

Effet tératogène. Le 5-FU manifeste une action tératogène; mais celle-ci devient évidente seulement à partir de la dose de 400 µg lorsque l'injection est faite à la fin du cinquième jour, de la dose de 600 µg 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 déplient 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 diminué 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 préférence les yeux, les membres et le bec; mais les malformations sont dans l'ensemble moins graves par rapport à celles que nous avions 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 MOURIQUAND¹) 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^e génération (MOURIQUAND et MOURIQUAND²). 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 (HOLLMANN³) 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'autre tumeurs mammaires de la souris. La fréquence de cellules en pleine activité sécrétatoire est cependant par-

ticulièrement élevée. Dans ces cellules l'ergastoplasmme 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 BERNHARD⁴. 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.

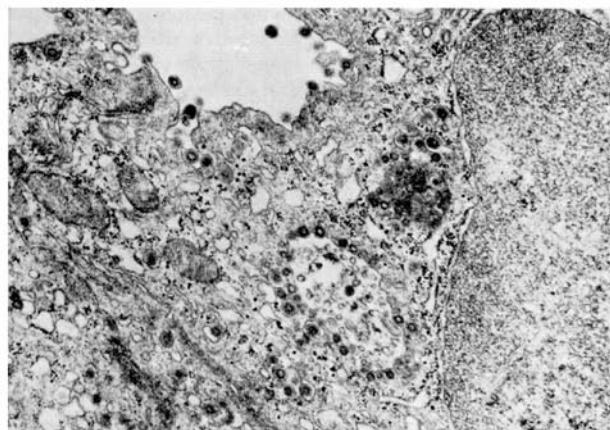
Un trait particulier de ces tumeurs mammaires est l'existence de structures en bâtonnet qui n'ont pas été décrites jusqu'à présent. Leur diamètre est de 30 nm, leur

¹ J. MOURIQUAND et C. MOURIQUAND, Ann. Inst. Pasteur 102, 174 (1962).

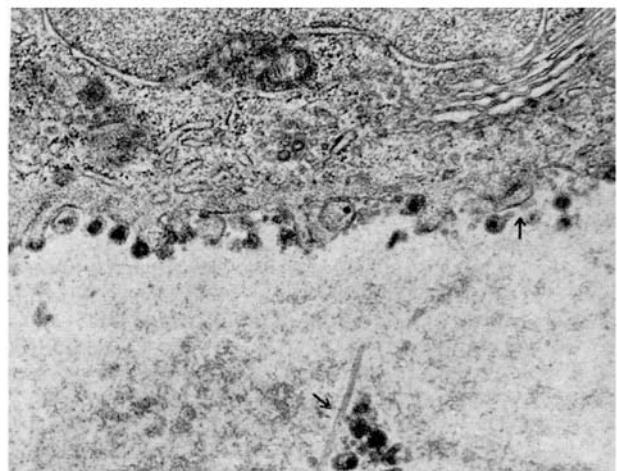
² J. MOURIQUAND et C. MOURIQUAND, *Pathologie et Biologie*, sous presse.

³ K. H. HOLLMANN, Z. Zellforschung, sous presse.

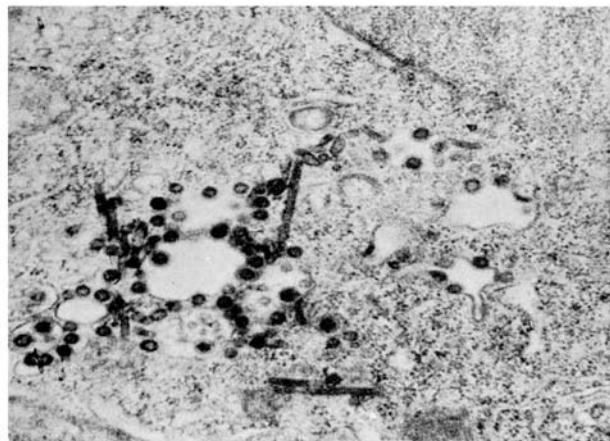
⁴ W. BERNHARD, Cancer Res. 20, 712 (1960).



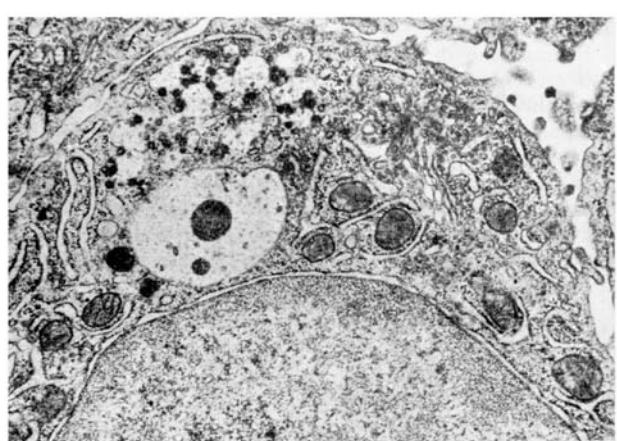
a



a



b



b

Fig. 1. Tumeur mammaire. a, Portion apicale d'une cellule tumorale. dans le cytoplasme on voit des vacuoles entourées de particules de type A et contenant des particules de type B. Ces formations répondent aux corps d'inclusion observés au microscope optique. $\times 26\,500$. b, Dans le cytoplasme, au voisinage des particules A et B on reconnaît des structures en batonnet de 30 nm de diamètre et de longueur variable représentant un des caractères des tumeurs mammaires de la souche PS. $\times 48\,000$.

Fig. 2. Tumeur mammaire. a, Portion apicale d'une cellule tumorale. A la surface les particules du type B naissent par bourgeonnement de la membrane plasmatische. Une particule est prolongée par une formation en batonnet (\downarrow). Un autre batonnet s'aperçoit dans la lumière acineuse au voisinage d'autres particules virus (\uparrow). $\times 43\,500$. b, Portion d'une cellule tumorale. On remarque le développement des citermes ergastoplasmiques, l'existence de grains de sécrétion dans les vacuoles golgiennes et la présence de particules virus autour des vacuoles adjacentes. En bas portion de noyau. $\times 23\,000$.

longeur variable. Les batonnets se trouvent de préférence dans la zone de Golgi, en général associés à des amas de particules A. Ils peuvent également s'observer dans la lumière des acini et paraissent parfois appendues à des particules de type B.

Les *leucémies* de la souche PS revêtent presque tous les types habituellement observés chez la souris, mais elles sont le plus souvent lymphoïdes. Les organes atteints contiennent en petit nombre des particules virus de type C (BERNHARD⁴).

Chez un animal porteur de tumeurs mammaires mais ne présentant aucun signe clinique de leucémie les trois types de particules étaient associés: les tumeurs mammaires étaient remarquablement riches en particules A et B. Dans la moelle on trouvait dans les mégacaryocytes quelques particules C en formation.

L'ensemble de ces observations ne laisse aucun doute que dans la souche PS tumeurs mammaires et leucémies s'accompagnent d'agents viraux distincts et considérés comme spécifiques à chaque affection. Le caractère étiologique de ces agents a en effet été démontré par MOORE et LYONS⁵ pour la particule B dans les tumeurs mammaires et par DALTON et MOLONEY⁶ pour la particule C dans les leucémies de MOLONEY.

En ce qui concerne les batonnets leur signification n'est pas claire. Il n'est pas exclus qu'il s'agisse des micro-

⁵ D. H. MOORE et M. J. LYONS, *J. nat. Cancer Inst.* 31, 1255 (1963).

⁶ A. J. DALTON et J. B. MOLONEY, dans *The Interpretation of Ultra-structure* (Ed., R. J. C. HARRIS; Academic Press, New York and London 1962), vol. 1, p. 385.

tubules décrits par LEDBETTER et PORTER⁷ et récemment observés dans la glande mammaire normale (SANDBORN et al.⁸). De telles formations ont déjà été signalées dans les lymphomes de souris en relation avec les particules de type A (DALTON et al.⁹, KAKEFUDA et al.¹⁰). La présence de structures filamentueuses dans les lumières acineuses est en tous cas un fait très particulier.

Le dernier point intéressant à souligner dans les tumeurs mammaires examinées ici est la coexistence assez remarquable de virus et de phénomènes sécrétaires. Dans la cellule tumorale l'élaboration de grains de protéine s'effectue d'une manière analogue à celle qui se voit dans une glande mammaire lactante (HOLLMANN¹¹). Cela suggère manifestement l'intervention d'un facteur hormonal dont le rôle dans la génèse des tumeurs mammaires de la souche PS n'est certainement pas négligeable¹².

Summary. In the recently isolated Mouriquand strain of mice, virus-like particles of the A and B type are abundant in mammary tumours, and fewer particles of the C type are present in leukaemic and non-leukaemic

organs. In one animal all three kinds of particles have been shown. Striking cytological features of the mammary tumours are described.

K. H. HOLLMANN

Laboratoire de Microscopie Electronique, Chaire de Médecine Expérimentale du Collège de France, Hôpital Broussais, Paris (France), le 31 mai 1965.

⁷ M. C. LEDBETTER et K. R. PORTER, *Science* 144, 872 (1964).
⁸ E. SANDBORN, P. F. KOEN, J. D. McNABB, and G. MOORE, *J. Ultrastruct. Res.* 11, 123 (1965).

⁹ A. J. DALTON, M. POTTER et R. M. MERVIN, *J. nat. Cancer Inst.* 26, 1221 (1961).

¹⁰ T. KAKEFUDA, T. TANAKA et R. KINOSHITA, 5th Intern. Congr. Electron Microscopy, Philadelphia 1962.

¹¹ K. H. HOLLMANN, *J. Ultrastruct. Res.* 2, 423 (1959).

¹² L'auteur tient à remercier les Docteurs J. et C. MOURIQUAND qui ont bien voulu mettre ce matériel à sa disposition.

essentially show the same result as normal human red cells.

As a control, experiments with a mixture consisting of equal parts of acatalatic and normal blood (imitating

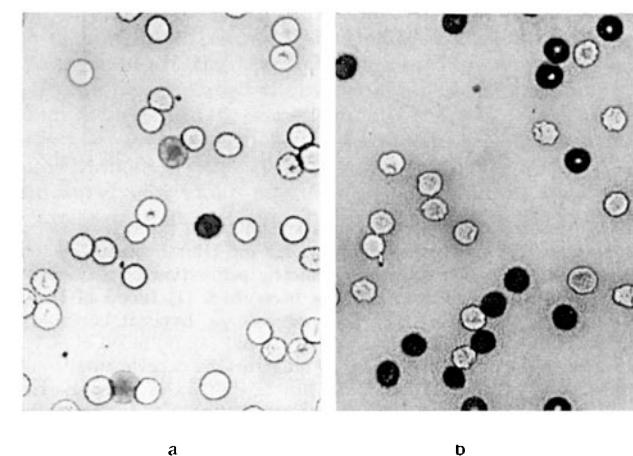


Fig. 1. a, Red cells of a homozygous case of acatalasia (M.V.). About 99% of all cells are eluted, $\frac{1}{2}$ -1% are not. b, 'Artificial' mixture of normal and acatalatic red cells in equal amounts (normal cells = not eluted; acatalatic cells = eluted). The smears have been deliberately made relatively thin.

¹ E. BEUTLER, *Cold Spring Harbor Symposia* 29, 261 (1964).

² H. AEBI, F. JEUNET, R. RICHTERICH, HEDY SUTER, R. BÜTLER, J. FREI, and H. R. MARTI, *Enzymol. biol. clin.* 2, 1 (1962/63); 4, 121 (1964).

³ O. WARBURG, W. SCHRÖDER, and H. W. GATTUNG, *Z. Naturforsch.* 15b, 163 (1960).

⁴ H. AEBI, J. P. HEINIGER, and H. SUTER, *Exper.* 78, 129 (1962).

⁵ H. AEBI, J. P. HEINIGER, and E. LAUBER, *Helv. chim. Acta* 47, 1428 (1964).

⁶ E. KLEIHAUER and K. BETKE, *Nature* 199, 1196 (1963).

Cellular Distribution of Catalase Activity in Red Cells of Homozygous and Heterozygous Cases of Acatalasia

Attempts have been made to determine whether Lyon's concept of gene inactivation, which is well established for X-chromosomes, could be extended to autosomes¹. Acatalas(aem)ia, an enzyme defect of autosomal recessive inheritance, seemed to be suitable for analysis in this respect: heterozygous individuals in Acatalasia families exert an intermediate catalase activity in red cells and other tissues, varying between 15-85% of the normal level². This may be either due to the presence of two cell populations, one of them being virtually free of catalase, or to one single cell population of intermediate enzyme activity. In order to decide between these possibilities, two types of experiments have been performed. Both of them make use of the fact that - under suitable experimental conditions - sensitivity of red cells towards H_2O_2 (or X-rays) largely depends on their catalase content^{3,4}.

First, a simple technique for the distinction of normal and acatalatic red cells in blood smears has been devised. A suspension (1.5 mg Hb/ml) of washed red cells is incubated in an isotonic, buffered medium containing glucose (5 mg/ml) and glucose oxidase (30 µg Deoxin 'Nagase'/ml) at 25°C for 30 min. Under these conditions, i.e. at an H_2O_2 -generation rate of $3.0 \cdot 10^{-9}$ Moles H_2O_2 min⁻¹ ml⁻¹ normal human red cells remain unaltered, whereas in acatalatic cells hemoglobin is completely oxidized to methemoglobin by H_2O_2 ⁵. After centrifugation of the suspension, the cells are washed, smeared and stained as described by KLEIHAUER and BETKE⁶. This differential staining technique is based on the fact that oxyhemoglobin but not cyanmethemoglobin is active as a peroxidase. In smears obtained by this procedure, erythrocytes of approximately normal catalase activity (normal human blood) are stained red; erythrocytes virtually free of catalase (acatalatic human blood) are eluted and appear as ghosts (Figure 1a). Erythrocytes from heterozygotes