit aux valeurs normales.

2° L'effet radio-protecteur du Becaptan apparaît de façon indubitable. Le pourcentage de cellules lésées oscille entre 50 et 70% chez les animaux non protégés (une seule fois, il ne dépasse pas 45%), tandis qu'il se maintient entre 20 et 34% chez les animaux protégés par la cystéamine.

3° On sait que la radiosensibilité des cellules vaginales de la femme est fort variable d'un sujet à l'autre. Par contre, la constance des réponses cellulaires aux radiations que nous avons pu observer chez la rate est remarquable; elle est probablement en rapport avec la pureté de la race des animaux employés.

4° L'importante différence entre les témoins irradiés et les protégés plaide en faveur de l'existence d'un effet radioprotecteur direct de la cystéamine.

L. DARCIS¹, P. HOTTERBEECH
et C. ONKELINX

Laboratoire de Pathologie Chirurgicale Générale et Centre Anticancéreux de l'Université de Liège, le 25 janvier 1956.

Summary

The authors studied the lesions observed in the vaginal smears of the rat after a local irradiation.

They observed that an injection of cysteamine before the irradiation strongly diminishes the ratio of damaged cells.

¹ L. DARCIS, Aspirant du F. N. R. S.

Untersuchungen über einen mikrobiologisch feststellbaren Serumfaktor nach Gelbsucht

In einer früheren Arbeit haben wir über die Beeinflussung der Keimung von Pilzsporen und Blütenstaubkörnern durch menschliches Serum von Gesunden und Malignompatienten berichtet¹. In Tabelle I sind die Ergebnisse von weiteren Keimungsversuchen mit Serum gesunder Blutspender an Sporen von *Helminthosporium sativum* und *Alternaria tenuis* und an Blütenstaub aus kurz- und langgriffligen Blüten von *Primula obconica* zusammengestellt.

Aus Tabelle I ist zu ersehen, dass Serum von gesunden Spendern die Sporenkeimung von *Helminthosporium sativum* nicht beeinflusst; bei *Alternaria tenuis* und *Primula obconica*, Langgriffel, tritt eine schwache Förderung, bei Blütenstaub von *Primula obconica*, Kurzgriffel, eine deutliche Hemmung auf.

Untersucht man Serum von Spendern, welche früher eine Gelbsucht durchgemacht haben, so stellt man fest,

Tabelle I
Beeinflussung der Sporen- und Pollenkeimung durch Serum gesunder Blutspender

Organismus	n	V	±	s
<i>Helminthosporium sativum</i> . .	252	100,4	±	10,5
<i>Alternaria tenuis</i>	252	107,4	±	9,1
<i>Primula obconica</i> Kurzgriffel .	252	75,3	±	10,7
<i>Primula obconica</i> Langgriffel .	252	111,5	±	8,7

n = Anzahl der untersuchten Spender
 $V = 100 \cdot \frac{X_{\text{Serum}}}{X_{\text{Kontrolle}}}$
 X_{Serum} = Keimrate bei Zusatz von Serum; bestimmt als arithmetisches Mittel aus einer Stichprobengruppe von 5 × 50 Sporen oder Pollenkörnern.
 $X_{\text{Kontrolle}}$ = Keimrate in der Kontrolle ohne Zusatz von Serum; bestimmt als arithmetisches Mittel aus einer Stichprobengruppe von 10 × 50 Sporen oder Pollenkörnern.
s = Standardabweichung

dass in vielen Fällen die Verhältniszahlen V unter den entsprechenden Werten für gesunde Spender liegen.

In Tabelle II sind zur Illustration zwei Serien gleichzeitig untersuchter Blutproben einander gegenübergestellt; eine erste Gruppe umfasst Seren von 16 gesunden Spendern. Die Proben der zweiten Serie stammen von Personen, welche entweder an Gelbsucht erkrankt waren oder mit Gelbsuchtpatienten in Kontakt gestanden hatten.

Die Mittelwerte für Spender mit positiver Gelbsuchtanamnese liegen tiefer als die Durchschnitte in der Gruppe der Spender, die nie an Gelbsucht erkrankt waren. Nach dem Trennverfahren von R. A. FISHER² wurde für die beiden Gruppen A und B die folgende Trennformel berechnet:

$$Z = X_1 + 0,35 \cdot X_2 + 0,83 \cdot X_3 + 0,05 \cdot X_4$$

In dieser Formel bedeuten:

X_1 = Verhältniszahl für *Helminthosporium sativum*;
 X_2 = Verhältniszahl für *Alternaria tenuis*;
 X_3 = Verhältniszahl für *Primula obconica*, Kurzgriffel;
 X_4 = Verhältniszahl für *Primula obconica*, Langgriffel*.

* In der untersuchten Serie keimte der Langgriffelpollen von *Primula obc.* sehr ungleichmässig, was den niedrigen Koeffizienten von 0,05 erklärt. Obwohl der Langgriffelpollen deshalb wenig zur Trennung der beiden Gruppen beiträgt, wurde X_4 zur Illustration des Verfahrens mit in die Trennformel einbezogen.

Für jede Blutprobe wurde nach dieser Formel der Wert von Z berechnet (siehe Tab. II). Der Mittelwert von Z für die Gruppe B (Gelbsuchtpatienten) liegt mit 188 Einheiten deutlich unter dem Durchschnitt $Z = 214$ der Gruppe A (gesunde Spender). Der Unterschied ist nach dem F-Test statistisch mit einer Wahrscheinlichkeit $P < 0,001$ stark gesichert. Der berechnete Wert von F ist mit 6,67 grösser als die einem $P = 0,001$ entsprechende Zahl 6,43. (Freiheitsgrade $n_1 = 4$, $n_2 = 25$.)

¹ F. H. SCHWARZENBACH, *Oncologia* 8, 93 (1955).
² Vgl. A. LINDER, *Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Ärzte und Ingenieure*, 2. Aufl. (Birkhäuser, Basel 1951), S. 65.