

from highest to lowest in other investigated regions was as follows: caudate nucleus, thalamus, pons, neocortical areas and hippocampus, and the spinal cord.

The most conspicuous change found in the brain of animals killed while deeply hibernating at a rectal temperature of 5°C, as compared with the controls, was a considerable and statistically highly significant increase of GABA in the hypothalamus (28.4%;  $p > 0.001$ ), thalamus (25.1%;  $p > 0.001$ ) and the frontal cortex (23.8%;  $p > 0.001$ ). This was associated with an equally significant decrease of glutamic acid in the frontal cortex, caudate nucleus and hypothalamus.

The process of arousal, on the other hand, was found to be characterized by a remarkable decrease of GABA undershooting the control values in the hypothalamus (13.9%;  $p > 0.01$ ) and caudate nucleus (22.1%;  $p > 0.001$ ), a return to control levels in the thalamus and frontal cortex, and a highly significant increase of this compound in the pons (31.5%;  $p > 0.001$ ) and the spinal cord (22.1%;  $p > 0.01$ ). With the exception of the two latter structures, where it increased, and the caudate nucleus, where it exhibited further decrease, glutamic acid remained at levels determined in hibernation at 5°C in all other investigated regions.

Glutamine was practically unchanged throughout.

It was tempting to interpret the differential changes of GABA observed in various cerebral structures following arousal in specific functional terms. This, however, would not at the present time lead to anything but another more or less plausible speculation. Some general conclusions, however, seem to be warranted. Results presented provide good further evidence for the considerable hetero-

geneity of amino acid pools in morphologically and functionally differentiated areas of the brain under normal and varying physiological conditions. In hibernation and following arousal, the most remarkable and apparently most dynamic changes of GABA occurred in those subcortical (diencephalic and brain stem) structures which have been implicated as essential for control of these co-ordinated physiological processes. This gives further support to the assumption that the glutamate-GABA system is of paramount importance in the regulation and maintenance of cerebral excitability<sup>6</sup>.

**Résumé.** On étudie ici la teneur en glutamine, en acide glutamique et en GABA dans des différentes parties du cerveau chez le *Spermophile* en sommeil hivernal profond et après le réveil de l'hibernation. Les changements les plus remarquables de l'acide glutamique et du GABA ont été constatés dans les structures sous-corticales regardées comme essentielles pour la régulation de ces processus physiologiques coordonnés.

LJ. T. MIHAILOVIĆ, LJ. KRŽALIĆ,  
and D. ČUPIĆ

*Institute of Pathological Physiology, Faculty of Medicine,  
University of Belgrade (Yugoslavia), July 16, 1965.*

<sup>6</sup> This work has been supported by a grant from the Medical Research Foundation of S. R. Srbija.

### Sur les effets du 5-fluoruracile injecté à l'embryon de Poulet à des stades avancés de l'incubation<sup>1</sup>

Dans une note, parue précédemment dans cette revue<sup>2</sup>, nous avons publié les premiers résultats obtenus en injectant à l'embryon de Poulet, à des stades précoces de son développement (avant l'incubation, 24 et 48 h après le début de l'incubation), différentes doses de 5-fluoruracile (5-FU). On a constaté que la substance a trois effets importants: un effet léthal immédiat, un effet léthal tardif et un effet tératogène. Il nous a paru intéressant de contrôler si ces trois effets se manifestent encore lorsque la substance est injectée à des stades avancés de l'incubation et cela dans le but de mieux préciser si ces effets sont spécifiques pour la substance ou s'ils sont plutôt en rapport avec une période particulièrement critique du développement embryonnaire.

Nos expériences portent sur un ensemble de 2500 embryons de Poulet, divisés en deux groupes: dans le premier, la substance a été injectée à la fin du cinquième, dans le second, à la fin du huitième jour de l'incubation. Le nombre des séries (embryons injectés et embryons-témoins), les quantités de substance et la modalité de l'injection sont exactement les mêmes que ceux employés au cours des expériences précédentes.

Les résultats sont les suivants:

**Effet léthal immédiat.** L'embryon supporte très bien l'injection de la substance et le % des embryons qui

meurent dans les trois jours qui suivent l'injection est minime, sauf pour les doses élevées. Si le 5-FU est injecté à la fin du cinquième jour de l'incubation, les doses élevées de 800 µg et de 1 mg sont assez fortement toxiques: le 36 et le 68% des embryons meurent. Mais avec les doses inférieures de substance, comme d'ailleurs avec toutes les doses, faibles et élevées, injectées à la fin du huitième jour, le nombre des morts est très bas, presque toujours superposable aux valeurs des séries de contrôle.

**Effet léthal tardif.** Nos expériences montrent que le nombre des embryons qui arrivent vivants le vingt-et-unième jour s'accroît sensiblement au fur et à mesure que l'injection de la substance est faite à des périodes plus avancées de l'incubation. Jusqu'à la dose de 400 µg, le % des embryons vivants correspond environ à celui des séries de contrôle; avec des doses plus élevées, les valeurs baissent. Mais, même avec les trois doses les plus élevées (600, 800 et 1000 µg), il y a toujours un certain nombre d'embryons (du 5 au 36%) qui arrivent vivants au terme de l'incubation; ce nombre est d'environ trois fois plus élevé lorsque l'injection est faite à la fin du huitième jour. Dans nos premières expériences (injection de la substance à des stades très précoces), aucun embryon n'était arrivé vivant avec les trois doses les plus élevées.

<sup>1</sup> Ces recherches ont été faites grâce à un subside du Fonds National Suisse de la recherche scientifique et de la Fondation E. Barell.

<sup>2</sup> G. CONTI et M. ARTA, *Exper.* 21, 479 (1965).

**Effet tératogène.** Le 5-FU manifeste une action tératogène; mais celle-ci devient évidente seulement à partir de la dose de 400  $\mu$ g lorsque l'injection est faite à la fin du cinquième jour, de la dose de 600  $\mu$ g lorsque l'injection est faite à la fin du huitième jour. Si l'on compare ces résultats avec ceux des expériences précédentes, on remarque que l'embryon est plus résistant et que seulement les trois doses plus élevées de la substance déploient une action tératogène importante. Le % des malformés est plus élevé lorsque l'injection est faite à la fin du cinquième jour: le 77, 86 et 61% des embryons traités sont malformés; ces valeurs se réduisent au 31, 44 et 64% lorsque la substance est injectée à la fin du huitième jour.

En ce qui concerne les différents types de malformations, dans le premier groupe nous avons rencontré la célosomie, l'œdème, la déviation de la colonne vertébrale, les différentes malformations qui frappent la queue, le bec, les yeux, le cerveau et les membres. Parmi ces malformations, il y en a trois qui attirent particulièrement l'attention par leur fréquence très élevée: les malformations des yeux, du bec et des membres. Dans le deuxième groupe d'expériences, les malformations sont à peu près les mêmes, à quelques différences près: ainsi par exemple, les malformations de la colonne vertébrale sont absentes, mais on a observé des kystes du duvet. Les pourcentages des malformations des yeux ont diminués sensiblement; les malformations du bec et surtout des membres se tiennent toujours à des valeurs assez élevées.

En définitive, ces expériences montrent que les effets léthaux immédiat et tardif du 5-FU perdent beaucoup de leur importance au fur et à mesure que l'on s'éloigne du début de l'incubation. Ces effets ne sont donc pas absolu-

ment spécifiques mais plutôt liés à la période de sensibilité critique de l'embryon dans les stades précoces de son développement. L'effet tératogène, observé lors des premiers essais, est confirmé encore par ces expériences. En effet, les fortes doses de substance provoquent des % élevés de malformations (du 31 au 86%), qui frappent avec prédilection les yeux, les membres et le bec; mais les malformations sont dans l'ensemble moins graves par rapport à celles que nous avons observées précédemment.

Une dernière constatation qui mérite d'être soulignée concerne les embryons malformés qui sont arrivés à l'éclosion: tous les poussins malformés présentent uniquement des malformations des membres inférieurs: doigts très courts et absence de l'articulation de la hanche ou du genou dans le premier groupe; impossibilité de se tenir debout, pattes déviées d'une manière telle que la marche du poussin devient tout-à-fait anormale, dans le deuxième groupe.

**Summary.** 5-FU, injected into the chick embryo on the 5th and the 8th day of incubation, has an immediate lethal effect and a later lethal effect which are very attenuated. On the other hand, when injected in very high doses, the substance has a uniform teratogenic action and causes malformations which attain specifically the members, the brain, and the beak.

M. AITA et G. CONTI

*Institut d'Histologie et d'Embryologie générale de l'Université de Fribourg (Suisse),  
le 16 juillet 1965.*

### **Tumeurs mammaires et leucémies dans une nouvelle souche de souris (PS): Etude au microscope électronique**

Une souche pure de souris (PS) nouvellement isolée (MOURIQUAND et MOURIQUAND<sup>1</sup>) est d'un intérêt tout particulier par la très haute incidence en tumeurs mammaires et en leucémies. Les deux affections s'associent d'une manière tout à fait remarquable dans une grande fréquence - 8% dans un bilan établi pour la 13<sup>e</sup> génération (MOURIQUAND et MOURIQUAND<sup>2</sup>). Les deux maladies se transmettent spontanément d'une génération à l'autre ou expérimentalement par extrait acellulaire. Ces faits suggèrent l'intervention d'un agent viral dont on doit se demander s'il est unique pour les deux maladies ou s'il existe un agent propre à chaque affection.

Le matériel provient de 15 souris femelles dont 7 leucémiques et 8 porteuses de tumeurs mammaires (10 tumeurs mammaires en tout). Aucune souris ne présentait cliniquement d'association des deux maladies. Les prélèvements fixés à l'acide osmique et inclus dans de l'araldite selon la technique habituelle décrite ailleurs (HOLLMANN<sup>3</sup>) ont été examinés à l'Elmiskop I de Siemens.

Les tumeurs mammaires au microscope optique se présentent comme des carcinomes glandulaires, le plus souvent bien différenciés. Au microscope électronique les aspects sont comparables à ceux qui ont été décrits dans d'autres tumeurs mammaires de la souris. La fréquence de cellules en pleine activité sécrétrice est cependant par-

ticulièrement élevée. Dans ces cellules l'ergastoplasme est très développé à citernes distendues contenant une substance finement grenue. L'appareil de Golgi est volumineux et souvent riche en grains de protéine élaborés. Les microvillosités peuvent être très longues et nombreuses; des prolongements cytoplasmiques semblables s'observent parfois tout autour de la cellule.

Toutes les tumeurs contiennent des particules d'aspect viral de type A et B identiques à celles initialement décrites par BERNHARD<sup>4</sup>. Ces particules sont d'une grande abondance: les particules de type B remplissent parfois les lumières acineuses; les particules de type A, toujours intra-cytoplasmiques, peuvent former des corps d'inclusion dans la zone de Golgi. Elles se disposent parfois en couronne autour des vacuoles golgiennes. Ces dernières apparaissent tantôt vides, tantôt remplies de particules B, tantôt riches en petites vésicules de 35 à 50 nm de diamètre réalisant l'aspect de corps multivésiculaires.

Un trait particulier de ces tumeurs mammaires est l'existence de structures en batonnet qui n'ont pas été décrites jusqu'à présent. Leur diamètre est de 30 nm, leur

<sup>1</sup> J. MOURIQUAND et C. MOURIQUAND, *Ann. Inst. Pasteur* 102, 174 (1962).

<sup>2</sup> J. MOURIQUAND et C. MOURIQUAND, *Pathologie et Biologie*, sous presse.

<sup>3</sup> K. H. HOLLMANN, *Z. Zellforschung*, sous presse.

<sup>4</sup> W. BERNHARD, *Cancer Res.* 20, 712 (1960).