

## BULLETIN MENSUEL

DE LA

**SOCIÉTÉ LINNÉENNE DE LYON**

FONDÉE EN 1822

RECONNUE D'UTILITE PUBLIQUE PAR DECRET DU 9 AOUT 1937

des SOCIÉTÉS BOTANIQUE DE LYON, D'ANTHROPOLOGIE ET DE BIOLOGIE DE LYON  
REUNIES

et de leurs GROUPES REGIONAUX : ROANNE, BOURGOIN, VALENCE, ANNECY, etc.

Siège Social et Secrétariat Général : 33, rue Bossuet, Lyon (6<sup>me</sup>)Trésorier : M. A. PONCHON, 30, rue Malesherbes, Lyon (6<sup>e</sup>)

ABONNEMENT ANNUEL	France et Colonies Françaises .....	500 francs
C. C. P. Lyon 101-98		

## PARTIE SCIENTIFIQUE

### Le Cancer et les Invertébrés

SECONDE PARTIE :

#### REACTIONS PROVOQUEES PAR LES SUBSTANCES CANCERIGENES

par Violaine WAUTIER et Jacques WAUTIER.

Dans le cadre de l'exposé que nous consacrons au problème de la cancérisation des Invertébrés, l'étude des divers cas de réactions tumorales naturelles décrits chez ces animaux<sup>1</sup> nous avait amené à conclure (1953) qu'aucune de ces manifestations spontanées n'était assimilable à un cancer de Vertébré.

Nous envisagerons dans les lignes qui suivent les réactions obtenues chez les Invertébrés par l'emploi de composés chimiques doués d'un pouvoir cancérigène vis-à-vis des tissus de Mammifères, c'est-à-dire capables « de provoquer l'apparition d'une tumeur maligne après une période de latence sensiblement constante ». (BOULANGER et OSTEUX, 1952, p. 611).

\*  
\*\*

C'est en 1914 que YAMAGIVA et ITCHIKAWA obtenaient le premier cancer expérimental provoqué par un agent chimique en badigeonnant au goudron les oreilles du Lapin. Depuis, on a découvert un nombre impressionnant de substances cancérigènes dont la liste s'allonge régulièrement<sup>2</sup>. Ce fut d'abord le premier carbure cancérigène, le 1-2-5-6 dibenzanthracène obtenu par Cook en 1930 ; puis toute la série des carbures cycliques dérivés du benzanthracène, du benzopyrène, du cholanthrène ; puis les benzacridines, composés hétérocycliques dans lesquels un carbone est remplacé par un azote ; puis les azoïques.

La découverte des premiers carbures cancérigènes apparut comme pleine de promesse : le fait qu'un facteur chimique puisse provoquer expérimentalement une néoplasie n'allait-il pas amener très vite à la compréhension de la genèse du cancer spontané ? De fait, l'analogie chimique entre certains carbures cancérigènes et certaines substances biologiques, les acides biliaires et les hormones à noyau phénanthrène par exemple, suggéra une très intéressante hypothèse, celle d'une déviation du métabolisme transformant, dans l'organisme, ces substances naturelles en carbures cancérigènes. Mais il restait à découvrir la cause d'une telle perturbation. De plus, dès 1934, LACASSAGNE obtenait des cancers mammaires chez la Souris en utilisant directement les hormones femelles.

Bientôt, la multiplicité des nouveaux agents cancérigènes décou-

---

1. Nous publierons prochainement quelques références bibliographiques complémentaires et des observations inédites aimablement communiquées par leurs auteurs.

2. Plus de 700 relevées par HARTWELL en 1941, selon BOULANGER et OSTEUX 1952.

verts, l'extrême diversité de leur nature chimique, le fait qu'une même substance puisse être tantôt carcinogène, tantôt carcino-inhibitrice, compliquèrent le problème.

Mais on doit reconnaître qu'en dehors de quelques cas (cancers des goudronneurs, par exemple) où la découverte des cancers chimiques expérimentaux a été utile en pathologie humaine, les carbures cancérigènes n'ont offert jusqu'ici qu'un instrument de travail. Alors que certains auteurs les utilisent simplement pour produire chez des animaux de laboratoire des tumeurs qu'ils soumettront ensuite à des traitements variés, d'autres essayent de découvrir le mécanisme intime de leur action. On peut se demander si l'action de ces carbures qui se manifeste finalement par l'apparition d'une tumeur maligne s'exerce seulement sur une ou quelques cellules, en provoquant par exemple une mutation somatique, ou bien si elle s'exerce sur l'organisme tout entier, en perturbant son métabolisme. On peut aussi se demander si ces composés accélèrent seulement les divisions cellulaires, ou bien s'ils détruisent quelques-uns des mécanismes régulateurs qui président à la multiplication et à la différenciation normales des cellules.

On s'est enfin demandé si ces substances exercent une action sur tous les êtres vivants : l'idée de tenter la cancérisation d'Invertébrés par les agents chimiques qui provoquent de véritables cancers chez les Mammifères est déjà ancienne puisque dès 1930, LABBÉ faisait agir le goudron sur des Mollusques.

L'étude de l'action des substances cancérigènes sur les Invertébrés a donné lieu à des travaux variés : variés par les groupes zoologiques dans lesquels ont été choisis les animaux d'expérience, variés par les substances utilisées, variés enfin par les problèmes auxquels s'attachaient les auteurs.

Les réactions histologiques présentées par les animaux soumis à l'influence de ces composés n'étant évidemment comparables que chez des animaux voisins, nous présenterons les résultats obtenus en les réunissant par groupes zoologiques.

### 1°. Coelentérés.

Dès 1935 deux auteurs américains, REIMANN et HAMMET se posaient une double question : les substances cancérigènes peuvent-elles agir sur n'importe quel être vivant. Si oui, un des processus du développement est-il suffisamment affecté pour qu'une néoplasie apparaisse ?

Un animal peu élevé en organisation, l'Hydraire marin *Obelia geniculata*, fut choisi pour les expériences, ces auteurs pensant pouvoir distinguer ainsi plus facilement les effets du facteur chimique sur chacune des manifestations du développement : prolifération, différenciation, organisation.

Certaines colonies de l'Hydraire furent mises dans de l'eau de mer contenant du 1-2-5-6 dibenzanthracène (REIMANN et HAMMET, 1935) et d'autres dans de l'eau de mer renfermant du méthylcholanthrène (HAMMET et REIMANN, 1935). La présence de ces carbures stimule la croissance d'*Obelia* en activant la prolifération cellulaire. Mais cette croissance reste normale : il n'y a pas de formation tumorale. Ainsi ces agents cancérigènes ont bien un effet stimulant sur les phases les plus précoces du développement ; cet effet s'exerce même chez les organismes primitifs, mais « la prolifération seule ne conduit pas à la malignité ».

## 2°. Turbellariés.

OWEN, WEISS et PRINCE (1939) examinent l'influence de quelques cancérigènes sur la régénération d'une planaire, *Euplanaria dorotocephala*. Dans un milieu contenant du dibenzanthracène ou du méthylcholanthrène, la régénération d'une tête ou d'une queue se fait en 120 heures au lieu de 144 à 168 chez les animaux témoins. Il y a donc une activation très nette de la régénération. Le dibenzanthracène accélère aussi la multiplication : au bout d'un mois il y a 45 % d'animaux en plus.

L'étude histologique montre que les tissus des animaux qui ont subi l'action des cancérigènes ne présentent pas de différences avec ceux des témoins.

## 3°. Mollusques.

### LAMELLIBRANCHES.

THOMAS (1932 b, p. 86 en note) signale qu'il a inoculé dans le pied 13 Unios et 6 Anodontes avec un broyat homologue de branchies et de glandes sexuelles mélangées à du goudron sans obtenir de résultats intéressants.

### GASTROPODES.

En introduisant des stylets de celloïdine dans le manteau de *Doris tuberculata* Cuvier, LABBÉ (1928, 1929) obtient, par un processus assez complexe, la formation d'un nouveau tissu conjonctif : il y a d'abord une importante migration d'amoebocytes qui s'agglutinent et se fusionnent en un plasmodium. Celui-ci subit bientôt une nécrobiose dégénérative et se morcelle en cellules fusiformes à linome ; elles évoluent en desmoblastes que l'auteur identifie avec les fibroblastes, c'est-à-dire les amoebocytes quiescents. Ces desmoblastes s'agglutinent à leur tour, le linome disparaît tandis que se forment les fibrilles conjonctives.

L'année suivante, LABBÉ eut l'idée de faire subir aux *Doris* l'action du goudron ; les badigeonnages n'étant pas possibles chez ces Mollusques, il introduisit dans le manteau des stylets de celloïdine trempés dans du goudron. Il observe, au début, une accumulation d'amoebocytes qui phagocytent et même transportent des gouttelettes de goudron. Puis, vers le 24<sup>e</sup> jour, apparaissent des amas de fibroblastes, disposés en files, indifférenciés, constituant un pseudoépithélium qui englobe des cellules géantes semblant provenir des cellules de Langer. Dans ce nouveau tissu qui est formé par des fibroblastes émigrés et qui « paraît s'accroître par migrations de nouveaux amoebocytes, ... pas de mitoses, quelques amitoses ». Et l'auteur conclut : « le goudron paraît produire chez les *Doris* un processus cancérigène d'origine fibroblastique, différant en beaucoup de points de celui des Mammifères ».

Développant en 1934 l'exposé et la discussion de ses résultats, LABBÉ distingue cette réaction, d'une part des phénomènes inflammatoires puisque l'opération subie par le Mollusque est aseptique, d'autre part des phénomènes de régénération. Il qualifie de néogénèse la formation de ce tissu nouveau qui est différent selon qu'il a été produit par la celloïdine pure ou bien par la celloïdine goudronnée.

Nous admettons volontiers que ce processus réactionnel n'est ni une inflammation banale, ni une régénération normale ; il nous paraît plus discutable de le qualifier de « cancérigène », alors que les migra-

tions l'emportent tellement sur les divisions cellulaires et que l'auteur affirme lui-même : « de l'inhabituel, peut-être ! Du désordre, non ».

#### CEPHALOPODES.

L'observation de lésions naturelles et la découverte de quelques cas de tumeurs spontanées bénignes chez les Céphalopodes ont conduit A. JULLIEN et ses collaborateurs à étudier les réactions de ces animaux vis-à-vis de diverses substances. Les expériences ont été réalisées avec la Seiche (*Sepia*), le Poulpe (*Octopus*) et l'Elédone (*Eledone*) ; la substance est introduite dans le derme de la paroi du sac palléal.

L'introduction de goudron (JULLIEN, 1940) détermine en quelques jours la fissuration des téguments autour de la zone lésée : il y a ainsi formation d'une escarre qui est éliminée. « En injection sous cutanée, conclut l'auteur, le goudron est, chez les Céphalopodes, dépourvu de pouvoir cancérigène ».

La formation d'un sillon d'élimination qui limite une escarre et provoque sa chute a été également obtenue par la pourpre de Murex, le chlorure de cobalt, le xylol (JULLIEN et JACQUEMAIN, 1947).

Des molécules polaires, c'est-à-dire présentant un déséquilibre électrique, ont été aussi introduites chez la Seiche (JACQUEMAIN et JULLIEN, 1947) ; il s'agit des trois isomères (ortho, méta et para) du dichlorobenzène, du chloronitrobenzène et du dinitrobenzène. Certains de ces composés, bien qu'ayant une forte polarité, produisent des lésions limitées, éliminées sous forme d'escarre ; d'autres molécules, bien que douées d'une polarité moindre, provoquent la formation d'un sillon, mais la lésion s'étend en dehors du sillon.

JULLIEN, JULLIEN et RIPPLINGER (1951) obtiennent encore chez la Seiche la production et le rejet d'une escarre avec un broyat d'hétopancréas de Seiche, un broyat de corps blanc de Seiche, une solution huileuse de dihydroandrostérone, du chlorure de cobalt, du chlorure et du nitrate de chrome, du chlorure de zinc, de l'acide arsénieux, de l'écarlate R, du Soudan III, de l'aniline et de la naphtylamine. Avec ces deux substances, particulièrement agressives, la lésion progresse après l'élimination de l'escarre et le muscle du manteau est atteint de nécrose envahissante.

Dans tous les cas, ce sont les cellules sanguines qui sont responsables du processus réactionnel. Les leucocytes dont le cytoplasme est rempli de granulations éosinophiles émigrent vers le corps étranger, s'agglomèrent autour de la zone nécrosée et libèrent des ferments protéolytiques qui produisent l'histolyse et la rupture des fibres conjonctives et musculaires ; le sillon se forme par apparition de petites brèches au sein de cette barrière leucocytaire. Lorsque l'escarre est éliminée, les leucocytes se disposent en strates superposés et constituent le tissu cicatriciel.

Très différente est la réaction de la Seiche au 1-2-5-6 dibenzanthracène (JACQUEMAIN, JULLIEN et NOËL, 1947). L'introduction de quelques paillettes sous la peau du sac viscéral provoque la formation d'une tumeur qui se développe très rapidement (plusieurs centimètres en quelques jours) et de laquelle se détachent des lambeaux de tissus putréfiés. Il n'y a aucune tendance à la formation d'un sillon, donc à l'élimination de la masse tumorale.

L'examen histologique révèle la disparition de l'épithélium de revê-

tement, la rupture de la ligne des chromatophores, l'épaississement considérable du derme. Celui-ci contient des cellules arrondies, les histiocytes, qui sont disséminées sans ordre et ont subi une autolyse massive ; les autres éléments du conjonctif normal, les cellules fusiformes, ont disparu. « Il s'agit, en somme, d'une infiltration histiocytaire de toute la couche dermique, au niveau du point d'injection, par des cellules présentant, toutes, des lésions de dégénérescence et de lyse protoplasmique marquées ».

JULLIEN et JACQUEMAIN (1947) concluent : « la lésion déclanchée par le dibenzanthracène est rapidement envahissante et l'animal s'avère impuissant à la juguler par ses moyens de défense habituels ». Et, JULLIEN, JULLIEN et RIPPLINGER n'hésitent pas à affirmer, en 1951 que, chez les Céphalopodes. « certaines substances, dites « cancérigènes », sont susceptibles de provoquer le développement de lésions spéciales, brutalement extensives, et assimilables à de véritables cancers ». Pourtant, que la lésion s'étende très rapidement, que les leucocytes ne soient pas capables de réagir pour éliminer la zone nécrosée et l'agent chimique responsable de la nécrose, ne nous paraissent pas des arguments suffisants pour assimiler à un véritable cancer un épaississement du derme provoqué par une infiltration d'histiocytes ; cette masse putréfiée, ce tissu aux éléments agonisant ou décomposés, ne semble pas, en effet, comporter de cellules qui, par leur prolifération intense, en ferait une indiscutable tumeur maligne. Récemment, d'ailleurs, JULLIEN, JULLIEN et RIPPLINGER (1953) ont obtenu, chez la Seiche, avec le dibenzanthracène, une réaction en deux temps : il y eut, d'abord, rejet d'une volumineuse escarre, les leucocytes étant arrivés nombreux et ayant formé un sillon d'élimination ; puis, la nécrose, amorcée par le produit avant qu'il soit éliminé avec l'escarre, s'est étendue rapidement et a affecté tous les constituants de la peau ainsi que les leucocytes immigrés et même le muscle sous-jacent. Enfin, en faisant agir au préalable un facteur de diffusion, l'hyaluronidase, JULLIEN et JULLIEN (1954) ont obtenu, avec du formol, une lésion extensive, sans sillon ni escarre, par « blocage leucocytaire ». Il semble ainsi prouvé que la nécrose envahissante provoquée en 1947 par le dibenzanthracène chez la Seiche n'est pas une tumeur cancéreuse : les leucocytes, rapidement affectés par ce produit particulièrement actif, n'ont pas eu la possibilité de réagir en s'accumulant autour de la zone altérée. Chez la Seiche, le dibenzanthracène tue les cellules, il ne stimule pas leur prolifération.

Le Poulpe, par contre, est capable de réagir efficacement au dibenzanthracène. JULLIEN, JULLIEN et RIPPLINGER, ayant introduit en 1952 quelques cristaux dans le derme de ce Mollusque, ont observé une réaction leucocytaire très rapide et particulièrement puissante ; après le rejet de l'escarre, les tissus restants ne présentaient aucun signe de dégénérescence.

#### 4°. Annélides.

Reprenant sur des Invertébrés des expériences qui, à cette époque, avaient permis d'obtenir quelques cancers chez des Vertébrés, la Poule et le Rat notamment, THOMAS (1931, 1932 a et b) injecte à *Nereis diversicolor* O. F. Müll. des produits chimiques (arsenic, indol ou coaltar) mélangés à des extraits organiques divers (pulpe d'embryons de poulet,

broyat d'oocytes de *Paracentrotus lividus*, lysat de sang et d'œufs de *Nereis diversicolor*). Après 29 jours, une seule *Nereis* sur les 24 inoculées avec un extrait organique hétérologue, une de celles qui avaient reçu le mélange embryon de poulet-arsenic, a présenté un petit nodule contenant des oocytes dégénérés ; sur les 9 *Nereis* inoculés avec l'extrait organique homologue et de l'arséniate de soude, une seule a formé un nodule. Dans les deux cas, il ne s'agit que de réactions inflammatoires simples.

Les résultats que vient d'obtenir GERSCH (1954) avec le Ver de terre, *Lombicus terrestris*, paraissent d'un grand intérêt.

Cet auteur utilise du benzopyrène, du méthylcholanthrène et du diméthylbenzanthracène en solution à 0,5 % dans du cetiol, qu'il applique par badigeonnage, comme on le fait chez les Mammifères. C'est la première fois, à notre connaissance, que ce mode opératoire est utilisé pour un Invertébré.

Après dix semaines d'un traitement comportant deux badigeonnage hebdomadaire de vingt minutes, GERSCH observe chez certains individus une légère hyperplasie ou même un début de bourgeonnement, généralement à l'emplacement badigeonné mais parfois en un autre endroit du corps.

L'examen histologique montre que l'épithélium, normalement simple, subit dans la région lésée une multiplication importante.

Les préparations au Feulgen montrent un enrichissement caractéristique en acide thymonucléique. Il y a là la première indication d'un processus de prolifération à venir.

Pour GERSCH les cancérigènes peuvent donc produire chez les Invertébrés un bouleversement cellulaire caractéristique qui mène à la formation d'une zone où peut se développer une tumeur.

A partir de la masse épithéliale pluristratifiée se produisent des infiltrations dans la couche des muscles circulaires sous-jacents qui est complètement désorganisée.

Un tel processus présente-t-il les caractères de la malignité ? Il faut attendre, pour pouvoir répondre à cette question, la publication prochaine, annoncée par l'auteur, du détail de ses résultats. On aimerait en particulier savoir ce qu'il advient de Vers de terre laissés en vie à la fin du traitement.

##### 5°. Crustacés.

Cherchant à préciser l'influence du radical sulfhydryl sur les proliférations cellulaires, HAMMET et HAMMET (1932) font agir le p-thiocrésol sur la pince en régénération de *Pagurus longicarpus*. Alors que la lésion expérimentale d'une pince, en cours de régénération, entraîne le développement d'une excroissance aberrante dans 75 % des cas, cette excroissance se produit toujours et elle est beaucoup plus volumineuse lorsque le Bernard l'Ermite a été traité au thiocrésol. Dans quelques cas, le thiocrésol seul, en l'absence de traumatisme, provoque la formation, à l'extrémité de la pince, d'une excroissance anormale. Constituée de cellules épithéliales sans chitine, cette masse tissulaire, complètement désorganisée et aberrante serait comparable, pour les auteurs, à une tumeur maligne. En l'absence d'une étude cytologique détaillée et surtout de précisions sur l'évolution et l'extension possible de cette tumeur, il nous semble qu'un doute subsiste : il ne faut pas

oublier que cette excroissance s'est développée dans un organe en régénération qui était donc déjà normalement le siège d'une prolifération intense.

La présence d'hydrocarbures aromatiques polycycliques, notamment de 3-4 benzopyrène, a été constatée par SHIMKIN, KOE et ZECHMEISTER (1951) dans certains Anatifes de Californie (*Tetraclyta squamosa rubescens* et *Mitella polymerus*). Ces auteurs, ayant vérifié que ces carbures ne sont pas un produit normal du métabolisme de ces animaux, pensent qu'ils ont leur origine dans les produits goudronneux des bateaux. Les extraits de ces Anatifes injectés à des souris C3H provoquent des sarcomes histologiquement semblables à ceux qui sont induits par le 3-4 benzopyrène. Du point de vue qui nous intéresse ici, il ne semble pas que la présence de ces hydrocarbures dans leurs tissus affecte les Anatifes, car il n'est fait aucune mention d'un processus réactionnel quelconque chez ces animaux.

### 6°. Insectes.

#### DROSOPHILES.

De tous les Invertébrés, c'est *Drosophila melanogaster* qui présente les tumeurs spontanées les plus fréquentes et aussi les plus variées. Aussi conçoit-on que cette mouche ait été soumise à l'action des cancérigènes les plus divers.

Mais il est curieux que le but des auteurs de ces expériences n'ait pas été d'obtenir l'apparition de tumeurs alors qu'ils utilisaient l'un des très rares Invertébrés susceptibles de tumorigenèse spontanée. Partant de l'hypothèse que le cancer tire peut-être son origine d'une mutation somatique, la presque totalité des auteurs ont cherché à préciser si les substances douées d'un pouvoir carcinogène étaient également douées d'un pouvoir mutagène. La *Drosophila* était évidemment le matériel biologique le plus désigné pour la recherche de l'aptitude d'une substance à provoquer des mutations.

Dès 1938, SACHAROV, en faisant agir sur des œufs, une solution de méthylcholanthrène, obtenait une légère augmentation du taux des mutations léthales spontanées qui passait de 0,25 % à 0,62 %.

Mais la même substance introduite sous forme de cristaux, par AUERBACH (1940), dans le corps de femelles adultes ne produit pas d'effet mutagène, non plus d'ailleurs que le 1-2-5-6 dibenzanthracène ni le 9-10-diméthyl-1-2 benzanthracène injectés en solutions colloïdales à des larves ou à des adultes mâles et femelles.

Cependant quelques années plus tard, AUERBACH et ROBSON, obtiennent une faible augmentation du taux des mutations léthales (il passe de 0,4 % à 2,2 %) avec l'essence de moutarde ou isothiocyanate d'allyle (1944) et une augmentation plus importante (de 0,2 % à 7 %) en soumettant des mâles à des vapeurs de gaz moutarde ou sulfure d'éthyle dichloré (1946).

C'est par une méthode très originale que HADORN et NIGGLI (1946) provoquent des mutations avec le phénol.

Ces auteurs prélèvent les gonades de larves âgées, appartenant à un stock sauvage ; les gonades isolées sont plongées pendant 15 minutes dans une solution saline contenant du phénol à la concentration de 1/10.000 ; après ce traitement, elles sont greffées à des larves d'un stock différent. Il arrive que les gonades implantées établissent leur jonction

avec les gonoductes de l'hôte ; dans ce cas, des mutations sont observées chez les descendants issus de l'activité de ces gonades, soit directement, soit à la suite d'expériences de croisement. Le traitement des testicules affecte le chromosome X, celui des ovaires le chromosome II ; c'est ainsi que sur 407 chromosomes II testés, les auteurs ont obtenu 6 mutations visibles, 12 semi-léthales et 46 léthales.

Considérant, d'une part, que la molécule de l'acénaphthène représente une partie de celle du cholanthrène et, d'autre part, que certains auteurs reconnaissent à ce composé une tendance carcinoinhibitrice chez la Souris, ZIVIN (1946) se demande quel effet cette substance est susceptible d'avoir sur les cellules animales. Il alimente des mouches femelles de la lignée white ainsi que les larves issues de leur ponte avec de la nourriture additionnée d'acénaphthène. Des résultats du croisement des femelles provenant de ces dernières larves avec des mâles de la lignée Florida, ZIVIN conclut que cette substance provoque une non-disjonction des chromosomes X.

Il est intéressant de constater qu'avec un carcinogène, FABIAN et MATOLTSY (1947) obtiennent à l'inverse une diminution de la fréquence de la non-disjonction des chromosomes X.

Ces auteurs élèvent des *Drosophiles* du stock white sur un milieu contenant du benzopyrène, à la concentration de 30 mgr de carbure cristallisé pour 4,5 gr de nourriture à la levure. Les animaux sont maintenus à l'abri de la lumière<sup>1</sup>. La présence du carbure dans l'organisme est contrôlée au microscope à fluorescence ; les tissus qui contiennent du benzopyrène manifestent une forte fluorescence bleu foncé, tandis que les tissus des animaux non traités ne présentent qu'une légère fluorescence verdâtre.

Par cette méthode, la dispersion dans tout l'organisme du carbure absorbé a pu être suivie. C'est ainsi que chez les larves, le benzopyrène s'accumule dans les parois de l'intestin, les tubes de Malpighi et surtout les corps gras ; il y en a moins dans les disques imaginaires et les ganglions cérébraux, pas du tout dans les glandes salivaires ni dans les glandes sexuelles. Pendant la métamorphose la fluorescence persiste ; et si les imagos sont remises à un régime normal, elle persiste encore 72 heures. Les imagos nourries au benzopyrène, ont tous leurs organes, sauf les muscles, imprégnés de ce produit ; et les femelles ainsi traitées pondent des œufs fluorescents.

Le résultat le plus remarquable de ce travail, à notre avis, est que les auteurs ont alimenté ainsi, pendant 6 générations, 2.000 individus sans qu'il ait été constaté aucune sorte d'anomalie qui puisse témoigner d'un trouble du développement ». Si le benzopyrène, malgré sa présence dans des organes variés et durant toute la vie de l'animal ne

---

1. Cette précaution est nécessaire car le 3-4 benzopyrène, le méthyl-cholanthrène et le 1-2-5-6 dibenzanthracène sont des substances fluorescentes. Or il est connu que les cellules vivantes qui ont été traitées avec un composé fluorescent, qu'il soit cancérigène ou non, et qui sont ensuite irradiées, périssent.

MATOLTSY et FABIAN (1947) ont fait l'expérience témoin pour leurs larves de *Drosophiles* élevées sur milieu standard additionné de 0,1 g de carbure par 13 g de milieu. Les larves élevées sur milieu au benzopyrène puis irradiées à l'U. V. meurent après 6 minutes 1/2 d'irradiation en moyenne ; celles élevées sur milieu au méthylcholanthrène, après 13 minutes 1/2 ; celles élevées sur milieu au dibenzanthracène, après 19 minutes 1/2. Les larves élevées sur milieu standard seul ne meurent qu'au bout de 40 minutes environ.

manifeste aucune influence cancérigène, il exerce, par contre, un effet sur la disjonction des chromosomes X. Alors que dans la descendance des mouches témoins de cette lignée, on observe 0,2 % de non disjonction, dans la descendance des mouches qui ont absorbé du carbure, il n'y en a plus que 0,04 %. Les auteurs suggèrent que c'est peut-être en modifiant la viscosité du plasma de l'œuf que le benzopyrène favorise la séparation des chromosomes X.

L'effet mutagène obtenu par AUERBACH et ROBSON avec le gaz moutarde, ayant montré que les substances chimiques sont actives à l'état gazeux, DEMEREC (1947 a et b) place des *Drosophiles* dans une atmosphère qui contient un aérosol d'une solution de la substance étudiée. Le traitement de mâles par des aérosols de moutarde à l'azote, c'est-à-dire de méthyl-bis ( $\beta$ -chloro-éthyl) amine et de quatre carcinogènes, le 1-2-5-6 dibenzanthracène, le méthylcholanthrène, le benzopyrène et la  $\beta$ -naphtylamine a produit chaque fois une augmentation du taux des mutations léthales affectant le chromosome X. Et l'auteur conclut : « cette étroite relation entre le pouvoir carcinogène et le pouvoir mutagène donne un support expérimental à l'hypothèse que le cancer peut provenir du résultat d'une mutation survenant dans une cellule somatique ».

Poursuivant ses recherches, DEMEREC (1948 a et b) soumet de nouveau des mâles à une série de dix-neuf aérosols différents. Ses résultats sont les suivants : le 1-2-5-6 dibenzanthracène, le 3-4 benzopyrène et l'hydroxyazobenzène induisent à la fois des mutations léthales et des aberrations chromosomiques ; le benzanthracène, le diméthylamineazobenzène, le 2 amino-5-azobenzène provoquent plutôt des aberrations chromosomiques ; enfin le 20 méthylcholanthrène et le p.aminoazobenzène provoquent des mutations léthales. Constatant que sur 7 carcinogènes, 6 sont mutagènes et que sur 9 non carcinogènes, 3 seulement sont mutagènes (dont 1 douteux), DEMEREC confirme sa précédente conclusion.

Mais, en 1949, DEMEREC, WALLACE, WITKIN et BERTANI, bien qu'ils aient utilisé la même méthode des aérosols, ne sont pas parvenus à reproduire ces résultats.

On peut rapprocher de ce dernier échec les résultats publiés par BRANDT et HOHNE (1952). Ces auteurs injectent dans l'abdomen de la *Drosophile* de l'éthyluréthane, de la tri-chloro-éthyl-2-amine, de la méthyl-2-naphtohydroquinone 1-4, du diamidino 4-4 stilbène et du diméthyl-4-amino azobenzène. BRANDT et HOHNE n'obtenant aucun effet mutagène concluent qu'« il n'y a aucune preuve de la filiation par mutation dirigée entre cellules cancéreuses et cellules saines ».

Une autre série de travaux mentionne l'apparition de tumeurs.

RAPOPORT (1939) place des œufs et des larves de *Drosophile* sur un milieu nutritif additionné de composés du mercure, de l'antimoine, de l'arsenic, du bore, de l'argent ou du sélénium. Il observe, chez les adultes provenant de ces œufs ou de ces larves, des morphoses, variations non héréditaires, qui se développent dans la plupart des cas chez 100 % des individus, varient avec le composé utilisé et reproduisent des mutations connues telles que « minute », « ski », « chagrin », « eyeless », « yellow », etc... Outre ces phénocopies, les composés arséniés et borés pro-

voquent chez les larves l'apparition de tumeurs mélaniques, semblables aux tumeurs spontanées héréditaires, et qui entraînent la mort de la plupart des larves.

D'après BURDETTE (1950 a), GOWEN, BRIDGES et BREHM auraient obtenu en 1941, avec le benzopyrène, une mutation sur le chromosome III produisant des lésions mélaniques dans l'abdomen, le thorax et la tête.

BIRD et FAHNY (1952) reprennent l'hypothèse d'un lien possible entre cancer et mutation. L'action carcino-inhibitrice d'une substance étant d'autre part fréquemment accompagnée d'altérations chromosomiques, ces auteurs se demandent s'il existe une relations entre les propriétés mutagène, carcinogène et carcino-inhibitrice.

Des *Drosophiles* de la lignée sauvage Orégon K furent soumises à l'action de composés dont la double propriété carcinogène et carcino-inhibitrice fut vérifiée sur le Rat ou la Souris.

En injection dans l'hémocoèle d'adultes mâles, le 1:2, 3:4 diepoxybutane provoque 10,3 % de mutations léthales, la 2:4:6-tri(éthylène-imino)-1:3:5-triazine, 18 %, contre 0,2 % pour les témoins. Mélangées à la nourriture des larves, la N-di-(2-chloroéthyl)-p-toluidine en produit 2,8 %, la  $\beta$ -naphtyldi(2-chloropropyl)-amine, 2,3 % et la  $\beta$ -naphtyldi(2-chloroéthyl)-amine, 0,8 %.

Enfin, dans la descendance d'un seul mâle issu d'un groupe de larves élevées sur milieu au diepoxybutane, apparut une mutation liée au sexe et se manifestant par la formation de tumeurs mélaniques ; ces tumeurs, apparentes aux derniers stades larvaires, passaient chez l'adulte. Cette mutation affectant la viabilité de la mouche fut considérée comme semi-léthale.

BURDETTE (1950 a, b, c), en faisant agir sur des femelles du stock tu g du 20 méthylcholanthrène en aérosol, obtient une très légère augmentation du taux des mutations léthales (0,099 % contre 0,071 %) ; l'augmentation est plus importante (0,874 %) avec une moutarde à l'azote, le chlorhydrate de méthyl bis ( $\beta$ -chloroéthyl) amine.

Puis (1951 a), ayant mis au point une méthode qui lui permet, par une combinaison de croisements, de déterminer simultanément l'incidence des tumeurs et le taux de mutations léthales consécutives à l'administration d'un agent chimique, il soumet à l'action de diverses substances des *Drosophiles* appartenant à une lignée tumorale (tu 36 a).

Le traitement des mâles par du formol à 0,1 % (1951 b) produit une augmentation du taux des mutations léthales sur le chromosome X mais ne modifie pas la fréquence des tumeurs. A la suite de ce résultat l'auteur conclut : « ces faits ne sont pas en faveur de l'hypothèse selon laquelle la croissance atypique serait le résultat d'une mutation somatique ».

Le diéthylstilbestrol (1951 c) n'a d'effet ni sur le taux des mutations ni sur la fréquence des tumeurs.

Le 20 méthylcholanthrène (1952 a) augmente la fréquence des tumeurs : lorsque des imagos sont soumises 30 secondes toutes les 1/2 heures, pendant 24 heures, à un aérosol de ce carbure dans l'huile de sésame, le pourcentage des tumeurs chez les mâles passe de 1,57 à 4,07 et chez les femelles de 0,41 à 4,81. Mais le taux des mutations léthales n'est pas modifié.

Enfin (1952 b), la moutarde à l'azote, chlorhydrate de méthylbis

(2-chloroéthyl) amine, administrée en aérosol (1 % dans du propylène glycol) à des imagos augmente à la fois la fréquence des tumeurs (chez les mâles de 1,39 à 10 % et chez les femelles de 0,21 à 5,66 %) et le taux des mutations léthales (de 0,9 % à 2,04 %).

Comparant l'ensemble de ses résultats sur la lignée tu 36 a, BURDETTE constate cependant « que l'accroissement du taux des mutations à la suite d'un traitement n'est pas toujours associé à l'accroissement du nombre des tumeurs et que l'accroissement du nombre des tumeurs après un traitement n'est pas toujours associé à un taux de mutations plus élevé ».

#### BLATTES.

NOLAND et BAUMANN (1949) nourrissent de jeunes larves de *Blatella germanica* L. avec des aliments contenant jusqu'à 0,2 % de p-diméthylaminoazobenzène, ou de m'-méthyl-p-diméthylaminoazobenzène, substances qui, chez le rat, provoquent le cancer du foie, ou bien d'aminoozobenzène, non cancérigène. Ces auteurs constatent que la Blatte tolère bien le traitement : la vitesse de croissance, la reproduction et la durée de vie des insectes ne sont guère modifiées. Cependant, après plus de 100 jours de traitement, la dissection d'une centaine de Blattès révéla de légères lésions du tube digestif, sous forme de petites taches noires. Mais ce sont surtout les tubes de Malpighi qui sont affectés. Dans la partie voisine de l'intestin, ils présentent de volumineuses vésicules, les plus grosses pouvant atteindre 10 fois le diamètre de l'intestin ; elles ont une paroi plus ou moins épaisse et sont remplies de liquide. NOLAND et BAUMANN pensent qu'il ne s'agit pas là d'une prolifération maligne mais plutôt d'une distension des tubes provoquée par l'accumulation de substances qu'ils ne sont pas capables d'éliminer.

Les réaction d'une autre Blatte, *Periplaneta americana*, à un carbure cancérigène ont été étudiées par SCHLUMBERGER en 1952. L'agent chimique en poudre est ici introduit directement dans la cavité du corps, par une incision des téguments pratiquée à la face dorsale ou à la face ventrale de l'abdomen. 160 Blattès adultes, mâles ou femelles, ont été ainsi traitées au méthylcholanthrène, tandis que quelques témoins subissaient seulement l'incision.

Quelques heures après l'opération, l'auteur observe autour des particules de carbure une accumulation d'hémocytes qui bientôt s'allongent puis se fusionnent en un réseau syncytial ; il y a ainsi formation d'une sorte de capsule dont les cellules centrales dégèrent en quelques jours.

D'autre part, la lésion s'étend à divers organes. Dans les ovaires ou le corps gras, la réaction est marquée par une accumulation d'hémocytes.

Les trachées lésées s'entourent aussi d'hémocytes ; puis, les cellules trachéales entrent en prolifération : la lumière de la trachée est parfois obstruée par des hémocytes, de l'hémolymphe, des cellules trachéales, des amas de chitine. Bien qu'il y ait prolifération, il ne semble pas qu'il s'agisse là d'une réaction maligne : en piquant avec des épines de cactus les trachées d'une punaise, BEARD (1942) a obtenu la formation, autour de l'agent irritant, de couches de cellules trachéales en prolifération et sécrétant de la chitine.

L'obturation des canaux trachéens affecte certains organes par-

ticulièrement sensibles au manque d'oxygène. C'est le cas de l'intestin qui peut s'entourer d'un amas d'hémocytes si important qu'il évoque un néoplasme. Cependant aucune croissance autonome n'étant évidente, l'auteur conclut que cette lésion peut tout au plus être comparée à un granulome de Mammifères.

D'ailleurs 108 Blattes ayant été traitées, par la même méthode, au talc qui n'est pas cancérogène, ont présenté exactement les mêmes réactions.

### 7°. Tuniciers.

L'inoculation d'extraits organiques (broyats d'œufs de *Maia squinado*) additionnés d'arséniate de soude, d'indol ou de coaltar dans la tunique d'*Ascidia mentula* Müll. ne produit que des réactions inflammatoires banales (THOMAS, 1931, 1932 a et b).

### 8°. Echinodermes.

Dans cet embranchement, les expériences ont toutes été effectuées sur l'œuf.

Suivant la théorie proposée par BOVERI (1914), la cellule cancéreuse serait caractérisée par un trouble du matériel chromatique. A l'occasion d'une mitose asymétrique ou multipolaire se produirait un déficit en chromatine. La nouvelle « constellation chromatique » permettrait la vie de la cellule mais faussant le mécanisme de régulation des mitoses, supprimerait l'arrêt des divisions.

Pour tenter de saisir cette transformation d'une cellule saine en cellule cancéreuse, REISS (1923, 1925) fait agir un extrait aqueux de goudron de houille, obtenu par agitation avec de l'eau de mer, sur des œufs de *Paracentrotus lividus* Lmk. un quart d'heure ou une demi-heure après leur fécondation.

Les anomalies les plus caractéristiques obtenues dans les figures cytologiques combinent la dispersion des chromosomes sur les radiations astériennes et la dépolarisation des mitoses.

Il existe une analogie manifeste entre ces figures et celles qui ont été décrites dans la cellule cancéreuse. Mais elles ne sont pas spécifiques de l'état cancéreux, ayant été retrouvées dans d'autres processus pathologiques.

Les concentrations élevées de goudron bloquent le développement.

Des concentrations moins élevées permettent un début de division, mais le développement s'arrête avec la réalisation d'embryons irréguliers à blastomères inégaux. Certains stades comportent un nombre impair de blastomères.

Les malformations deviennent de plus en plus rares au fur et à mesure que la concentration diminue. A de faibles concentrations on peut trouver des stades IV dans lesquels les deux paires de blastomères, cytologiquement normaux, ont leurs axes non plus parallèles mais perpendiculaires.

« Nous ne pouvons cependant pas affirmer, précise REISS (1925, p. 360), avoir observé de prolifération exagérée et autonome à partir d'un blastomère, quoique certaines observations, surtout sur l'œuf vivant, puissent admettre une telle interprétation ».

TCHAKHOTINE (1938) soumet des œufs de *Paracentrotus lividus*, d'*Echinus microtuberculatus* et de *Psammechinus miliaris* à l'action du

monobromo- et monoiodoacétate de sodium, qui ont la faculté d'inhiber la glycolyse anaérobie tout en respectant la respiration. L'auteur décrit, à la suite de ce traitement, une prolifération atypique des cellules de mésenchyme qui envahissent le blastocœle et empêche la gastrulation. La larve finit par périr.

DRUCKREY (1942) essaye l'action du benzopyrène sur l'œuf de *Paracentrotus lividus* (*Strongylocentrotus lividus* dans le texte) et obtient des résultats très différents. Cet auteur ajoute à de l'eau de mer renfermant des œufs non fécondés une solution alcoolique de benzopyrène ou du benzopyrène solide. Après une heure il réalise la fécondation. La segmentation se déroule normalement jusqu'au stade gastrula pour les diverses concentrations ( $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ). Au stade pluteus il y a toujours un certain nombre de formes géantes mais normalement constituées ; peut-être sont-elles polyploïdes.

### DISCUSSION ET CONCLUSION.

Les Invertébrés soumis à l'influence d'un composé cancérigène se comportent de manières diverses. Si nous laissons de côté les résultats obtenus sur l'œuf d'Oursin qui concernent les premiers stades du développement embryonnaire et se réfèrent plutôt au problème de la cancérisation de la cellule, problème que nous envisagerons dans un travail ultérieur, il paraît possible de distinguer cinq types de réactions.

1. *Les animaux ne manifestent aucune réaction.*

Ce serait le cas des Anatifes de Californie soumis, par une sorte d'expérience naturelle, à l'action de carbures polycycliques, en particulier du benzopyrène. C'est aussi probablement le cas des Unios et des Anodontes traités par le goudron.

2. *Les animaux manifestent une réaction de défense suggérant un processus inflammatoire.*

Telles sont les réactions du Doris au goudron, par migration et accumulation d'amœbocytes ; de la Seiche et du Poulpe au goudron et du Poulpe au dibenzanthracène, par accumulation de leucocytes, formation d'un sillon d'élimination et rejet d'une escarre ; de la Seiche au dibenzanthracène où la toxicité du produit aboutit à un échec de la défense par blocage leucocytaire. Sont aussi des réactions inflammatoires, les nodules formés par *Nereis* sous l'influence de l'arsenic, la réaction d'*Ascidia* à l'arsenic ou au goudron, la distension des tubes de Malpighi de *Blatella* incapables d'éliminer les diméthyl et méthyl-diméthyl aminoazobenzènes.

3. *Les animaux manifestent une stimulation d'un processus normal de prolifération.*

*Obelia* voit sa croissance stimulée par le dibenzanthracène et le méthylcholanthrène. *Euplanaria* régénère en un moindre temps et se multiplie plus vite sous l'influence des deux mêmes carbures.

4. *Les animaux manifestent une prolifération anormale.*

C'est le seul cas où l'idée de cancer puisse venir à l'esprit.

L'excroissance aberrante obtenue par HAMMET et HAMMET en faisant agir le thiocrésol sur la pince en régénération du Pagure ne paraît pas présenter tous les caractères de la tumeur maligne. La simple lésion de la pince, en l'absence du traitement chimique, suffit à provoquer chez

75 % des individus une excroissance aberrante. L'excroissance, qu'elle résulte d'une lésion ou du traitement chimique, n'apparaît que sur la pince ; or cet appendice est en cours de régénération et par conséquent le lieu d'une prolifération normale très active. Enfin il n'est pas fait mention de métastases, et il n'est pas précisé si l'animal succombe.

La multiplication des cellules trachéales observée chez *Periplaneta*, après introduction dans l'abdomen de méthylcholanthrène en poudre, n'est pas davantage assimilable à une réaction maligne, de l'avis même de l'auteur. Des Blattes traitées au talc présentent la même réaction, observée d'autre part, dix ans plus tôt, par un autre auteur chez une Punaise par piqûre d'une trachée avec des épines de cactus.

La légère hyperplasie obtenue par GERSCH en badigeonnant avec le benzopyrène, le méthylcholanthrène ou le diméthylcholanthrène des Lombrics, peut, peut-être, conduire à un développement tumoral. Les indications contenues dans la seule note qu'ait encore publiée l'auteur sur ses expériences ne permettent pas d'en avoir la certitude. On ignore également si le processus entraîne la mort des animaux, donc s'il y a malignité.

Les tumeurs mélaniques que RAPOPORT obtint en élevant des larves sur milieux nutritifs additionnés de composés arséniés ou borés, peuvent paraître malignes, puisque la plupart des larves qui en sont affectées meurent. Nous rappellerons cependant que la tumeur spontanée « lethal-7 » étudiée par STARK fut considérée comme maligne jusqu'au jour où RUSSELL l'ayant greffée à des larves d'une autre lignée obtint des adultes après pupaison des larves chez lesquelles la tumeur greffée avait pourtant continué à se développer. Il est regrettable que cette expérience ait été réalisée un an après la publication de RAPOPORT, car il aurait été intéressant de connaître le sort de larves qui, recevant une nourriture dépourvue d'arsenic, auraient subi la greffe d'une tumeur provoquée par l'arsenic.

5. *Les animaux ne manifestent pas de réaction mais leur descendance est affectée.*

C'est le cas de la *Drosophile* chez qui le taux des mutations spontanées peut être modifié par certains cancérigènes.

De l'ensemble des travaux qui ont tenté d'établir un rapport entre mutation et cancer se dégagent plusieurs constatations.

D'abord, si des composés cancérigènes sont susceptibles d'intervenir dans les mutations, ce n'est qu'exceptionnellement qu'ils induisent des mutations « tumeurs » ; BIRD et FAHNY semblent en effet être les seuls à avoir provoqué, et cela sur un unique individu parmi tous ceux qu'ils ont traités, une mutation qui se manifeste par l'apparition de tumeurs chez les descendants. Et pourtant, les tumeurs spontanées, résultant de mutations variées, sont fréquentes chez la *Drosophile*.

Ensuite, si un composé hautement cancérigène, le benzopyrène, a manifesté des propriétés mutagènes, il a pu être absorbé sans interruption par six générations successives d'animaux, il a pu s'accumuler dans presque tous leurs tissus sans qu'aucune tumeur ne se développe (FABIAN et MAROLTSY). La *Drosophile* est donc réfractaire à la cancérisation par le traitement direct au benzopyrène.

Enfin, si d'autres cancérigènes sont inactifs sur les mutations, des substances carcino-inhibitrices et des substances non cancérigènes peu-

vent provoquer des mutations ou bien modifier le taux des mutations spontanées.

Le caractère contradictoire des résultats obtenus jusqu'ici ne permet donc pas de conclure quant à l'existence d'un lien entre le pouvoir mutagène et le pouvoir cancérogène.

Ainsi, nous sommes amenés à constater que des composés chimiques qui sont capables d'induire le développement d'une tumeur maligne chez un Mammifère, sont impuissants à provoquer la cancérisation d'un Invertébré. La conclusion que nous formulions sur la nature des réactions tumorales spontanées des Invertébrés peut donc être étendue aux rares réactions tumorales provoquées par les cancérogènes : « il ne nous paraît pas possible d'affirmer, dans l'état actuel de nos connaissances, qu'elles sont réellement de nature cancéreuse ».

### BIBLIOGRAPHIE

- AUERBACH (C.), 1940. — XIII. - Tests of carcinogenic substances in relation to the production of mutations in *Drosophila melanogaster*. (*Proc. Roy. Soc. Edinburgh*, 60, pp. 164-173).
- AUERBACH (C.) et ROBSON (J.M.), 1944. — Production of mutations by allyl isothiocyanate. (*Nature*, 154, p. 81).
- 1946. — Chemical production of mutations. (*Nature*, 157, p. 302).
- BEARD (R.L.), 1942. — On the formation of the tracheal funnel in *Anasa tristis* induced by the parasite *Trichopoda pennipes*. (*Ann. Entomol. Soc. America*, 35, pp. 68-74).
- BIRD (M.J.) et FAHNY (O.G.), 1952. — Cytogenetic analysis of the action of carcinogens and tumour inhibitors in *Drosophila melanogaster*. I. - 1:2, 3:4 diepoxybutane. (*Proc. Roy. Soc. G. B.*, 140, pp. 556-578).
- BOULANGER (P.) et OSTEUX (R.), 1952. — Biochimie du Cancer. In Pathologie chimique de POLONOWSKI, t. I. Paris.
- BOVERI (Th.), 1914. — Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Jena.
- BRANDT (H. von) et HORNE (G.), 1952. — Ueber die mutagene Wirksamkeit einiger Kanzerogener, zytostatischer und antibiotischer Agenzien. (*Naturwiss.*, 39, 12, pp. 283-284).
- BURDETTE (W.J.), 1950 a. — Tumors and mutation in *Drosophila*. (*Texas Rep. Biol. and Med.*, 8, pp. 123-133).
- 1950 b. — Studies on *Drosophila* tumors. (*Cancer Research*, 10, p. 209).
- 1950 c. — Lethal mutation rate in *Drosophila* treated with 20-methylcholanthrene. (*Science*, 112, pp. 303-306).
- 1951 a. — A method for determining mutation rate and tumor incidence simultaneously. (*Cancer Res.*, 11, pp. 552-554).
- 1951 b. — Tumor incidence and lethal mutation rate in a tumor strain of *Drosophila* treated with formaldehyde. (*Cancer Res.*, 11, pp. 555-558).
- 1951 c. — Administration of diethylstilbestrol to the tu 36 a strain of *Drosophila melanogaster*. (*Rec. Genetics Soc. Am.*, 20, pp. 93-94).
- 1952 a. — Tumor incidence and lethal mutation rate in *Drosophila* treated with 20-methylcholanthrene. (*Cancer Res.*, 12, pp. 201-205).
- 1952 b. — Effect of nitrogen mustard on tumor incidence and lethal mutation rate in *Drosophila*. (*Cancer Res.*, 12, 5, pp. 366-368).
- DEMEREĆ (M.), 1947 a. — Mutations in *Drosophila* induced by a carcinogen (*Nature*, 159, p. 604).
- 1947 b. — Production of mutations in *Drosophila* by treatment with some carcinogens. (*Science*, 105, p. 634).
- 1948 a. — Mutations induced by carcinogens. (*Brit. J. Cancer*, 2, pp. 114-117).
- 1948 b. — Induction of mutations in *Drosophila* by dibenzanthracene. (*Genetics*, 33, pp. 337-348).
- DEMEREĆ (M.), WALLACE (B.), WITKIN (E.M.) et BERTANI (G.), 1949. — (*Carnegie Inst. Wash.*, Yb., 49, p. 163).

- DRUCKREY (H.), 1942. — Die Auslösung einer Riesenform bei Seeigelkeimen durch das krebserregende Benzpyren. (*Naturwiss.*, 48/49, pp. 734-735).
- FABIAN (G.), et MATOLTSY (A. G.), 1947. — The effect of the 3-4 benzpyrene in respect to the non-disjunction frequency in *Drosophila melanogaster*. (*Arch. Biol. Hungarica*, II, 17, pp. 171-178).
- GERSCH (M.), 1954. — Einwirkung von kanzerogenen kohlenwasserstoffen auf die Haut von Regenwürmern. (*Naturwiss.*, 14, pp. 337-339).
- HAMMETT (F. S.) et HAMMETT (D. W.), 1932. — The influence of sulfhydryl on the formation of aberrant disorganized overgrowths in the regenerating right chela of the Hermit Crab (*Pagurus longicarpus*). (*Protoplasma*, 17, pp. 321-358).
- HAMMETT (F. S.) et REIMANN (S. P.), 1935. — Effect of methylcholanthrene on developmental growth of *Obelia geniculata*. (*American J. Cancer*, 25, pp. 807-808).
- JACQUEMAIN (R.) et JULLIEN (A.), 1947. — Réactions des Céphalopodes aux injections intradermiques de substances polaires. (*C. R. Ac. Sc.*, 225, pp. 698-700).
- JACQUEMAIN (R.), JULLIEN (A.) et NOEL (R.), 1947. — Sur l'action de certains corps cancérogènes chez les Céphalopodes (*C. R. Ac. Sc.*, 225, pp. 441-443).
- JULLIEN (A.), 1940. — Sur les réactions des Mollusques céphalopodes aux injections de goudron. (*C. R. Ac. Sc.*, 210, pp. 608-610).
- JULLIEN (A.) et JACQUEMAIN (R.), 1947. — Nouvelles recherches sur les processus inflammatoires chez les Céphalopodes. (*Ann. Sc. et Litt. Franche-Comté*, 2, pp. 87-97).
- JULLIEN (A.) et JULLIEN (A. P.), 1954. — Sur un changement de type de réaction inflammatoire expérimentale chez les Mollusques Céphalopodes par l'emploi préalable d'un facteur de diffusion, l'hyaluronidase. (*C. R. Ac. Sc.*, 238, 2, pp. 298-300).
- JULLIEN (A.), JULLIEN (A. P.) et RIPLINGER (J.), 1951. — Etude histologique de tumeurs naturelles et d'inflammations expérimentales chez les Mollusques Céphalopodes. (*Ann. Scient. Université de Besançon*, 6-7, 1, pp. 3-39).
- 1952. — Sur les effets des injections intradermiques de dibenzanthracène chez le Poulpe. (*C. R. Ac. Sc.*, 234, 8, pp. 881-883).
- 1953 a. — Sur le développement, chez la Seiche, de lésions extensives précédées d'escarres, par une substance cancérogène, le dibenzanthracène. (*C. R. Ac. Sc.*, 236, 1, pp. 156-157).
- 1953 b. — Sur quelques types de réactions inflammatoires et tumorales provoquées par l'indol et le dibenzanthracène chez la Seiche et le Poulpe. (*Ann. Scient. Univ. Besançon, Zool. Physiol.*, 8, 1, pp. 3-20).
- LABBÉ (A.), 1928. — Production expérimentale de tissu conjonctif par les amœbocytes chez *Doris tuberculata* C. (*C. R. Ac. Sc.*, 187, pp. 1073-1075).
- 1929. — Réactions expérimentales des Mollusques à l'introduction de stylets de celloïdine (*C. R. Soc. Biol.*, 100, pp. 166-168).
- 1930. — Réaction du tissu conjonctif au goudron chez un Mollusque, *Doris tuberculata* Cuvier. (*C. R. Soc. Biol.*, 103, pp. 20-22).
- 1934. — Néogenèses expérimentales chez les Doris par introduction de stylets de celloïdine pure ou goudronnée. (*Bull. Ass. Franç. Etude Cancer*, 23, pp. 647-685).
- MATOLTSY (A. G.) et FABIAN (G.), 1947. — Measurement of the photodynamic effect of carcinogenic substances on biological indicators (*Drosophila*). (*Arch. Biol. Hungarica*, II, 17, pp. 165-170).
- NOLAND (J. L.) et BAUMANN (C. A.), 1949. — Effects of certain azo dyes upon the Cockroach *Blattella germanica*. (*Proc. Soc. exper. Biol. Med. U. S. A.*, 71, 3, pp. 365-368).
- OWEN (S. E.), WEISS (H. A.) et PRINCE (L. H.), 1939. — Carcinogens and Planarian tissue regeneration. (*American J. Cancer*, 35, pp. 424-426).
- RAPOPORT (J. A.), 1939. — Specific morphoses in *Drosophila* induced by chemical compounds. (*Bull. Biol. et Med. exper. U. R. S. S.*, 7, pp. 415-417).
- REIMANN (S. P.) et HAMMETT (F. S.), 1935. — The proliferation stimulating action of 1:2:5:6 dibenzanthracène on *Obelia geniculata*. (*American J. Cancer*, 23, pp. 343-349).

- REISS (P.), 1923. — Sur les phénomènes anormaux produits dans le développement de l'œuf d'Oursin par l'action du goudron. (*C. R. Soc. Biol.*, 88, pp. 1316-1318).
- 1925. — Sur des anomalies du développement de l'œuf d'Oursin par l'action du goudron et leurs rapports avec les phénomènes cytologiques de la pathogénie du cancer. (*Arch. de Biologie*, 34, pp. 345-368).
- SACHAROV (V. V.), 1938. — On the specificity of the action of factors of mutation. (*Biol. Z.*, 7, pp. 595-618).
- SCHLUMBERGER (H. G.), 1952. — A comparative study of the reaction to injury. I. The cellular response to methylcholanthrene and to talc in the body cavity of the cockroach. (*Periplaneta americana*). (*Arch. Pathol. U. S. A.*, 54, 1, pp. 98-113).
- SHIMKIN (M. B.), KOE (B. K.) et ZECHMEISTER (L.), 1951. — An instance of the occurrence of carcinogenic substances in certain barnacles. (*Science, Washington*, 113, pp. 650-651).
- TCHAKHOTINE (S.), 1938. — Cancérisation expérimentale des éléments embryonnaires obtenue sur des larves d'Oursins (*C. R. Soc. Biol.*, 127, pp. 1195-1197).
- THOMAS (J. A.), 1931. — Réactions de deux Invertébrés : *Ascidia mentula* Müll. et *Nereis diversicolor* O. F. M. à l'inoculation de substances à propriétés cancérigènes. (*C. R. Soc. Biol.*, 108, pp. 667-669).
- 1932 a. — Contribution à l'étude des réactions de quelques invertébrés à l'inoculation de substances à propriétés cancérigènes et du *Bacterium tumefaciens* Sm. et Town. (*Ann. Inst. Pasteur*, 159, pp. 234-274).
- 1932 b. — Les réactions tumorales des Invertébrés. Revue générale. (*Bull. Soc. Philomathique de Paris*, 115, pp. 70-88).
- THORNTON (D.), 1947. — The effect of 2,4 dinitrophenol on the larval growth of *Drosophila melanogaster*. (*Growth*, 11, pp. 51-60).
- WAUTIER (V.) et WAUTIER (J.), 1953. — Le cancer et les Invertébrés. Première partie : réactions tumorales naturelles. (*Bull. mens. Soc. Linn. Lyon*, 22, pp. 67-96).
- ZIVIN (M. O.), 1946. — Effect of acenaphtene upon non-disjunction of sex chromosomes in *Drosophila melanogaster*. (*C. R. Ac. Sc. U. R. S. S.*, 52, 4, pp. 351-352).

(Laboratoire de Zoologie de la Faculté des Sciences de Lyon).  
Présenté à la Section Générale en sa séance du 19 Mars 1955.

## SUR UN NOUVEAU PROCÉDÉ DE CONSERVATION DES CHAMPIGNONS CHARNUS

par Marcel LOCQUIN.

La conservation des champignons charnus a toujours été l'objet de recherches de la part des mycologues, recherches, il faut bien le dire, partiellement couronnées de succès.

En milieu liquide, par exemple, eau-alcool-formol au tiers, les couleurs et bien des caractères microchimiques ne se conservent pas.

Le meilleur procédé est à ce jour celui du D<sup>r</sup> MERCIER qui fait appel à la cryodessiccation. Les résultats sont très beaux. L'inconvénient est la longueur du procédé et la nécessité d'enfermer ensuite le spécimen desséché dans une atmosphère sèche et non-oxydante, par exemple de l'azote sec dans un tube étanche.

Au cours d'un récent voyage en Côte d'Ivoire, nous avons eu l'occasion d'examiner le procédé de conservation utilisé à l'I.D.E.R.T.<sup>1</sup> (Adiopodoumé) pour des phanérogames parasités par des champignons<sup>2</sup>.

1. Institut d'Etudes et Recherches tropicales.

2. M. CHEVAUGEON enferme les échantillons dans un tube dont les deux extrémités sont bourrées de pastilles de trioxyméthylène.