

Etude histoautoradiographique et biochimique de la préhypophyse de *Carassius auratus*, après administration de $^{35}\text{SO}_4\text{Na}_2$

par M. DEMINATTI (*).

Dans des travaux antérieurs (1, 2) nous avons rapporté nos résultats concernant l'étude histoautoradiographique et histochimique de la préhypophyse de *Carassius auratus*, après administration de $^{35}\text{SO}_4\text{Na}_2$. Nous avons observé une intense fixation de radiosoufre dans les cellules préhypophysaires ayant les propriétés histochimiques suivantes : aldéhyde-fuchsine Gomori positives (AFG+), colorables par le bleu Alcian à $\text{pH} = 0,2$ et acide periodique - Schiff positives (PAS+). Ces caractères histochimiques sont en rapport avec la nature mucopolysaccharidique du contenu de ces cellules (3, 4, 5).

Il nous a paru opportun de déterminer par l'analyse biochimique la ou les formes chimiques du radiosoufre décelé par la technique histoautoradiographique au niveau de l'hypophyse de ce Poisson, après administration de radiosulfate (**).

Méthodes expérimentales. — Cette étude porte sur 233 Poissons, dont 69 ont été utilisés pour l'étude histologique et 169 ont servi à l'analyse biochimique. Les doses de radiosulfate administrées ont été de 2 à 5 microcuries par gramme de poids corporel. Les autopsies ont été pratiquées 24 heures après l'injection unique intrapéritonéale. Toutes les hypophyses ont été fixées au formol à 10 % ou au formol-Baker.

1. **ETUDE HISTOLOGIQUE.** — Les coupes ont été recouvertes par une émulsion photographique pelliculable (AR 10, Kodak). Après des temps d'exposition de 15 jours à 2 mois, nous avons procédé au développement. Nous avons pris les clichés photographiques des histoautoradiographies. Puis les coupes photographiées sont débarrassées de l'émulsion photographique et traitées par l'une des techniques suivantes : coloration au PAS, bleu Alcian à $\text{pH} = 0,2$ ou AFG après oxydation à l'acide permanganate-sulfurique. On rapporte ainsi l'intensité de l'incorporation de ^{35}S d'une cellule à ses propriétés histochimiques.

2. **ETUDE BIOCHIMIQUE.** — Parmi les hypophyses destinées à l'analyse biochimique et ayant subi le même traitement que les hypophyses conservées pour l'examen histologique (sauf l'inclusion à la paraffine) certaines ont été soumises à l'hydrolyse acide (HCl, 6N, pendant 12 heures à 110°).

(*) Avec la collaboration technique de M^{lle} G. Gerlinger.

(1) M. Deminatti, *Path. Biol.*, 1962, t. 10, p. 425.

(2) M. Deminatti, *C. R. Acad. Sc.*, 1962, t. 254, p. 1510.

(3) M. Herlant, *Ann. Histochem.*, 1958, t. 3, p. 67.

(4) M. Gabe, *Biol. Med.*, 1962, t. 51, p. 158.

(5) M. Olivereau, *Biol. Med.*, 1962, t. 51, p. 172.

(**) Nous adressons nos remerciements au Dr Fromageot (Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay) qui nous a prodigué de précieux conseils.

L'hyd
lyophil
avons d
groupe.
papier à
Puis les
que dan
en pen
Pour
histolog
physe n
après le
broyées

Bande
correspo
hypop
a. Aut
la ninh
bande d
aire ad
Noter
correspo

2 bande
du ^{35}SO
les mén
Dans
dioactif
bandes
15 jours

ue de la préhypophyse
ation de $^{35}\text{SO}_4\text{Na}_2$

ons rapporté nos résul-
que et histochimique de
près administration de
fixation de radiosulfate
propriétés histochimiques
ves (AFG+), colorables
riodique - Schiff positif
sont en rapport avec la
ces cellules (3, 4, 5).
ar l'analyse biochimique
décelé par la technique
ophyse de ce Poisson.

porte sur 233 Poissons,
ogique et 169 ont servi
sulfate administrées ont
es corporel. Les autopsies
unique intrapéritonéale.
ol à 10 % ou au formol.

été recouvertes par une
10, Kodak). Après des
us avons procédé au dé-
tographiques des histo-
ées sont débarrassées de
ne des techniques suivan-
0,2 ou AFG après oxyda-
rapporte ainsi l'intensité
propriétés histochimiques.

physes destinées à l'ana-
ment que les hypophyses
l'inclusion à la paraffine)
de (HCl, 6N, pendant 12

Gerlinger.

p. 1510.

Fromageot (Centre d'Etudes
écieux conseils.

L'hydrolysât radioactif est débarrassé de l'acide chlorhydrique par précipitation. Le résidu sec est dissous dans 0,05 ml d'eau. Nous avons divisé en 2 la solution d'hydrolysât d'hypophyses d'un même groupe. Chaque moitié de la solution est disposée sur une bande de papier à électrophorèse, et à une moitié nous avons ajouté du $^{35}\text{SO}_4\text{Na}_2$. Puis les 2 bandes de papier sont soumises à l'analyse électrophorétique dans les conditions suivantes : acide formique 2N, 10 volts par cm pendant 1 h 30.

Pour nous assurer de l'élimination complète, au cours de la fixation histologique, des ions radio-sulfate libres présents dans la préhypophyse nous avons procédé de la façon suivante : des hypophyses, après les différents traitements en vue de leur étude histologique, sont broyées ; le broyat correspondant à 1 ou 5 hypophyses est réparti sur



Bandes électrophorétiques et leurs autoradiographies. Les bandes b et d correspondent chacune à la moitié de la même solution d'un hydrolysât de 5 hypophyses.

a. Autoradiographie de la bande b ; b. Bande électrophorétique colorée à la ninhydrine de la moitié de l'hydrolysât ; c. Autoradiographie de la bande d ; d. Bande électrophorétique de la moitié de l'hydrolysât hypophysaire additionné de $^{35}\text{SO}_4\text{Na}_2$ à titre de témoin ; coloration à la ninhydrine.

Noter dans les deux cas la présence d'une unique zone radioactive qui correspond à une zone dépourvue de substance ninhydrine positive.

2 bandes de papier. Sur une des 2 bandes de papier nous avons ajouté du $^{35}\text{SO}_4\text{Na}_2$. Puis les 2 bandes sont analysées par électrophorèse dans les mêmes conditions que ci-dessus.

Dans toutes les expériences la détection du ou des composés radioactifs ainsi séparés est obtenue par l'étude autoradiographique des bandes de papier à électrophorèse (film Kodirex, durée d'exposition 15 jours à 2 mois).

De plus nous avons coloré à la ninhydrine les bandes de papier pour mettre en évidence les constituants protidiques séparés par l'électrophorèse.

Résultats. — 1. **ETUDE HISTOLOGIQUE.** — Ainsi que nous l'avons déjà signalé par ailleurs les cellules ou groupes cellulaires qui sont le lieu d'une intense fixation de ^{35}S sont colorables, après oxydation à l'acide permanganate-sulfurique, par l'AFG, le bleu Alcian à $\text{pH} = 0,2$ et présentent une réaction PAS+.

2. **ETUDE BIOCHIMIQUE.** — Les hypophyses fixées, broyées mais non hydrolysées par l'acide chlorhydrique ne renferment plus d'ions $^{35}\text{SO}_4$ libres ; la radioactivité reste localisée au point de départ sur le papier. On exclut leur éventuelle impossibilité de migration par le fait que du $^{35}\text{SO}_4\text{Na}_2$ ajouté au broyat avant l'électrophorèse a, dans les mêmes conditions, la mobilité du radiosulfate témoin.

Après hydrolyse, au contraire, l'unique zone radioactive décelable par autoradiographie sur les bandes d'électrophorèse, correspond à une substance qui migre de la même façon que le radiosulfate ajouté à l'hydrolysate avant l'électrophorèse (voir figure). De plus la nature non protidique de cette unique zone radioactive est démontrée par le fait qu'elle est dépourvue de substance ninhydrine positive (amino-acides soufrés).

Nous pouvons en conclure que le radiosoufre présent dans l'hydrolysate d'hypophyse fixée est sous forme de radiosulfate, et que le radiosulfate administré aux Poissons n'est pas métabolisé pour entrer dans la constitution d'amino-acides soufrés.

Conclusions. — L'étude histoautoradiographique de l'hypophyse de *Carassius auratus*, 24 heures après une injection de radiosulfate, montre que le maximum de la radioactivité correspond aux cellules qui sont AFG+, PAS+ et bleu Alcian+.

De l'analyse biochimique des hypophyses traitées selon la technique histologique nous pouvons conclure que la radioactivité visible sur les histoautoradiographies correspond à du radiosulfate non libre.

Nous sommes donc conduits à admettre que le radiosoufre présent dans les cellules AFG+ est intégré, à l'état d'ester sulfurique, vraisemblablement dans les constituants mucopolysaccharidiques du contenu de ces cellules.

(Institut d'Histologie de la Faculté de Médecine [Directeur : M. J. Aron] et Département des Applications Biologiques du Centre de Recherches Nucléaires [Directeur : M. J. H. Vivien], Strasbourg.)

Diminution

ou cours c

par F

Au cours de recherches sur le diabète chronique et l'hyperaldostéronisme, nous avons observé que la réduction de la radioactivité dans la lumière qui se fait de façon normale, nous avons observé une diminution de la radioactivité dans la lumière qui se fait de façon normale. En déterminant, dans les urines nous obtenons une diminution de la capacité de réabsorption.

Technique. — Nous avons utilisé des rats radiothyroïdectomisés depuis 230 jours et nourris avec 100 g d'aliment pour 100 g d'aliment simultanément des animaux privés de nourriture pendant 24 heures. Ils reçoivent du méthylène-bleu à 20 g pour cent de l'aliment assurant un débit sanguin normal. L'analyse précédente. Il est sta

(1*) F. Stephan, H. J. 155, p. 1555.

(2*) F. Stephan, H. J. 254, p. 571.

(3*) H. Jahn, P. Rev. 156, p. 367.

(4*) L. G. Wesson, V. Med., 1948, t. 24, p. 586.

(5*) G. H. Mudge, J. 158.

(6*) E. E. Windhager

BOLOGIE. COMPTES REND