

might exert a cytotoxic action are recorded. Nucleic acids induced e.g. cytological and cytochemical changes in liver tissue⁵ and loss of pathogenicity in ascites tumor cells (after RNA treatment)⁶.

In connection with attempts to induce histocompatibility locus transformation in haemopoietic cells by the action of homologous DNA⁷, the present experiments indicate the necessity to submit the exposed cells to lower DNA concentrations than those previously used. This condition seems relevant also with regard to the hint of an exposure time-toxicity relation. With the long exposure time necessary for good cellular uptake of DNA⁸, the cytotoxicity of the nucleic acid preparation alone at similar concentrations would affect the viability of the cells to be transformed.

Zusammenfassung. Mit einer letalen Dosis von Dimethyl-Myleran vorbehandelte Mäuse überleben nach Transfusion isolierter Knochenmarkzellen. Wirken Nu-

kleinsäuren *in vitro* auf die Knochenmarkszellen ein, so ist ihre lebenserhaltende Kapazität vermindert.

G. L. FLOERSHEIM⁹

Chester Beatty Research Institute, Institute of Cancer Research: Royal Cancer Hospital, London (England), April 17, 1962.

⁵ C. LEUCHTENBERGER, R. LEUCHTENBERGER, and E. UYEKI, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **44**, 700 (1958).

⁶ M. C. NUI, *Anat. Rec.* **136**, 252 (1960).

⁷ G. L. FLOERSHEIM, *Nature* **193**, 1266 (1962).

⁸ G. L. FLOERSHEIM, *Nuclear-Med.*, in press (1962).

⁹ Present address: Pharmakologische Anstalt der Universität, Basel (Switzerland). This investigation was supported by grants to the Chester Beatty Research Institute (Institute of Cancer Research: Royal Cancer Hospital, London) from the Medical Research Council, the British Empire Cancer Campaign, the Anna Fuller Fund and the National Cancer Institute of the National Institutes of Health, U.S. Public Health Service.

L'activité succino-déhydrogénasique dans le tissu oculaire (étude histo-chimique)

Les méthodes histochimiques modernes, relatives au métabolisme tissulaire, ont permis d'étendre les connaissances que nous possédions grâce aux différentes autres méthodes biochimiques. L'histochimie rend possible, en effet, la localisation, dans la structure, des différentes phases métaboliques. Par conséquent, la compréhension des relations qui existent entre la fonction et la structure de la cellule vivante en est facilitée.

La succino-déhydrogénase (SD), dont la localisation histochimique dans le tissu oculaire fait l'objet de notre travail, est une des déhydrogénases intervenant au cours du cycle de Krebs. Sa présence dans un tissu indique que ce cycle s'y déroule et que ce tissu est, par conséquent, le siège d'un métabolisme aérobie.

Précisons que la SD se distingue des autres déhydrogénases par le fait qu'elle ne transfère pas d'électrons aux coenzymes pyridiniques, mais au contraire directement au coenzyme flavinique.

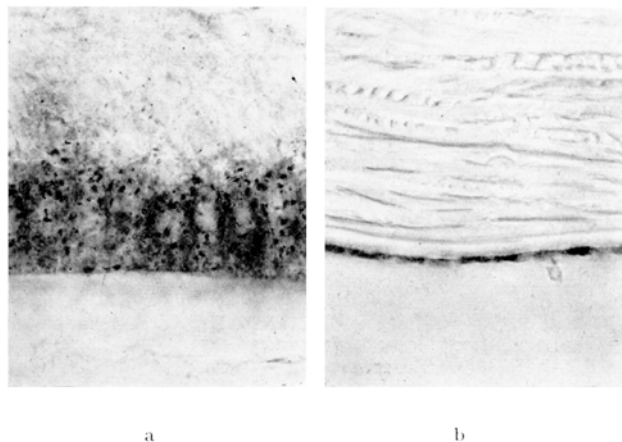


Fig. 1. Cornée humaine. L'activité succino-déhydrogénasique est prononcée dans la couche basale de l'épithélium cornéen (a) et dans les cellules endothéliales (b). (a: Nitro-BT, 500 ×; b: NT, 170 ×).

Méthode. Nos expériences personnelles ont été faites sur le tissu oculaire de l'homme et du lapin. En ce qui concerne la préparation des tissus examinés, nous avons incubé, d'une part, les morceaux de tissu de la cornée, du corps ciliaire et du cristallin et, d'autre part, les coupes en congélation de ces mêmes tissus. La rétine, en revanche, a été incubée en entier, incluse en gélatine et coupée en congélation.

Pour le INT¹ et le NT², nous avons employé la méthode de SELIGMAN et RUTENBURG⁴ modifiée par ROSA et VELARDO⁵, en milieu aérobie à un pH de 7,6. La méthode de NACHLAS et al.⁶ a été employée pour le nitro-BT³.

Pour les contrôles, nous avons incubé les tissus dans le milieu exempt de succinate.

¹ Iodophenyl-nitrophenyl-phenyl tetrazolium (INT).

² Neotetrazolium (NT).

³ Nitro-blue tetrazolium (nitro-BT).

⁴ A. M. SELIGMAN et M. RUTENBURG, *Science* **113**, 317 (1951).

⁵ C. G. ROSA et J. T. VELARDO, *J. Histochem. Cytochem.* **2**, 110 (1954).

⁶ M. M. NACHLAS, TSOU KWAN-CHUNG, E. DE SOUZA, CHAO-SHING-CHENG et A. M. SELIGMAN, *J. Histochem. Cytochem.* **5**, 420 (1957).

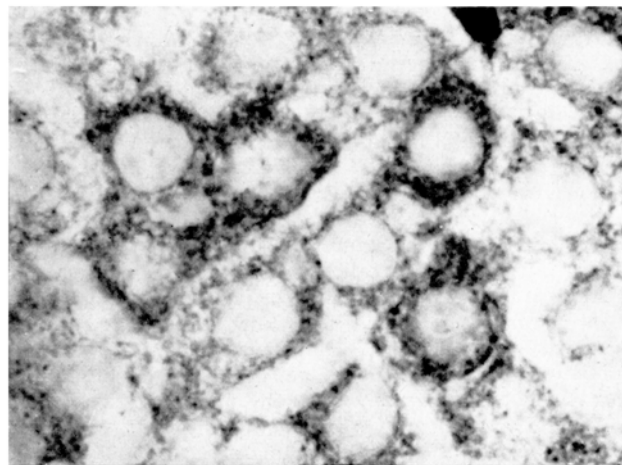


Fig. 2. Épithélium du cristallin humain. L'activité succino-déhydrogénasique est très intense dans le cytoplasme des cellules (Nitro-BT, 1070 ×).

Résultats. En ce qui concerne l'utilité des trois différents sels de tétrazolium, nos résultats confirment ceux des auteurs précédents. En effet, l'INT, bien qu'il se réduise très facilement, donne lieu à la formation de cristaux grossiers de monoformasan rouge brique et ne rend possible qu'une localisation histochimique. En revanche, les fins dépôts granuleux du produit de réduction de NT et du nitro-BT permettent une localisation cytochimique. Avec ces deux derniers ditétrazoliums, nous avons pu observer, par places, une coloration rouge dont la signification n'est pas élucidée.

Quant à la distribution des formosans dans les différentes parties du tissu oculaire, nous avons obtenu les résultats suivants:

Cornée: Dans la cornée, c'est l'épithélium et l'endothélium qui ont montré une activité enzymatique importante (Figure 1a, b). Dans l'épithélium, nous avons pu constater une activité plus intense dans les couches basales, activité qui diminue progressivement vers les couches superficielles (Figure 1a). Dans le parenchyme, seuls les éléments cellulaires ont donné un résultat plus ou moins positif.

Corps ciliaire: Au niveau du corps ciliaire, une grande quantité de formasan a pu être mise en évidence dans le muscle ciliaire, d'une part, et dans le protoplasme de l'épithélium, d'autre part. Quelquefois nous avons pu constater une image striée au niveau du muscle ciliaire. Cet aspect pourrait correspondre au fait que l'activité déhydrogénasique est absente au niveau des ondes contractiles des fibres ciliaires, tandis qu'elle est maximale à proximité de celles-ci (DICULESCO et al.⁷).

Cristallin: Dans le cristallin, l'activité succino-déhydrogénasique s'est limitée à une mince couche superficielle

englobant le reste du cristallin. Dans cette couche superficielle, la capsule du cristallin s'est révélée négative, tandis que l'épithélium faisait preuve d'une activité prononcée (Figure 2). Cette activité ne s'est toutefois pas exclusivement bornée à l'épithélium. En effet, les cristaux de formasan ont été retrouvés dans les fibres superficielles de l'écorce cristalliniennne. Néanmoins, à cet endroit, la spécificité de la réaction peut être mise en doute.

Rétine: Une très forte réaction peut être observée dans la rétine au niveau de l'article interne des éléments photorécepteurs. En outre, une très faible activité peut être mise en évidence dans les couches des cellules ganglionnaires, ainsi que dans la couche réticulaire interne. Les résultats obtenus chez l'homme et chez le lapin sont identiques.

Ces expériences, dont nous avons donné un bref aperçu, confirment et complètent les résultats obtenus par d'autres auteurs au cours de l'étude de l'activité déhydrogénasique dans le tissu oculaire.

Summary. The author has studied, with different tetrazolium techniques (NT, INT, nitro-BT), the succinate dehydrogenase activity in the ocular tissue (cornea, ciliary body, lens, retina).

J. FORGACS

Clinique ophtalmologique de l'Université de Genève (Suisse), le 19 mars 1962.

⁷ J. DICULESCO, J. VERNE et R. WEGMANN, *Ann. Histochem.* 6, 47 (1961).

Asthma and Mast Cells of Bronchial Connective Tissue

We have already demonstrated in previous studies that the bronchial connective tissue of man is rich in mast cells, mostly with abundant metachromatic granulations; and that opposite to such abundance in normal man, or in subjects affected with non-asthmatic bronchitis, there is an evident scarceness in asthmatics, in whom the rare mast cells still visible are mostly degranulated or disrupted with the metachromatic granules scattered in the ground substance of the connective tissue¹⁻⁴.

In the present study, we report the findings of a comparative research on the distribution and on the reactivity of bronchial mast cells to the compound 48/80 in the following two groups: (1) patients affected with pure bronchial asthma; and (2) patients affected with non-asthmatic bronchitis.

The mast cells were observed in bronchobiopsy specimens taken from the orifice of the middle lobe bronchus, stained with toluidine blue 01% at pH 6.5. In all cases, a first specimen was taken before treatment with the histamine liberator 48/80 and a second one from 3 to 30 h after the last administration, taking care to excise it far from the first cicatrice. The compound 48/80 was administered intravenously in daily doses proportional to body weight, progressively increasing from an initial minimum of 10-35 µg/kg to a maximum of 35-60 µg/kg. To both groups the same total quantity of 48/80 was administered, used in a strength of 1 mg/ml of physiological saline.

Counting of mast cells for each patient was made in 30 microscopical fields for each one of the 5 histological

sections examined, using ocular × 10 and objective × 100. The average number of mast cells visible in the area of 30 microscopical fields of each group was obtained dividing the total number of mast cells counted for each group by 55 (number of histological sections examined for each group).

Tab. I

		Mast cells	Mean number of mast cells in 30 microscopical fields	% value
Asthmatics (11 cases)	before	non-degranulated	14.24	26.29
		degranulated	39.91	73.71
		total population	54.15	100.00
	after 48/80	non-degranulated	3.89	12.56
		degranulated	27.09	87.44
		total population	30.98	100.00
Non-asthmatics (11 cases)	before	non-degranulated	40.80	55.81
		degranulated	32.31	44.19
		total population	73.11	100.00
	after 48/80	non-degranulated	20.55	41.08
		degranulated	29.47	58.92
		total population	50.02	100.00

¹ G. SALVATO, *Minerva Med.* 49, 2868 (1958).
² G. SALVATO, *Exper.* 15, 308 (1959).
³ G. SALVATO, *Allergie Asthma* 6, 22 (1960).
⁴ G. SALVATO, *Int. Arch. Allergy* 18, 348 (1961).