

Some Observations about Effects
of Isologous Splenic Cells on Lethally
Irradiated Mice

Since MAKINODAN *et al.*¹ described that 95% of the mice exposed to 950 r of X-rays survived when treated immediately after irradiation with isologous bone marrow or isologous splenic cells (ISpC), some observations concerning the later fate of the survivors seemed to be desirable. A short report is given here about the response of tissue respiration and aerobic glycolysis, of blood cell counts and of the skin injury in course of the recovery of ISpC-treated animals.

Male CBA-black (inbred) mice averaging 20 g were divided into 3 groups of 30 animals and exposed to X-irradiation (180 kV, 10 mA, filters 1 mm Al and 0.5 mm Cu, dose rate 45 r/min) in a box maintaining an equivalent dose 900 r for each animal. Within 4 h after irradiation, each mouse of the first two groups received 40×10^6 normal ISpC intravenously (splenic pulpa of normal CBA-mice was carefully suspended in the solution used for measurements of respiration and the number of nucleated cells was estimated in a hemocytometer). The first of these two groups served for the record of mortality incidence, the second for measurements of the tissue metabolism. The irradiated mice of the third group remained untreated and control incidence of mortality was recorded here. Another group of normal non-irradiated and untreated mice offered comparative values for metabolic measurements and blood cell counts. The animals were allowed free access to artificial Larson's diet and water.

The protection afforded 900 r-isologous spleen treated mice (Fig. 1) was similar to that reported in ¹. The necropsies of the untreated mice and of the ISpC-mice which died early, showed that all deaths were caused by severe gastrointestinal damage. In contrast, in the later deaths of treated animals (120th day), no such symptoms could be detected. The tissue respiration (measured by the indirect Warburg's method) and aerobic glycolysis (measured by bicarbonate estimation) of both intestinal mucosa and spleen (slicing according to ², conditions of measurements as described in ³) in treated animals were approximatively the same as in normal mice (Fig. 2) and rather reduced in comparison with untreated stickish mice, although on the same day of the experimental period the blood cell counts of ISpC-animals were significantly altered. Autopsies showed that gastrointestinal

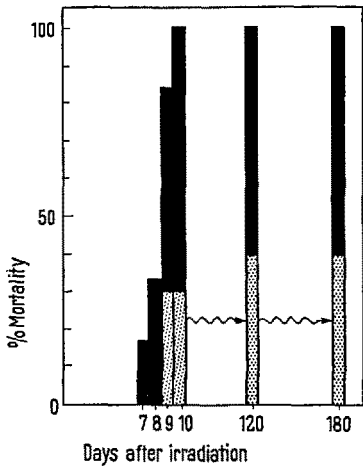


Fig. 1. Mortality of CBA-mice after 900 r-irradiation. Full columns: untreated mice. Dotted: ISpC- treated mice.

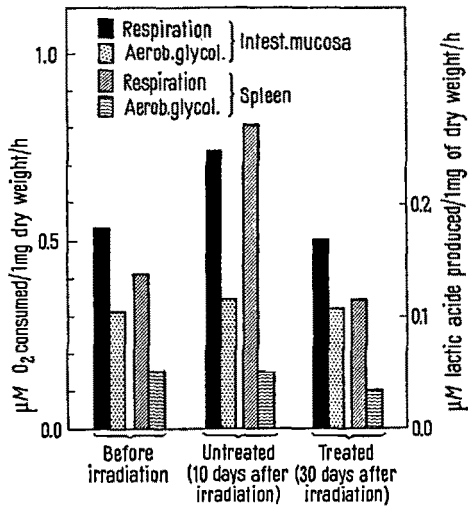


Fig. 2. Respiration and aerobic glycolysis of intestinal mucosa and spleen
(The symbols μM mean here correctly micromoles, i.e. μmoles).

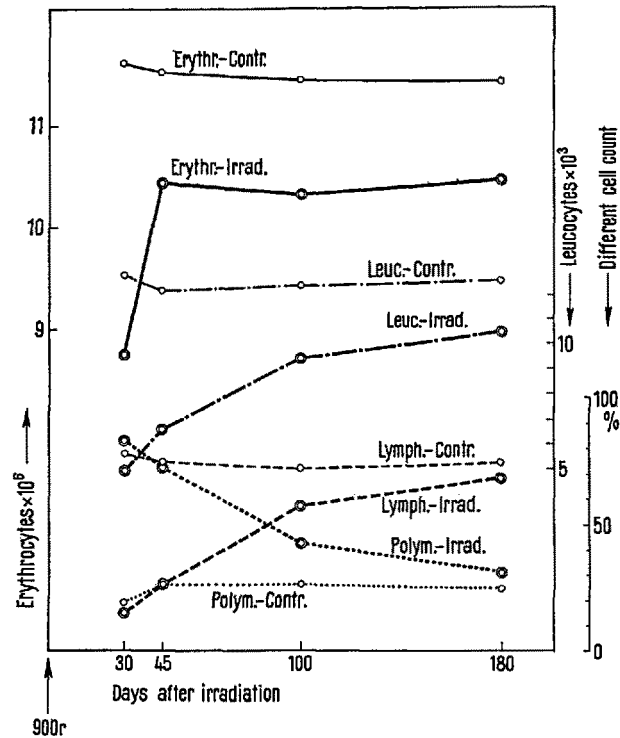


Fig. 3. Erythrocytes, leucocytes, and differential counts of ISpC-treated and untreated mice

¹ I. MAKINODAN, N. GENGOZIAN, and I. C. SHEKARCHI, *J. nat. Cancer Inst.* 20, 591 (1958).
² J. FIELD, in R. VAN POTTER, *Cellular Respiration, Methods in Medical Research*, Vol. I. (The Year Book Publ., Chicago), p. 289.
³ J. RERABEK, *Nature*, in press.
⁴ E. S. G. BARRON, in A. HOLLAENDER, *Radiation Biology*, Part I (McGraw-Hill), p. 283.
⁵ T. S. ARGYRIS, *Amer. J. Anat.* 94, 439 (1954).
⁶ T. S. ARGYRIS, *Anat. Rec.* 126, 1 (1956).
⁷ H. B. CHASE, *J. Morphol.* 84, 57 (1949).

mucosa of mice sacrificed for measurements was normal or only slight hyperemic in comparison with severe hemorrhages in untreated mice.

The recovery of the leucopenia (Fig. 3) was slower than that of the anemia (the lowered hemoglobine values were not plotted) but was quite significant and only slight differences persisted on the 180th day of observation. The same progress showed the initial deep lymphopenia and the granulocytosis which was characterized by high values of polymorphonuclear neutrophils; occurrence of basophils and of irritation cells was recorded in the incipient stage too. In contrast, no recovery could be observed in respect of the skin lesion: the treated mice began to turn gray on the 40th day and, at the end of the observation period, they were deprived of the hair pigment.

Thus, the tissue respiration, which according to BARRON⁴ is altered after X-irradiation, as well as the changes in the occurrence of formed blood elements seem to be beneficially influenced by incorporation of ISpC, whereas the damage of the hair follicles⁵⁻⁷ remains unrecovered.

J. RERABEK

Laboratory of Radiation Biology, Academy of Agricultural Sciences, Prague (Czechoslovakia), June 30, 1960.

Zusammenfassung

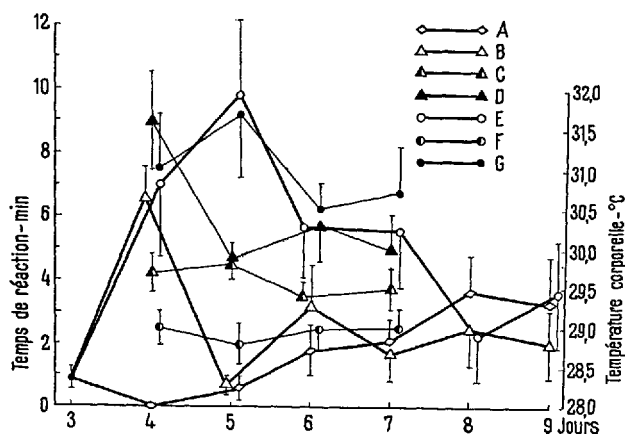
Röntgenbestrahlten CBA-Mäusen (Dosis 900 r) wurden je 40×10^6 isologe kernhaltige Milzzellen (ISpC) intravenös injiziert. Die Mortalität sank im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren (Abb. 1) ähnlich wie in den Versuchen MAKINODANS *et al.*¹. Atmung und aerobe Glykolyse der Darmschleimhaut und Milzpulpa der ISpC-Mäuse standen den Normalwerten nahe (Abb. 2), obwohl zur gleichen Zeit das Blutbild auf Strahlungsschäden deutete. Die anfängliche Anämie wurde schneller normalisiert als die Leukopenie, gegen Ende der Beobachtungszeit kehrten jedoch die relative Lymphopenie wie auch die Granulozytose beinahe auf Normalwerte zurück (Abb. 3). Das durch Beschädigung der Haarfollikel bedingte Ergrauen der Tiere blieb hingegen durch ISpC-Behandlung unbeeinflusst.

Effet de l'hypothermie modérée sur le comportement maternel de la rate

Dans ce travail on a observé l'influence de l'hypothermie modérée sur le comportement maternel de la rate au cours des premiers jours après la mise bas. Ainsi on a examiné, d'une façon indirecte, dans quelle mesure ce degré d'hypothermie trouble la fonction du système nerveux central qui coordonne ce comportement instinctif.

Le comportement maternel a été examiné par «la méthode des réactions spontanées à plusieurs stimuli», qui nous permet d'examiner le degré d'attraction effectué sur la mère, d'une part, par ses petits qui ont été enlevés du nid et, d'autre part, par la nourriture ou par une autre femelle qui se trouve dans la cage voisine. Le temps qui s'écoule du commencement de l'expérience jusqu'à la première réaction de la femelle à n'importe lequel de ces stimuli est désigné comme temps de réaction. Cette méthode a été décrite en détail dans nos communications antérieures^{1,2}.

Pour ces expériences, nous avons divisé les femelles en trois groupes. Le premier groupe, composé de 5 paires de rates (animaux de contrôle), a été examiné à l'aide de



Temps moyen pour l'acte de rapporter les jeunes dans le nid: A: femelles de contrôle; B: femelles refroidies dans des récipients de 2 l; E: femelles refroidies dans des récipients de 5 l.

Température corporelle moyenne: C: à la cessation du refroidissement et D: au début de la remise des jeunes dans le nid, chez les femelles refroidies dans un récipient de 2 l; F: à la cessation du refroidissement et G: au début de la remise des jennes dans le nid, chez les femelles refroidies dans un récipient de 5 l.

notre test, dans des conditions normales, une fois par jour, du troisième au neuvième jour après la parturition. Les femelles du deuxième groupe (7 paires) furent également soumises au test le troisième jour après la parturition dans des conditions normales, puis à partir du quatrième au septième jour, elles sont soumises une fois par jour à l'hypothermie jusqu'à la température corporelle d'environ 30°C. Ce degré d'hypothermie est atteint en moins d'une heure par le confinement de chaque animal dans un bocal de 2 l entouré de glace pilée. Après une série de quatre refroidissements, nous avons continué d'observer le comportement de ces animaux en normothermie au cours des deux jours suivants. Les femelles du troisième groupe (7 paires) furent refroidies et observées durant le même nombre de jours après la mise bas que pour les femelles du groupe précédent. Chez celles-ci l'hypothermie de 30°C environ a été provoquée par le refroidissement dans des bocal de 5 l; le confinement ayant duré plus d'une heure et demie.

Les résultats, illustrés par la Figure, montrent que les femelles du deuxième groupe commencent à exécuter les actes maternels caractéristiques («retrieving», soins des jeunes) presque dès la cessation du refroidissement, tout en étant encore en hypothermie (Fig. B).

Chez les femelles du troisième groupe, refroidies dans des récipients de plus grande capacité, le temps de réaction pour ramener les petits dans le nid est plus long que chez les femelles du groupe précédent (Fig. E). La différence est particulièrement grande après le deuxième refroidissement.

La façon de rapporter les jeunes diffère, chez toutes les femelles refroidies, de celle des femelles témoins. Alors que les animaux témoins replacent leurs petits dans le nid immédiatement l'un après l'autre, les rates hypothermiques accomplissent cette action à intervalles assez longs. L'attitude des femelles refroidies, envers la nourriture et envers la rate dans l'autre cage, diffère aussi de la normale. Ces femelles, étant encore en hypothermie, ont entr'elles des

¹ J. ARNOVLJEVIĆ-BRANKOVIĆ, et V. L. VIDOVIĆ, Arch. Sci. physiol. 12, 161 (1959).

² V. SPUŽIĆ, J. ARNOVLJEVIĆ-BRANKOVIĆ et V. L. VIDOVIĆ, Acta neurologica psychiatrica belgica 60, 247 (1960).