

ENDOCRINOLOGIE. — *Recherches sur le test histochimique de la méthylation appliquée à l'étude de la préhypophyse chez Carassius auratus. Note (*) de M. MARC DEMINATTI (¹), transmise par M. Max Aron.*

Après administration de $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$, la méthylation des coupes d'hypophyses de *Carassius auratus*, précédée ou non de l'oxydation par l'acide permanganate-sulfurique, entraîne, dans les cellules A. F. G. +, B. A. +, la perte totale de la radioactivité due aux groupements $^{35}\text{SO}_4^-$.

En des recherches antérieures, nous avons observé, par la technique histoautoradiographique, après administration de $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$, chez *Carassius auratus*, une intense fixation de ^{35}S dans les cellules préhypophysaires aldéhyde-fuchsine-Gomori positives (A. F. G. +) et colorables par le bleu Alcian (B. A. +) après oxydation à l'acide permanganate-sulfurique. Par contre, après injection de ^{35}S -méthionine, la radioactivité dans ces mêmes cellules est très faible. Nous avons démontré que le ^{35}S décelé par la technique histoautoradiographique, après administration de $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$, se trouve intégré à l'état d'ester sulfurique, vraisemblablement dans les constituants mucopolysaccharidiques contenus dans ces cellules A. F. G. + [(²), (³)]. Les travaux sur la méthylation de S. Spicer et coll. (⁴) nous ont conduit à l'étude, chez ce Poisson, par la technique histoautoradiographique, des effets de la méthylation [(⁵), (⁶)] ou du lavage prolongé à l'eau distillée sur l'intensité de la radioactivité des coupes d'hypophyses, après administration de $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ ou de ^{35}S -méthionine.

MÉTHODES EXPÉRIMENTALES. — Cette étude porte sur 21 Poissons, dont 15 ont reçu une dose unique de 10 μCi de radiosulfate par gramme de poids corporel, et dont les six autres ont reçu 0,5 μCi de ^{35}S -méthionine par gramme de poids corporel.

Les autopsies ont été pratiquées 24 h après l'injection unique intraperitoneale. Les hypophyses ont été fixées au formol à 10 % ou au formol-Baker et débitées en coupes séries.

Les coupes appartenant à chaque hypophyse ont été disposées sur des lames réparties en trois groupes :

1^o Les lames du groupe 1 sont simplement séchées après déparaffinage et ne subissent aucun traitement avant d'être recouvertes par l'émulsion photographique.

2^o Les lames du groupe 2 sont oxydées par l'acide permanganate-sulfurique (2 mn), puis soit placées dans de l'eau distillée à 60° pendant 5 mn ou 5 h), soit méthylées selon le procédé de Fischer et Lillie (pendant 12 ou 24 h) (⁷).

3^o Les lames du groupe 3 sont traitées de la même façon que celles du groupe 2, mais sans avoir été soumises préalablement à l'oxydation par l'acide permanganate-sulfurique.

Ensuite, toutes les lames sont recouvertes par une émulsion photographique pelliculaire (AR 10, Kodak). Après une durée d'exposition de 2 mois, nous avons procédé au développement simultané de toutes les lames d'un même cas afin de pouvoir comparer les intensités du noircissement des émulsions photographiques.

Sur un certain nombre de lames nous avons pris des clichés photographiques des histoautoradiographies. Puis les coupes photographiées sont débarrassées de l'émulsion photographique et colorées à l'A. F. G. ou au B. A. On peut ainsi apprécier, pour une même cellule, l'intensité de la radioactivité et de la coloration à l'A. F. G. et au B. A.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX. — A. Après administration de $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$. — 1^o Étude de l'action du lavage par l'eau distillée : Les lames du groupe 1, témoin, nous permettent d'apprécier dans chaque cas l'intensité de la

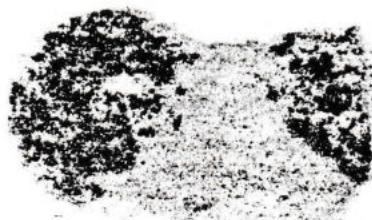


Fig. 1.

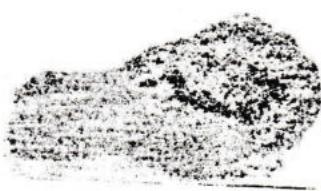


Fig. 2.

Fig. 1. — Histoautoradiographie, après injection de $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$, d'une coupe d'hypophyse de *Carassius auratus* après lavage à l'eau distillée à 60° pendant 5 mn.

Fig. 2. — Histoautoradiographie d'une coupe du même cas que la figure 1, après oxydation à l'acide permanganate-sulfurique et lavage à l'eau distillée à 60° pendant 5 mn.

Noter, au niveau des zones cellulaires A. F. G. +, la diminution de l'intensité de la radioactivité.

radioactivité et de la coloration des zones cellulaires A. F. G. + et B. A. + correspondantes.

Les lames du groupe 2 ayant séjourné 5 mn dans l'eau distillée à 60° présentent une faible mais nette diminution de l'intensité de la radioactivité sans modification notable de l'intensité de la coloration à l'A. F. G. et au B. A. des cellules correspondantes. Après le lavage à l'eau distillée pendant 5 h, l'affaiblissement de l'intensité de la radioactivité et de la coloration à l'A. F. G. et au B. A. est accentué.

La plupart des lames du groupe 3 ne présentent pas de diminution significative de l'intensité de la radioactivité. Nous n'avons pas noté dans ces cas de diminution appréciable de l'intensité de la coloration des cellules A. F. G. +, B. A. + (voir tableau).

	Intensité de la radioactivité des cellules AFG+, BA+.	Colorabilité des cellules par	
		l'A. F. G.	le B. A.
Lames témoins : groupe 1.....	+++	+++	+++
<i>Lavage à l'eau distillée à 60° : groupes 2 et 3.</i>			
a. Pendant 5 mn :			
1° Lames préalablement oxydées...	+++	+++	+++
2° Lames non oxydées.....	+++	+++	+++
b. Pendant 5 h :			
1° Lames oxydées.....	+	+	+
2° Lames non oxydées.....	+++ (ou +++)	+++ (ou +++)	+++ (ou +++)
<i>Méthylation : groupes 2 et 3.</i>			
a. Lames oxydées.....	o	o	o
b. Lames non oxydées.....	o	+++	+++

2° *Étude de l'action de la méthylation* : Alors que dans chaque cas les lames du groupe 1, témoin, montrent une évidente radioactivité, on observe, au niveau des lames des groupes 2 et 3, une disparition complète de la radioactivité.

Sur les coupes des lames du groupe 2, on constate une perte ou une forte diminution de l'intensité de la coloration des cellules A. F. G. +, B. A. +. Par contre, au niveau des coupes du groupe 3, nous n'avons pas noté de modifications de l'intensité de la coloration de ces cellules.

B. *Après administration de ^{35}S -méthionine.* — Quel que soit le traitement auquel ont été soumises les lames, nous n'avons pas noté de diminution significative de la radioactivité qui d'ailleurs se localise essentiellement au-dessus des zones cellulaires dépourvues de matériel A. F. G. + ou B. A. +.

CONCLUSIONS. — Nous pouvons conclure de cette étude que la méthylation des coupes d'hypophyses de *Carassius auratus*, précédée ou non de l'oxydation par l'acide permanganate-sulfurique, entraîne la perte totale de la radioactivité due aux groupements $^{35}\text{SO}_4^-$ présents dans les cellules A. F. G. + après administration de $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$. Cette perte n'est que partielle après lavage à l'eau distillée à 60° des coupes préalablement oxydées par l'acide permanganate-sulfurique.

Par contre, après administration de ^{35}S -méthionine, ni la méthylation, ni le lavage à l'eau distillée n'entraînent de diminution de la radioactivité due au ^{35}S qui, dans ce cas, est de nature protidique.

Il apparaît donc que la méthylation, précédée ou non de l'oxydation par l'acide permanganate-sulfurique, entraîne la désulfatation des coupes d'hypophyses de *Carassius auratus*. De plus, nos observations montrent que la coloration de certaines cellules à l'A. F. G. ou au B. A. n'est pas en rapport avec la présence de groupements SO_4^- dans ces cellules.

- (*) Séance du 27 mai 1963.
(¹) Avec la collaboration technique de M^{me} G. Gerlinger.
(²) M. DEMINATTI, *Comptes rendus*, 254, 1962, p. 1510.
(³) M. DEMINATTI, *C. R. Soc. Biol.* (sous presse).
(⁴) S. SPICER, R. L. SWARM et H. J. BURTNER, *Lab. Invest.*, 10, 1961, p. 256.
(⁵) in L. LISON, *Histo chimie et cytochimie animale*, Gauthier-Villars, Paris, 1960,
842 pages.
(⁶) M. HERLANT, *Ann. Histochem.*, 3, 1958, p. 67.

(Institut d'Histologie de la Faculté de Médecine de Strasbourg,
Département des Applications biologiques
du Centre de Recherches nucléaires de Strasbourg
et Institut d'Histologie de la Faculté de Médecine de Lille.)