

CEA-R-3388 - GRAF Béatrice, LAFUMA Jacques,
PARMENTIER Claude, PARMENTIER Nicole-C

ETUDE D'UNE CONTAMINATION PAR 100 μ Ci DE Sr 90
CHEZ LE RAT : CONSEQUENCES CLINIQUES, HEMATOLOGIQUES
ET OSSEUSES (APPARITION D'OSTEOSARCOMES)

Sommaire. - Les auteurs étudient les conséquences cliniques, hématologiques et osseuses d'une contamination par 100 microcuries de Sr 90 injectés par voie intramusculaire chez le rat.

Malgré l'importance de la contamination et les lésions conséquentes, l'élimination du Sr 90 est comparable à celle que l'on observe après injection de doses traceuses.

La surveillance clinique ne met essentiellement en évidence, à la période terminale, qu'une diminution du poids par rapport aux témoins.

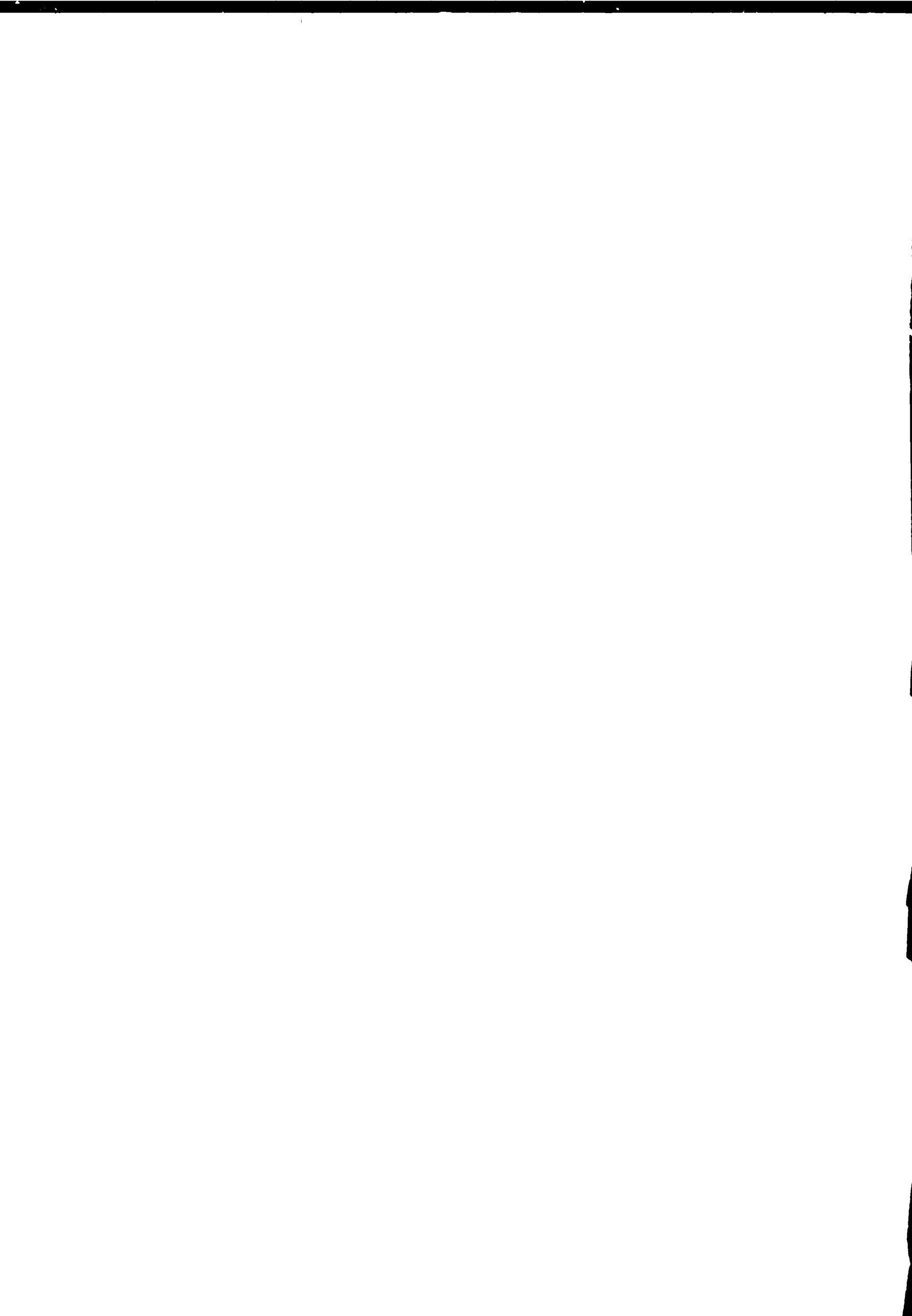
./.

CEA-R-3388 - GRAF Béatrice, LAFUMA Jacques,
PARMENTIER Claude, PARMENTIER Nicole-C

STUDY OF CONTAMINATION BY 100 μ Ci OF Sr 90 IN THE
RAT : CLINICAL, HEMATOLOGICAL AND OSSEOUS EF-
FECTS (APPEARANCE OF OSTEOSARCOMAS)

Summary. - Clinical, hematological and osseous effects following an intramuscular injection of 100 μ Ci 90 Sr were studied in the rat. In spite of the magnitude of the injection and the resulting damage, the elimination of strontium could compare with what occurs after an injection at tracer doses.

Comparing with the controls at the outcoming time, clinical monitoring mainly brought out a loss of body weight. Fairly early (20 th - 30 th day) there occurred severe hematological damage, especially on lymphocyte line, which



Les lésions hématologiques sont importantes, prédominant sur la lignée lymphocytaire. Elles sont relativement précoces (20ème-30ème jours) et régressent spontanément.

La surveillance anatomo-pathologique de la période précoce a montré, comme il était prévisible, des lésions osseuses et médullaires dans les zones d'ossification enchondrale.

A la période tardive, la survenue de sarcomes osseux a été observée chez neuf animaux sur dix. Le type histologique prédominant est l'ostéosarcome ostéogénique et il faut signaler également les tumeurs bilatérales observées chez deux animaux.

1968

26 p.

Commissariat à l'Energie Atomique - France

gical survey of the early period showed bone and medular lesions in the areas of enchondral ossification. In the late period, bone sarcomas occurred in nine animals out of ten. The outstanding histological type was osteogenic osteosarcomas ; besides, two animals experienced bilateral tumors.

1968

26 p.

Commissariat à l'Energie Atomique - France



CEA - R - 3388
PREMIER MINISTRE

COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE

2.4

ETUDE D'UNE CONTAMINATION
PAR 100 μ Ci DE ^{90}Sr CHEZ LE RAT
CONSEQUENCES CLINIQUES,
HEMATOLOGIQUES ET OSSEUSES
(APPARITION D'OSTEOSARCOMES)

par

*Béatrice GRAF, Jacques LAFUMA,
Claude PARMENTIER, Nicole PARMENTIER*

DIRECTION DE LA PROTECTION
ET DE LA SURETE RADIOLOGIQUES

Centre d'Etudes Nucléaires de Fontenay-aux-Roses

Rapport CEA - R - 3388

1968

Ca

SERVICE CENTRAL DE DOCUMENTATION DU C.E.A

A partir de 1968, les rapports CEA sont classés selon les catégories qui figurent dans le plan de classification ci-dessous et peuvent être obtenus soit en collections complètes, soit en collections partielles d'après ces catégories.

Ceux de nos correspondants qui reçoivent systématiquement nos rapports à titre d'échange, et qui sont intéressés par cette diffusion sélective, sont priés de se reporter à la lettre circulaire CENS/DOC/67/4690 du 20 décembre 1967 que nous leur avons adressée, et qui précise les conditions de diffusion.

A cette occasion nous rappelons que les rapports CEA sont également vendus au numéro par la Direction de la Documentation Française, 31, quai Voltaire, Paris 7e.

PLAN DE CLASSIFICATION

- | | |
|---|---|
| 1. APPLICATIONS INDUSTRIELLES DES ISOTOPES ET DES RAYONNEMENTS | 8. PHYSIQUE |
| | 8.1 Accélérateurs |
| | 8.2 Electricité, électronique, détection des rayonnements |
| | 8.3 Physique des plasmas |
| | 8.4 Physique des états condensés de la matière |
| | 8.5 Physique corpusculaire à haute énergie |
| | 8.6 Physique nucléaire |
| | 8.7 Electronique quantique, lasers |
| 2. BIOLOGIE ET MEDECINE | |
| 2.1 Biologie générale | |
| 2.2 Indicateurs nucléaires en biologie | |
| 2.3 Médecine du travail | |
| 2.4 Radiobiologie et Radioagronomie | |
| 2.5 Utilisation des techniques nucléaires en médecine | |
| 3. CHIMIE | 9. PHYSIQUE THEORIQUE ET MATHEMATIQUES |
| 3.1 Chimie générale | |
| 3.2 Chimie analytique | |
| 3.3 Procédés de séparation | |
| 3.4 Radiochimie | |
| 4. ETUDES DU DOMAINE DE L'ESPACE | 10. PROTECTION ET CONTR LE DES RAYONNEMENTS. TRAITEMENT DES EFFLUENTS |
| | 10.1 Protection sanitaire |
| | 10.2 Contrôle des rayonnements |
| | 10.3 Traitement des effluents |
| 5. GEOPHYSIQUE, GEOLOGIE, MINERALOGIE ET METEOROLOGIE | 11. SEPARATION DES ISOTOPES |
| 6. METAUX, CERAMIQUES ET AUTRES MATERIAUX | 12. TECHNIQUES |
| 6.1 Fabrication, propriétés et structure des matériaux | 12.1 Mécanique des fluides - Techniques du vide |
| 6.2 Effets des rayonnements sur les matériaux | 12.2 Techniques des températures extrêmes |
| 6.3 Corrosion | 12.3 Mécanique et outillage |
| 7. NEUTRONIQUE, PHYSIQUE ET TECHNOLOGIE DES REACTEURS | 13. UTILISATION ET DEVELOPPEMENT DE L'ENERGIE ATOMIQUE |
| 7.1 Neutronique et physique des réacteurs | 13.1 Centres d'études nucléaires, laboratoires et usines |
| 7.2 Refroidissement, protection, contrôle et sécurité | 13.2 Etudes économiques, programme |
| 7.3 Matériaux de structure et éléments classiques des réacteurs | 13.3 Divers (documentation, administration, législation, etc...) |

Les rapports du COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE sont, à partir du n° 2200, en vente à la Documentation Française, Secrétariat Général du Gouvernement, Direction de la Documentation, 31, quai Voltaire, PARIS VIIème.

The C.E.A. reports starting with n° 2200 are available at the Documentation Française, Secrétariat Général du Gouvernement, Direction de la Documentation, 31, quai Voltaire, PARIS VIIème.

- Rapport CEA-R-3388 -

Centre d'Etudes Nuciéaires de Fontenay-aux-Roses
Département de la Protection Sanitaire

ETUDE D'UNE CONTAMINATION PAR 100 μ Ci DE 90 Sr
CHEZ LE RAT : CONSEQUENCES CLINIQUES, HEMATOLOGIQUES
ET OSSEUSES (APPARITION D'OSTEOSARCOMES)

par

Béatrice GRAF, Jacques LAFUMA
Claude PARMENTIER, Nicole PARMENTIER

- Février 1968 -



REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier :

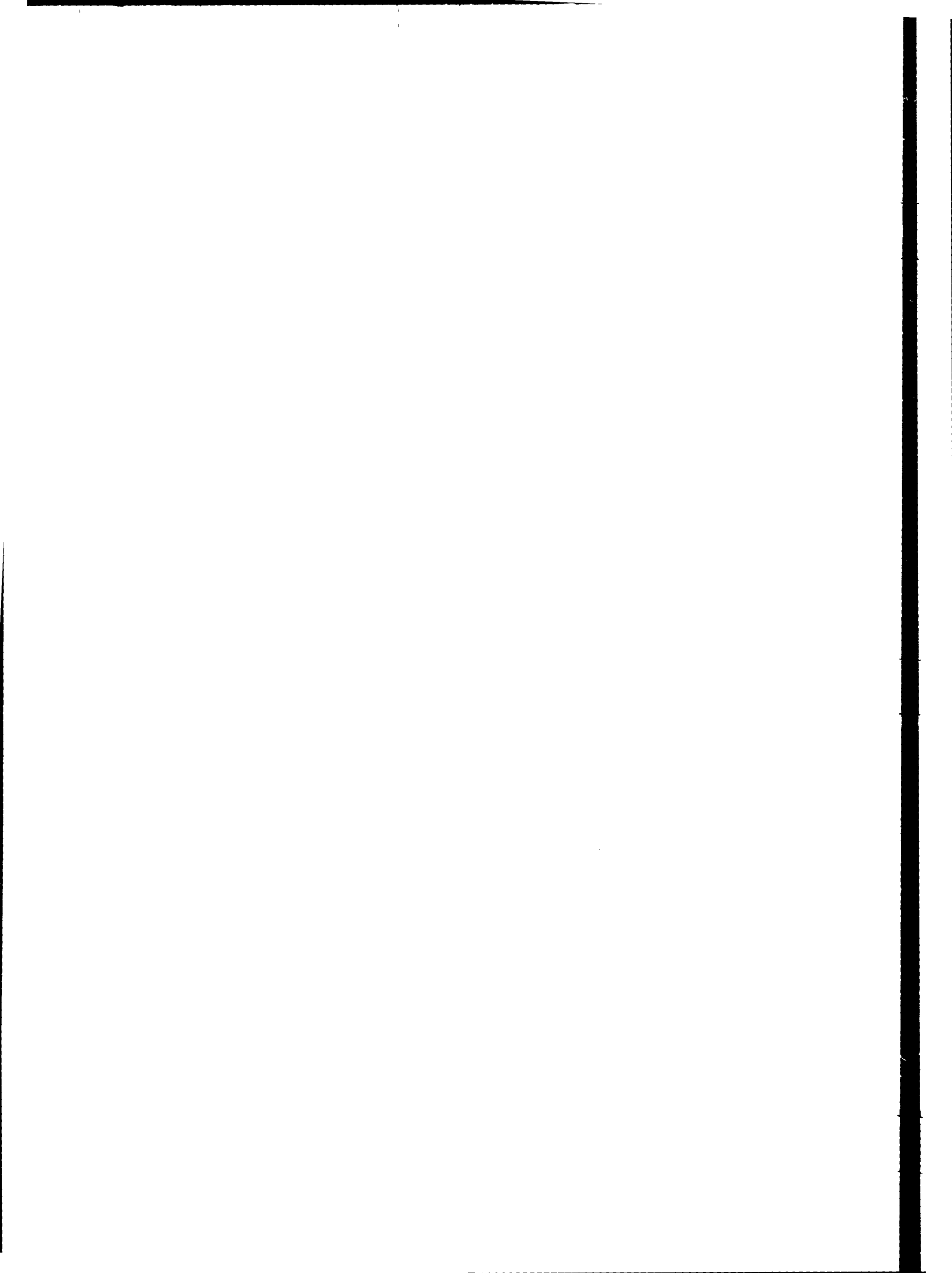
- Mlle BOUVET A.M. , pour sa collaboration technique dans la surveillance clinique et métabolique.

- M. le Docteur BIGAUD et Mlle LEITE, qui ont assuré la lecture d'une partie des examens hématologiques et Mme ROY TARANGER dont les conseils dans ce domaine nous ont été précieux.

- M. MASSE R. , qui a assuré le contrôle histologique des animaux témoins.

- M. DESAIVRE B. , qui assurant la gestion des animaux en expérience nous a permis de mener à bien cette étude de longue durée.

- Mme MAILLARD, dont les résultats, fruits d'une longue expérience de recherches sur les contaminations par ^{90}Sr , nous ont servi de base de comparaison.



ETUDE D'UNE CONTAMINATION PAR 100 μ Ci DE ^{90}Sr CHEZ LE RAT CONSEQUENCES CLINIQUES, HEMATOLOGIQUES ET OSSEUSES (APPARITION D'OSTEOSARCOMES)

INTRODUCTION

Les problèmes fondamentaux posés par les contaminations internes chez l'homme sont de deux ordres :

- dans l'immédiat, l'agression radiobiologique créée par le radioélément fragilise l'organisme et menace son existence en frappant certaines cibles sensibles au premier plan desquelles se situent les organes hématopoïétiques.

- ultérieurement se pose le problème des lésions tardives induites par la contamination, largement dominé par le risque d'apparition de cancers.

Ces problèmes intéressent des radioéléments dont la biologie est très différente : le ^{137}Cs à tropisme musculaire, le ^{90}Sr à tropisme osseux, les terres rares et les transuraniens à tropisme mixte ostéo-hépatique.

Nous nous sommes intéressés surtout aux radioéléments ostéotropes et particulièrement au ^{90}Sr dont le devenir métabolique est bien connu.

De même, nous connaissons relativement bien les activités de ce radioélément susceptible de créer chez l'animal de laboratoire une agression sérieuse pour l'hématopoïèse, tout en le laissant vivre assez longtemps pour que puissent s'exprimer des lésions tardives et si le rat est loin d'être un animal de laboratoire parfait, surtout dans le domaine de l'hématologie, il n'en présente pas moins l'intérêt d'un élevage et d'une manipulation aisés.

Enfin, divers auteurs ont étudié le comportement du tissu osseux d'animaux soumis à une contamination aiguë ou chronique par le ^{89}Sr ou ^{90}Sr .

En Angleterre, VAUGHAN J. [14, 20, 2] et son école étudient la fixation du ^{90}Sr sur le système osseux et les relations entre la dose administrée et les lésions produites.

Aux Etats-Unis, FINKEL M.P. [3] a établi la distribution statistique de la fréquence des tumeurs produites par le ^{89}Sr .

En Russie, MOSKALEV Yu. I et STRELTSOVA V.N. [16] s'attachent principalement à la radiocancérogénèse et au problème de la restauration.

Cet ensemble de données, nous a conduit à tenter l'étude prolongée d'une contamination par 100 μ Ci de ^{90}Sr en faisant porter notre effort sur une surveillance clinique et hématologique et en recherchant la fréquence et le type d'éventuels cancers osseux.

Nous avons couplé cette étude avec une technique simple de comptage in toto des animaux qui présentait le double avantage de vérifier l'homogénéité des contaminations réalisées et de contrôler certaines données sur le métabolisme du Sr et en particulier son élimination.

Il est bien évident que toute transposition à l'homme des résultats enregistrés ne pourrait être envisagée qu'avec la plus grande prudence surtout dans le domaine osseux où le rat, animal à croissance continue, présente des caractéristiques physiologiques très particulières.

Cependant, un semblable travail constitue une tentative vers la connaissance des risques susceptibles d'être créés par une contamination accidentelle en radiopathologie humaine.

I - PREPARATION DE L'EXPERIENCE

1 - Choix des animaux

Les animaux de laboratoire choisis furent des rats blancs, de souche Wistar, mâles âgés de 5 mois environ, répartis en deux lots : 18 témoins et 18 rats contaminés.

Nous nous sommes attachés à employer des animaux nés tous le même jour, mais néanmoins choisis au hasard. Il nous a semblé artificiel de choisir des animaux de même poids et nous désirions au contraire nous rapprocher le plus possible d'un échantillonnage représentatif de l'espèce à un âge déterminé.

Ces rats ont été gardés par cages de 5 et nourris tout au long de l'expérience au moyen de produits strictement standardisés.

Leur biologie est dominée par :

- des besoins alimentaires énormes : 20 grammes d'aliments secs et 10 grammes d'eau par jour pour un rat de 300 grammes.
- une croissance continue : le rat ne soude jamais ses cartilages de conjugaison.
- des normes hématologiques assez particulières et mal connues.

Nous les avons déterminées sur 38 rats normaux de 5 mois, en ce qui concerne les numérations et formules sanguines. La distribution des résultats suit une loi normale gaussienne et permet de donner les valeurs qui figurent au tableau ci-contre.

Comme le montrent ces valeurs, il est impossible d'utiliser ces normes hématologiques pour des comparaisons entre différents lots, étant données les importantes variations individuelles.

La pathologie spontanée de ces animaux mériterait d'être soigneusement étudiée et nous nous bornerons à signaler à ce propos le risque de parasitoses susceptibles de modifier les données hématologiques, cliniques et métaboliques.

	Nombre moyen par mm ³	Limites des variations (95 %)	
Hématies	7 617 000	6 089 000	9 145 000
Leucocytes	11 200	7 200	15 200
Lymphocytes	8 640	4 870	12 400
Monocytes	310	50	570
Granulocytes			
Neutrophiles	1 960	622	3 300
Granulocytes			
Eosinophiles	323	0	646

Quant au problème que nous avons choisi et qui est essentiellement la genèse par les radiations β du Sr de cancers osseux, l'apparition spontanée d'ostéosarcomes chez le rat n'a pas été signalée dans la littérature.

Un dernier point mérite d'être souligné : ces animaux sont craintifs et très sensibles à toute atmosphère d'hostilité. Il est de la plus haute importance de les traiter avec douceur.

Enfin, il est également souhaitable, pour pouvoir comparer les lots, de faire subir au lot expérimental et au lot témoin les mêmes agressions (injections, anesthésies, etc.).

2 - Contamination

A) Préparation de la solution

Le ⁹⁰Sr utilisé par nous, fut livré par le Centre Atomique de Harwell. La solution fournie contenait 1 Ci de ⁹⁰Sr par ml. Nous l'avons stockée 15 jours avant l'emploi ; la solution contenait donc, à la date de la contamination des rats, du ⁹⁰Sr en équilibre avec son descendant l'yttrium 90.

La préparation de la solution à injecter aux animaux répond aux étapes suivantes :

- dilution de la solution mère dans du sérum physiologique de façon à obtenir une activité de 100 μ Ci pour 0,5 ml.

- obtention d'un pH par adjonction de soude : cette préparation doit être pratiquée extemporanément, car la solubilité de l'yttrium n'est bonne qu'à pH acide. L'établissement de la neutralité trop longtemps à l'avance risquerait, provoquant une précipitation partielle, de fausser la dilution.

B) Méthode de contamination des animaux

La contamination a été réalisée en boîte à gants, à la seringue, par voie intramusculaire.

Tous les rats ont été piqués dans la masse musculaire du triceps sural gauche et ont reçu 0,5 ml de la solution tamponnée de ⁹⁰Sr soit 100 μ Ci de Sr en équilibre avec 100 μ Ci d'yttrium 90.

Parallèlement à la contamination animale, il fut préparé un témoin comportant 100 μ Ci de notre solution non tamponnée (cf. conditions de solubilité) dans un flacon en plastique de 300 ml, rempli d'eau aux fins de fournir un étalon pour les comptages externes.

II - CONDUITE DE L'EXPERIENCE

Nous avons contaminé 18 rats et choisi 18 témoins de même âge, et nous avons tenté de mener de front quatre ordres de préoccupations :

- la surveillance clinique des animaux,
- le devenir de la contamination par comptages externes,
- le retentissement hématologique de l'agression expérimentale,
- les dégâts anatomo-pathologiques créés par les isotopes injectés.

A) La surveillance clinique

La voracité des rats indique les deux éléments les plus importants dans la surveillance de leur état général : leur poids et leur consommation alimentaire, tant en eau qu'en produits secs.

Les autres éléments cliniques importants nous ont paru être :

- l'état du pelage (densité et lustre de la fourrure),
- le comportement des animaux : la prostration survient en effet très vite chez le rat malade,
- la présence possible d'adénopathies superficielles qui sont très faciles à palper.

Cette surveillance doit entraîner des sanctions thérapeutiques. Outre, le problème de nettoyage des cages, il est important d'aider certains animaux en état de moindre résistance du fait de l'expérience. Un rat prostré et adynamique ne se nettoie plus et ceci peut être la source d'infections notamment oculaires qu'il faut dépister et même, si possible, prévenir par nettoyage des yeux au sérum physiologique.

Ces précautions sont importantes, car faute de les appliquer, on risquerait d'attribuer à la contamination des décès dus aux infections.

De même, il est important de séparer de ses congénères un rat en mauvais état, car malgré l'alimentation généreuse que nous leur fournissons, tout animal malade ou en état de moindre défense est inexorablement dévoré par ses voisins de cage : là encore, le stock expérimental risquerait de baisser pour des causes toutes autres que la contamination.

Une remarque cependant : il ne nous a pas semblé opportun, même au moment de la plus forte leucopénie de donner systématiquement aux rats des antibiotiques. Ceux-ci, en effet, par des effets incontrôlables, auraient pu fausser ou en tout cas compliquer notre expérience, et leur emploi ne s'est jamais révélé nécessaire.

B) La surveillance de la contamination

Les mesures par comptages externes sont nécessaires dans toute expérience de contamination interne pour :

- vérifier la validité de l'homogénéité de la contamination,
- contrôler les lois bien connues sur le rythme d'élimination du Sr d'un organisme animal.

Pour mesurer l'évolution dans le temps de la radioactivité d'un organisme vivant, la méthode la plus rationnelle consiste à pratiquer un comptage global et l'un de nous a ainsi décrit le dispositif de comptage adapté à cette méthode (12).

L'obstacle créé à l'interprétation des chiffres par la répartition sélective de l'isotope sur certains organes se trouve ainsi levé. Les mesures deviennent comparables d'un animal à l'autre. De plus, les comptages d'animaux peuvent être comparés aux chiffres donnés par notre étalon en plastique dont les dimensions sont identiques à celles de la boîte contenant les animaux.

Avec 100 μ Ci de ^{90}Sr , bien que ne soient comptés que les rayonnements de freinage liés à l'émission β de l'yttrium ^{90}Y , le rendement de l'installation permet de travailler avec des taux de comptage corrects.

C) Surveillance hématologique

Elle a consisté essentiellement dans l'étude de l'évolution, au cours du temps, de la numération rouge et blanche et de l'équilibre leucocytaire. La confrontation de la numération globale et de la formule des leucocytes a permis d'exprimer les résultats en nombre de leucocytes de chaque variété par mm^3 .

Les numérations ont été réalisées avec un compteur électronique (Coulter Counter). Les formules ont été pratiquées en comptant 300 éléments sur des frotis colorés au May-Grünwald-Giemsa.

Cette étude hématologique, cependant simple, a rencontré quelques difficultés :

- le sang de rat coagule extrêmement vite et les prélèvements pour numération doivent être pratiqués sans tâtonnement,
- le lieu et le mode de prélèvement du sang, chez ces animaux posent un problème mal résolu : la méthode la plus simple consiste à fendre une des 4 grosses veines courant le long de la queue. Ceci nécessite une anesthésie à l'éther dont la toxicité n'est probablement pas négligeable ; et la spoliation sanguine risque, si l'on n'est pas très attentif, et si le nombre des manipulateurs n'est pas suffisant, d'être beaucoup trop importante. Nous avons cependant retenu cette méthode.

D) L'étude anatomopathologique

L'enquête anatomopathologique a été le point principal de cette expérience. Elle visait à élucider plusieurs questions :

- une telle activité de Sr + Y entraîne-t-elle l'apparition de cancers ?
- de quel type sont ces cancers et quel est leur siège ?
- s'ils existent, quel est leur délai d'apparition ?

Simultanément, il nous a semblé utile de suivre les modifications des structures osseuses et médullaires dues à la contamination.

Il nous a donc fallu sacrifier certains de nos animaux à des intervalles susceptibles de laisser apparaître des modifications anatomopathologiques.

1 - Rappel sur le comportement du ^{90}Sr dans l'organisme

Le strontium dont le métabolisme est voisin de celui du calcium se fixe sur les os. Bien que cet élément se trouve sur tout le squelette, des autoradiographies montrent une fixation sélective sur certains os, en particulier tibia, fémur, maxillaires et vertèbres chez le rat.

A l'intérieur même de l'os, la répartition n'est pas homogène : le ^{90}Sr se fixe préférentiellement au niveau des zones de croissance c'est-à-dire, les zones d'ossification

enchondrale, les zones d'ossification de l'endoste et du périoste. Ce phénomène a été mis en évidence et bien étudié par la confrontation des techniques microradiographiques et autoradiographiques. Les dernières, en particulier, mettent en exergue, sur un fond de fixation diffuse dans tous les tissus minéralisés, des zones de très grande radioactivité dont l'étude histologique montre des lésions osseuses et médullaires.

2 - Protocole d'étude

Pour analyser les effets précoces et tardifs, compte-tenu du métabolisme du radio-élément incriminé, il est nécessaire d'échelonner les prélèvements. Nous avons morcelé l'expérimentation en trois périodes :

- période précoce : 1er, 5ème et 10ème jours,
- période intermédiaire du 93ème jour,
- période tardive.

Pour les deux premières périodes, un protocole précis a été établi : aux dates indiquées, deux rats contaminés choisis au hasard ont été sacrifiés, ainsi que deux témoins.

Pour la période tardive, seule la surveillance clinique a guidé le sacrifice. Nous avons, en effet, en règle générale, préféré tuer les rats présentant des signes cliniques importants, plutôt que d'attendre leur mort pour éviter la disparition du cadavre mangé par ses congénères.

3 - Nature des prélèvements

Au moment de l'autopsie, ont été prélevés systématiquement :

- les deux tibias,
- la rate,
- les ganglions mésentériques et vertébraux.

Les autres prélèvements ont été guidés par l'étude clinique.

4 - Techniques anatomopathologiques employées

Tous les organes ont été fixés dans du liquide de Zenker, à l'exception du tibia gauche réservé à l'étude autoradiographique, fixé dans l'alcool à 90°.

Pour les prélèvements osseux correspondant à la dernière période, l'intérêt étant centré sur l'anatomopathologie, les autoradiographies n'ont été faites que sur quelques fragments osseux.

L'histoautoradiographie osseuse a été pratiquée sur des coupes d'os non décalcifiées selon une méthode que nous avons décrite ailleurs, sur des tranches d'os fines où une émulsion nucléaire Gs Ilford est coulée.

L'examen anatomopathologique a été conduit selon les méthodes usuelles. Différentes colorations ont complété l'examen standard : C bleu Alcian, PAS, bleu de toluidine pour l'étude du cartilage, coloration de Barret pour la moëlle osseuse, coloration de Wilder et hématoxyline phosphomolybdique de Thomas pour l'étude des fibres de collagène ou de réticuline.

III - RESULTATS EXPERIMENTAUX

A) Surveillance clinique

1 - Consommation alimentaire

La consommation quotidienne en aliments secs pendant le 1er mois varie peu, oscillant entre 20 et 25 grammes par rat, tant pour les témoins que pour les contaminés. Pendant le deuxième mois, les variations sont plus importantes chez les rats contaminés allant de 11 à 28 grammes, mais la moyenne par rat, de consommation quotidienne pour le mois, reste identique chez "témoins" et "contaminés".

La consommation en eau varie de 18 à 30 ml par rat. Elle est identique chez "contaminés" et "témoins". Ces variations sont liées à la température et au degré hygrométrique de l'air dans l'animalerie.

Aucune de ces consommations ne semble fortement modifiée par les anesthésies ou les traumatismes de l'expérience.

2 - Evolution des poids

Avant l'expérience, la répartition des poids de tous les animaux a été étudiée. Elle suit une loi normale, comme cela était prévisible, puisque les animaux ont été prélevés au hasard. Les résultats sont :

- valeur moyenne = 364 grammes (intervalle de confiance à 95 % sur la moyenne 365 ± 80).

Le poids des deux groupes, témoins et contaminés est resté stationnaire pendant le 1er mois (pas de différence significative). Mais alors qu'une augmentation de poids significative est mise en évidence chez les témoins au 262ème jour, les poids des contaminés restent stationnaires.

3 - Examen clinique

Deux faits sont à noter :

- immédiatement après la contamination, les rats contaminés ont présenté des infections oculaires contre lesquelles il a fallu lutter par des lavages au sérum physiologique. La genèse de ces infections est difficile à établir ; on peut cependant supposer que 2 facteurs ont parallèlement joué : une fragilité à l'infection qui ne peut être que du domaine de l'hypothèse (la baisse des leucocytes la rend néanmoins vraisemblable) et une adynamie évidente de ces animaux qui ne se nettoyaient plus alors que les rats lustrant leurs poils et se nettoient comme toutes les autres bêtes.

- peu à peu, ultérieurement, les rats contaminés ont pris un aspect de vieillissement prématuré dont l'expression la plus évidente était la raréfaction du poil.

4 - Tableaux résumés de la survie des animaux (tableaux 1 et 2)

TABLEAU I
Résumé de la surveillance des rats témoins

n°	Nombre d'anesthésies	Examen Hémato	Examen Radio	Date du décès	Motif du sacrifice	Diagnostic anatomopathologique
17	1			1	Systématique	
18		1		1	Systématique	
1				3	Anesthésie	
16				5	Systématique	
14				10	Systématique	
15				10	Systématique	
12				90	Systématique	
13				90	Systématique	
2	5	4	1	207	Anesthésie	
11	4	4		259	Systématique	
10	5	5		575	Troubles respiratoires	Réticulosarcome pulmonaire avec métastases ganglionnaires
8	6	5	1	590	Troubles respiratoires	Grosse dilatation cardiaque avec infarctissement pulmonaire
9	6	5	1	590	Mauvais état général	Pasteurellose pulmonaire
7	6	5	1	756	Ulcération maxillofaciale	Ostéochondrome du conduit auditif intérieur
3	5	5		1076	Mauvais état général	Néphrite épithéliale tubulaire, foyers disséminés de pasteurellose pulmonaire aspect sénile de tous les organes
6	6	5	1	1076	Mauvais état général	Id à 3
4	5	5		1047	Mort d'origine inconnue	Nécropsie impossible à faire (48 heures après la mort)
5	5	5		1047	Ulcération cutanée dos	Epithélioma basocellulaire

TABLEAU II

Résumé de la surveillance des rats contaminés et de ses résultats

n°	Nombre d'anesthésies	Examen Hémato	Examen Radio	Date du décès	Motif du sacrifice	Diagnostic anatomopathologique
1				1	Systématique	Lésions médullaires : foyers hémorragiques
2				1	Systématique	Lésions médullaires : foyers hémorragiques
3	1	1		5	Systématique	Lésions médullaires : hémorragies + hypoplasies
4	1	1		5	Systématique	Lésions osseuses : zone d'ossification
6	2	2		10	Systématique	Lésions médullaires : hémorragies + hypoplasies importantes
7	2	2		10	Systématique	Lésions osseuses : au niveau du cartilage de conjugaison
12	4	4		90	Systématique	Lésions osseuses : croissance persistante, mais zones de nécrose aseptique
14	4	4		90	Systématique	Lésions médullaires : persistance d'une hypoplasie
27	6	6		247	Tumeur de la patte	Sarcome fibroblastique du tibia gauche
15	6	6	1	251	Mort spontanée	Ostéosarcome ostéogénique du tibia gauche
8	8	6	2	257	Mort par anesthésie	Ostéosarcome ostéogénique du tibia gauche
18	7	6	2	259	Mauvais état général et ulcération faciale	Ostéosarcome ostéogénique du tibia droit et Epithélioma spinocellulaire de la face
10	7	6	1	280	Importante tumeur de la patte injectée	Ostéochondrofibrome du tibia gauche Ostéosarcome ostéogénique du tibia droit
13	7	6	1	280	Troubles respiratoires	Ostéosarcome ostéogénique du tibia droit
5	7	6	1	319	Mauvais état général	Ostéosarcome ostéolytique du tibia droit
9	7	6	1	319	Mauvais état général	Ostéosarcome ostéogénique du tibia gauche
11	8	6	2	319	Mauvais état général	Ostéosarcome ostéogénique du tibia droit et Ostéosarcome ostéolytique du tibia gauche
16	6	6		319	Mort spontanée	Absence curieuse de lésions osseuses Foyers pasteurellose pulmonaire

B) Surveillance de la contamination (figure 0)

La courbe de l'élimination du ^{90}Sr peut être décomposée en trois exponentielles. Seules les deux dernières périodes de 10 jours et 200 jours représentent la biologie de l'os.

Il ne faut pas attacher de valeur absolue à ces données, car elles dépendent de nombreux facteurs tels que : l'âge des animaux au moment de la contamination, la durée de l'expérience, le régime alimentaire, la technique de mesure, la méthode d'analyse graphique des courbes.

Alors que les lésions sont importantes, les résultats sont très comparables à ceux que l'on obtient en utilisant une dose traceuse 1000 fois plus faible.

C) Surveillance hématologique (figures 1 à 8)

1 - Hématies

L'interprétation de l'évolution du nombre d'hématies par mm^3 est rendue extrêmement difficile par le fait que les prélèvements nécessaires pour l'étude, constituant pour un rat de véritables petites saignées, perturbent l'érythropoïèse. Les variations sont cependant plus importantes chez les contaminés, sortant des limites de variation déjà définies.

2 - Leucocytes

Leucocytes totaux : bien que les témoins présentent, eux aussi, des variations importantes dans les deux sens, l'allure générale des courbes des contaminés montre une chute certaine des leucocytes. Cette chute est importante lors des examens des 11ème et 18ème jours, le minimum variant selon le rat. Mais il est possible qu'elle soit plus précoce ou qu'elle se termine avant le 31ème jour.

Cette diminution du nombre des granulocytes porte à la fois sur la série lymphocytaire et sur la série granulocytaire. Elle est cependant plus marquée pour les lymphocytes.

D) Surveillance anatomopathologique

1 - Effets précoces (3 premiers mois).

Rappelons que pour cette étude, ont été prélevés la rate, les ganglions mésentériques et vertébraux et les deux tibias.

1-1 : 1 jour après l'injection (rats n° 1 et 2) on note :

- dans la rate, une architecture normale avec cependant une augmentation du nombre de cellules en voie de lyse dans les corpuscules de Malpighi.

- dans les ganglions, une architecture normale.

- dans les tibias, alors que l'architecture des cartilages articulaires et épiphysaires est normale et que l'ossification enchondrale s'effectue normalement, une atteinte médullaire se traduisant par de petits foyers hémorragiques.

1-2 : 5 jours après l'injection (rats n° 3 et 4) on note :

- dans la rate, une diminution du diamètre des corpuscules et la présence de débris nucléaires.

- des ganglions normaux.

- dans les tibias, des lésions osseuses et médullaires importantes dans la zone d'ossification enchondrale ; alors que le cartilage sérié est normal, les cellules du cartilage hypertrophique sont moins nombreuses, les lames d'ossification sont plus courtes, globuleuses et les premières travées ne contiennent pas de cellules cartilagineuses. Cet ensemble conduit à une maturation précoce. Les lésions médullaires sont représentées par des foyers hémorragiques étendus, une hypoplasie évidente, une hypertrophie des cellules réticulaires avec infiltration discrète par des cellules inflammatoires.

1-3 : 10 jours après l'injection (rats n° 6 et 7)

Alors que la rate et les ganglions ont un aspect sensiblement normal, les lésions osseuses s'accroissent : l'architecture du cartilage de conjugaison est modifiée, avec désorganisation du cartilage sérié et lames d'ossification courtes enserrant des bourgeons vasculaires grêles. Les lésions médullaires sont également plus importantes : la moelle épiphysaire et métaphysaire, très hémorragique, présente une hypoplasie marquée avec oedème et foyers de fibroblastes.

1-4 : 90 jours après l'injection (rats n° 12 et 14)

Rate et ganglions sont normaux. L'architecture du cartilage de conjugaison est régulière : la croissance, ralentie, a persisté comme en témoigne la présence de nouvelles lames formées enserrant des bourgeons vasculaires contenant de nombreuses cellules. Les lames osseuses épaisses formées les mois précédents subissent un début de nécrose aseptique. Au niveau de la moelle, les phénomènes hémorragiques sont moins importants, la moelle est repeuplée en éléments cellulaires des différentes lignées avec cependant une hypoplasie légère persistante par rapport aux témoins et une fibrose discrète (figure 9).

1-5 : Témoins.

Les animaux témoins sacrifiés aux mêmes temps n'ont présenté aucune lésion microscopiquement décelable.

2 - Effets tardifs

La pathologie est dominée par les sarcomes osseux observés chez 9 animaux sur dix : 10 sarcomes ostéogéniques dont 8 purs et 2 à tissus combinés et 1 sarcome fibroblastique.

2 - 1 : lésions osseuses :

a) Date d'apparition :

A cause du schéma expérimental que nous avons utilisé, nous ne connaissons que les dates d'apparition des manifestations cliniques qui, dans tous les cas, se situent entre le 247^{ème} et le 300^{ème} jour après la contamination.

b) Aspect histologique :

- sarcomes fibroblastiques : une seule tumeur a la structure d'un sarcome fibroblastique, sarcome formé par des cellules conjonctives non ostéogéniques.

- sarcomes ostéogéniques : les autres tumeurs sont des sarcomes ostéogéniques, sarcomes formés à partir des cellules conjonctives ostéogéniques, prenant naissance à l'intérieur de l'os. Il en existe deux types :

1) Sarcomes ostéogéniques purs (8 au total)

Dans quatre des tumeurs, la spécialisation osseuse est extrêmement marquée. Dans la métaphyse, l'os spongieux normal est complètement ou partiellement résorbé. A la place, il existe des plages de tissu osseux tumoral, n'ayant pas la structure lamellaire normale (figure 10). Sur un même tibia, les travées sarcomateuses sont aux différents stades de leur évolution : certaines sont en voie de croissance, d'autres ont arrêté leur développement. Il est intéressant de noter que les ostéoblastes, une fois inclus dans la matrice, deviennent des cellules plus petites, moins monstrueuses, dans un certain état de repos qui semble être définitif (26).

Sur les quatre autres sarcomes, les différenciations sont moins marquées. De taille plus petite, ces tumeurs se présentent sous forme de petits flots tumoraux faits de cellules d'allure franchement sarcomateuse, isolées ou groupées en cordons. Ces cellules sont bi, tri ou tétranuclées. On note, déjà, un début d'ossification avec un matériel important de fibres collagènes ou des plages de tissu ostéocide.

2) Sarcomes ostéogéniques à tissu combiné (2 cas)

Contrairement aux formes précédentes, où la différenciation est exclusivement osseuse, ces deux sarcomes sont constitués par des travées ostéoïdes ou osseuses, d'allure tumorale avec des plages ayant l'aspect de sarcomes fibroblastiques et des régions chondrosarcomateuses. Les formes de transition sont fréquentes.

c) Siège :

Alors que l'aspect histologique est peu différent de celui observé en pathologie humaine, le siège de ces tumeurs leur confère une certaine personnalité. Les formes peu étendues permettent de retrouver le point de départ du processus cancéreux. Comme le montrent les autoradiographies, l'origine se trouve dans les zones correspondant au maximum de fixation du ⁹⁰ Sr. En effet, tandis que deux tumeurs siègent dans l'épiphyse, les autres foyers de cancérisation se répartissent dans les zones suivantes de la métaphyse : dans deux cas, sur le pourtour des trabécules, dans quatre cas, le long du cartilage de conjugaison dont ils restent séparés par un espace ; dans trois cas, enfin, les tumeurs envahissent toute la métaphyse.

Un caractère anatomo-pathologique de ces sarcomes est la fréquence des formes multicentriques primaires montrant l'existence de plusieurs foyers de cancérisation, qui par la suite, peuvent confluer, formant une masse tumorale unique.

d) Diffusion :

La diffusion de ces tumeurs est variable et semble dépendre de leur forme histologique. Le sarcome fibroblastique et les deux sarcomes ostéogéniques à tissu combiné se sont extériorisés dans les parties molles. A cet endroit, l'aspect est très indifférencié (figure 11)

Les sarcomes ostéogéniques purs sont restés bien localisés à l'intérieur de l'os. L'os compact n'est érodé que dans 4 cas, ceci est dû à la présence de la tumeur le long de l'endoste. La réaction d'irritation périostée n'est pas retrouvée de manière constante (5 cas).

e) Ces observations appellent quelques commentaires :

- le nombre important (9 rats sur 10) de sarcomes osseux obtenus au cours de cette expérimentation montre de manière évidente l'action carcinogénétique du ⁹⁰ Sr. Le cas de l'unique rat (n° 16) mort tardivement (au 319^{ème} jour de l'expérience) sans lésion osseuse, paraît assez insolite. Nous nous bornerons à constater que cet animal est,

en fait, mort d'une infection respiratoire et non de mort naturelle. Il est donc impossible d'affirmer qu'il aurait atteint le terme de son existence sans développer un cancer osseux.

- une certaine susceptibilité individuelle de chaque rat à l'agent cancérogène se manifeste. Un rat a développé plus vite qu'un autre une tumeur de même type histologique.

Des rats sacrifiés dans le même temps ont des tumeurs plus ou moins développées.

Deux rats seulement présentent des sarcomes bilatéraux. La bilatéralisation d'une tumeur ne signifie pas une extension du processus cancéreux. Chaque tibia, ici, réagit particulièrement à l'agent local de cancérisation.

f) En dehors des sarcomes, les autres tibias sont le siège de lésions spécifiques d'irradiation chronique qui consistent :

- en une nécrose aseptique des trabécules osseuses de la métaphyse
- en des troubles de résorption avec présence de cartilage dans certaines lames non résorbées (figure 12)
- en des modifications du cartilage, irrégulier, épaissi par endroit.

2-2 : Autres lésions :

La moëlle osseuse est profondément endommagée (figure 13 et 14). Les altérations sont étendues dans toute la métaphyse sur une hauteur de 300 µ à partir du bord inférieur du cartilage de conjugaison. Cette moëlle est déserte. L'aplasie porte sur toutes les lignées. Dans deux cas seulement, on observe une hypoplasie discrète localisée. La rate et les ganglions mésentériques et vertébraux ont une architecture normale et ne présentent pas de lésions microscopiquement décelables, à l'exception d'un cas où la rate est envahie par de nombreux abcès. L'examen microscopique des poumons de tous ces rats n'a révélé aucune lésion pouvant évoquer une dissémination des sarcomes osseux. Ces sarcomes *in situ* n'ont pas encore eu le temps de produire des métastases. Trois rats sont porteurs d'une ulcération nasogénienne. L'examen histologique a montré, dans un cas, un épithélioma spinocellulaire malpighien à globes cornés s'infiltrant jusqu'à l'émail dentaire. Le maxillaire sous-jacent est atteint d'une fibrose discrète. Il est difficile d'établir l'étiologie de cette tumeur qui ne fut retrouvée que sur un rat. Les épithéliomas de la peau peuvent survenir spontanément chez les rats. L'incidence en est peu élevée (une tumeur épithéliale pendant 5 ans à l'Institut Wistar sur 720 animaux). Ils surviennent généralement sur des rats plus âgés et sont de type baso-cellulaire, et parmi nos rats témoins, nous avons observé chez l'un d'entre eux un épithélioma basocellulaire au 104^{ème} jour. Chez le rat contaminé, l'épithélioma attire notre attention par son originalité : il est apparu précocement au 259^{ème} jour, et il est de type spinocellulaire.

2-3 : Pathologie des témoins :

Deux animaux du lot témoin, morts entre le 90^{ème} et le 320^{ème} jour, date de la disparition des animaux contaminés, n'ont présenté aucune atteinte histologiquement décelable. Les huit derniers témoins ont été conservés pour chercher l'apparition de tumeurs spontanées. Deux animaux seulement sont porteurs de lésions malignes : un réticulo sarcome pulmonaire au 575^{ème} jour et un épithélioma basocellulaire au 1047^{ème} jour.

- au 207^{ème} jour, un rat succombe au cours d'une anesthésie
- à la période tardive, au 259^{ème} jour, un rat témoin sacrifié ne présente qu'une ostéoporose discrète
- les huit rats ayant échappé au sacrifice systématique, ou à une mort généralement provoquée par un anesthésique, sont conservés dans l'animalerie et surveillés.

Au 575^{ème} jour, nous tuons un rat en raison de troubles respiratoires importants. L'examen histologique a mis en évidence un réticulosarcome pulmonaire avec métastases ganglionnaires.

Au 590^{ème} jour, deux rats sont morts, l'examen montre chez l'un, une hypertrophie cardiaque, et un infarctus pulmonaire, chez l'autre, une pasteurellose pulmonaire.

Au 750^{ème} jour, un rat est sacrifié en raison d'une ulcération maxillofaciale, traduisant le développement d'un ostéochondrome du conduit auditif interne.

Au 1047^{ème} jour, une ulcération cutanée de la région dorsale motive le sacrifice d'un rat. L'examen histologique révèle un épithélioma basocellulaire.

Au 1076^{ème} jour, un rat est sacrifié, il est porteur d'une néphrite tubulaire et d'une pasteurellose pulmonaire.

CONCLUSIONS

Il ressort de cette expérience, tout d'abord que l'injection de 100 μ Ci de ^{90}Sr à des rats Wistars, de 5 mois, est une technique expérimentale qui permet de provoquer des tumeurs osseuses avec une fréquence très élevée. Ces tumeurs sont des sarcomes ostéogéniques purs ou combinés qui apparaissent tous dans un délai de 8 à 10 mois après l'injection. Elles sont accompagnées de lésions typiques d'une irradiation chronique du tissu osseux.

Cette atteinte du squelette est accompagnée de modifications hématologiques précoces portant sur toutes les lignées. Ces lésions sont visibles dans le sang et confirmées par l'examen anatomo-pathologique de la moëlle osseuse. La cytopénie sanguine apparaît à la fin de la deuxième semaine, passe par un maximum vers le 21^{ème} jour et tend à régresser, bien que l'irradiation de la moëlle continue.

Les lésions osseuses et hématologiques ne sont accompagnées d'aucune modification de la dynamique osseuse des ions strontium.

Nous ne pouvons relier ces lésions à une irradiation effectivement reçue par les différents tissus car nous ne disposons d'aucune technique expérimentale valable.

Il faut souligner, enfin, que le but recherché par cette expérience était essentiellement de déterminer l'activité en ^{90}Sr nécessaire pour provoquer des tumeurs osseuses sans mettre en jeu la vie de l'animal et par la même de tester, vis-à-vis de ces problèmes, la source de rats disponible en notre laboratoire.

D'autres expériences préalables avaient montré que l'injection d'une activité supérieure à 100 μ Ci de ^{90}Sr entraînait une létalité précoce extrêmement élevée. L'expérience que nous avons réalisée montre qu'en injectant 100 μ Ci de ^{90}Sr à des animaux sous surveillance clinique sérieuse, il est possible de provoquer l'apparition de sarcomes osseux avec une fréquence élevée.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] CASARETT G.W., TUTTLE L.W., BAXTER R.C.
Report UR 597, University of Rochester, 1961
- [2] DOWNIE E.D., MACPHERSON S., RAMSDEN E.N.,
SISSONS H.A., VAUGHAN J.
Brit. J. Cancer, 1959, 13, 408-423
- [3] FINKEL M.P., LIESCO H., BRUES A.M.
Quarterly report, ANL 5378, Argonne National
Laboratory, 1955, 106-118
- [4] FINKEL M.P.
In : University of Texas, Anderson Hospital and Tumor
Institute - Radiation biology and cancer
(Austin, University of Texas press) 1959, 310-315
- [5] GRAF B., LAFUMA J.
Int. J. Rad. Biol., 1963, 7, 601-618
- [6] GRAF B., LAFUMA J.
Bull. Cancer, 1965, 52, 55-62
- [7] HARRISON G.E., KOSTIAL-SIMONOVIC K., HOWELLS G.R.
Int. J. Rad. Biol., 1962, 4, 623
- [8] HELLER H.E.
Histopathology of Irradiation Ed. W. Bloom, (New York,
Mac Graw Hill Book Company), 1948
- [9] JAFFE H.L.
Tumours and Tumorous Conditions of the Bone Joints
(Ed. Lea et Febiger), 1959
- [10] KAHN D.S., MAKHANI J.S., SKORYNA S.
Symposium sur la radiosensibilité, Québec 1962,
Laval Medical, 1963, 34, 169-183
- [11] LACASSAGNE A.
Cancers produits par rayonnements électromagnétiques.
Cancers produits par rayonnements corpusculaires
Paris Hermann 1945 Vol. III et IV

- [12] LAFUMA J.
J. Radiol. Electrol., 1962, 43, 409
- [13] Mac CLELLAN R.O. et coll.
Rapports HW 72 500, 36-40 ; HW 76 000, 1-10
Hanford Laboratories, 1962, 1963
- [14] Mac PHERSON S., OWEN M., VAUGHAN J.
Brit. J. Radiol., 1962, 35, 221-235
- [15] MASSON P.
Diagnostic des tumeurs humaines. (Paris, Masson) 1956
- [16] MOSKALEV Yu I., STRELTSOVA V.N.
Byull. Eksp. Biol. Medits, 1965, 54, 428-440
- [17] MOLE R.H.
Brit. J. Cancer, 1963, 17, 524-531
- [18] NILSSON A., ULLBERG S.
Use of radioisotopes in animal biology and the medical
Sciences, Mexico 1961 (London, Academic Press)
1962, vol. 2, 21-32
- [19] OWEN M.
Some aspects of internal irradiation. Heber, 8-11 May 1961,
Ed. Th. F. Dougherty (Oxford, Pergamon press), 1962, 409-421
- [20] OWEN M.
6ème Congrès Nucléaire. Rome 17-18 Juin 1961
- [21] RAY R., DUNCAN PH.
Bone and Joint Surg., 1956, 38 A, 160
- [22] SUNDARAM K.
Ed. R.J.C. Harris, Cellular basis and aetiology of late somatic
effets of ionizing radiation. (Londres, Academic Press),
1963, 139-144

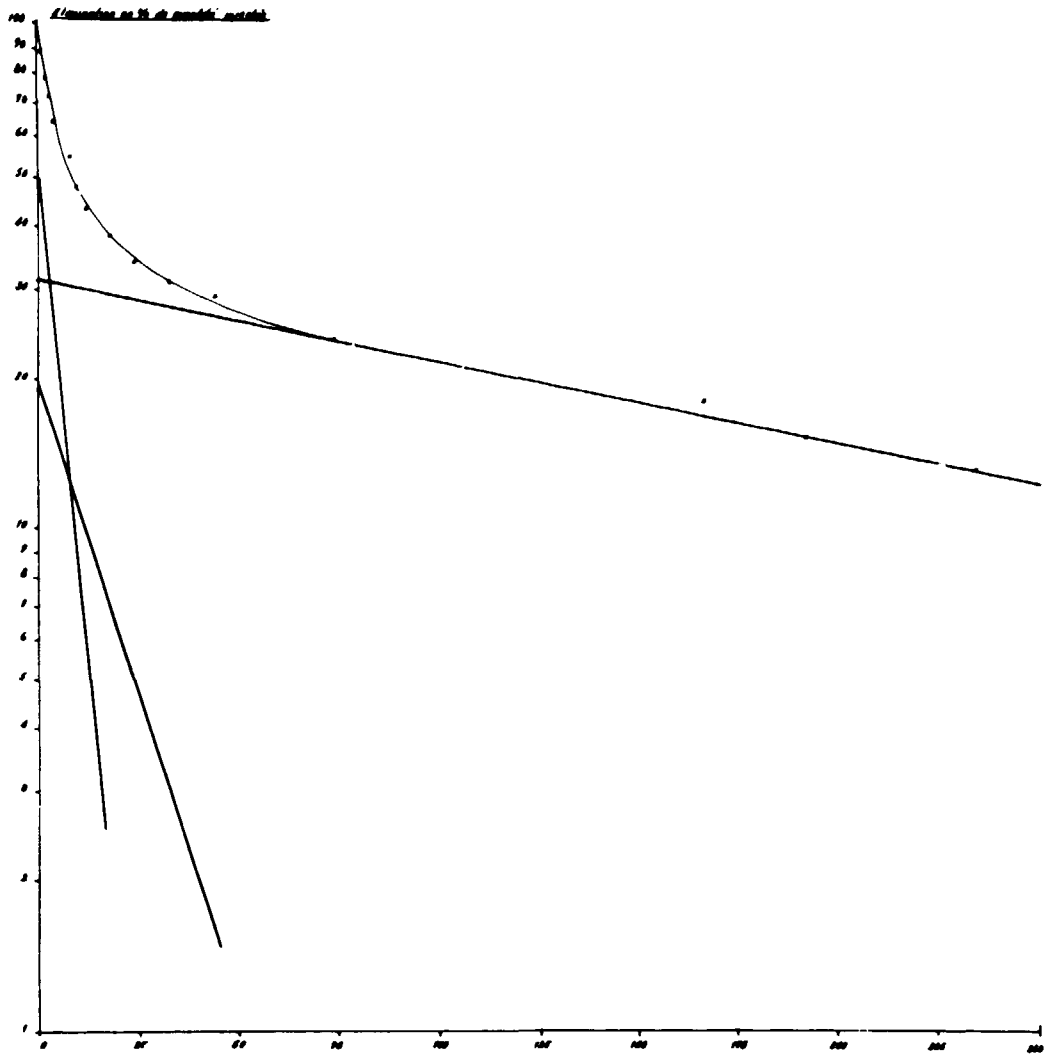


Figure 0
 Elimination en fonction du temps (moyenne sur tous les rats).
 Décomposition graphique en trois exponentielles

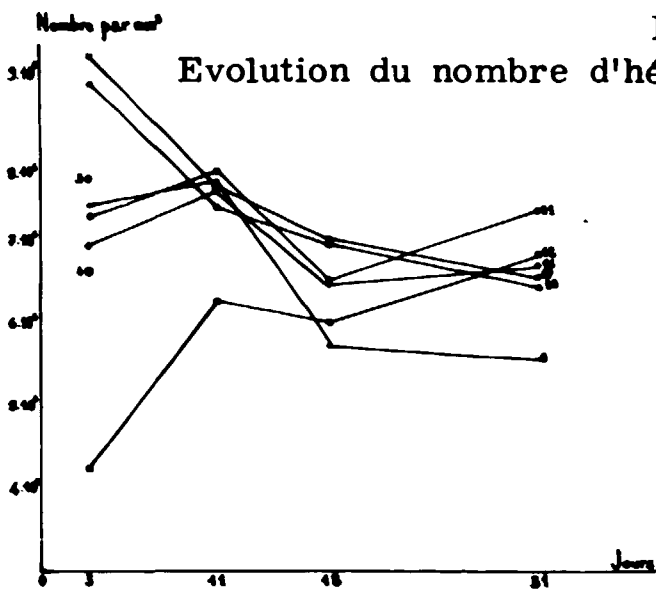


Figure 1
 Evolution du nombre d'hématies chez les rats contaminés

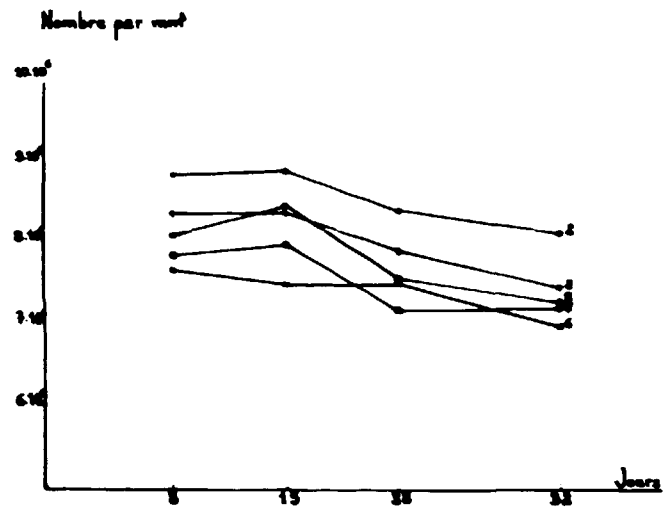


Figure 2
 Evolution du nombre d'hématies chez les rats témoins

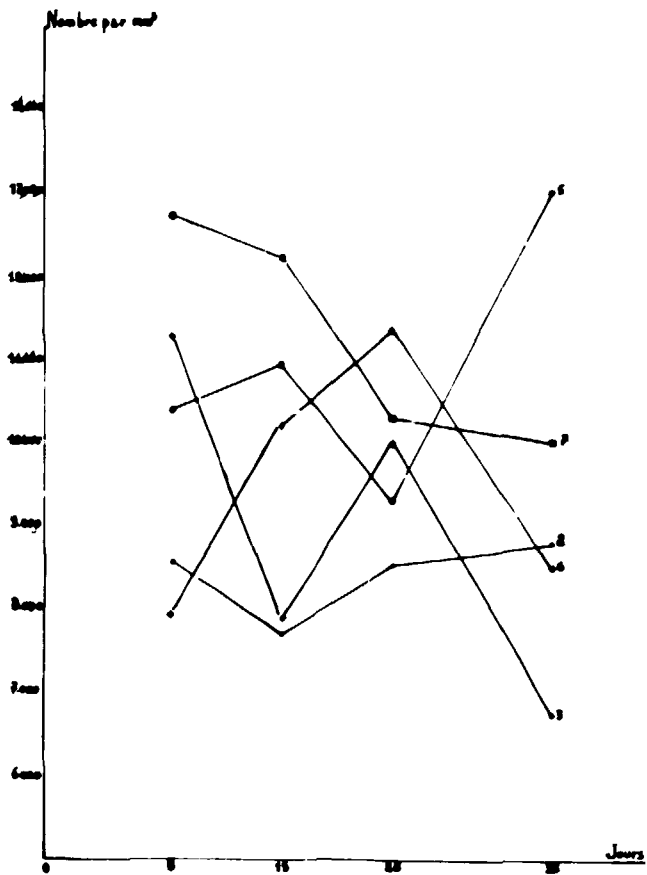


Figure 3

Evolution du nombre de leucocytes chez les rats témoins

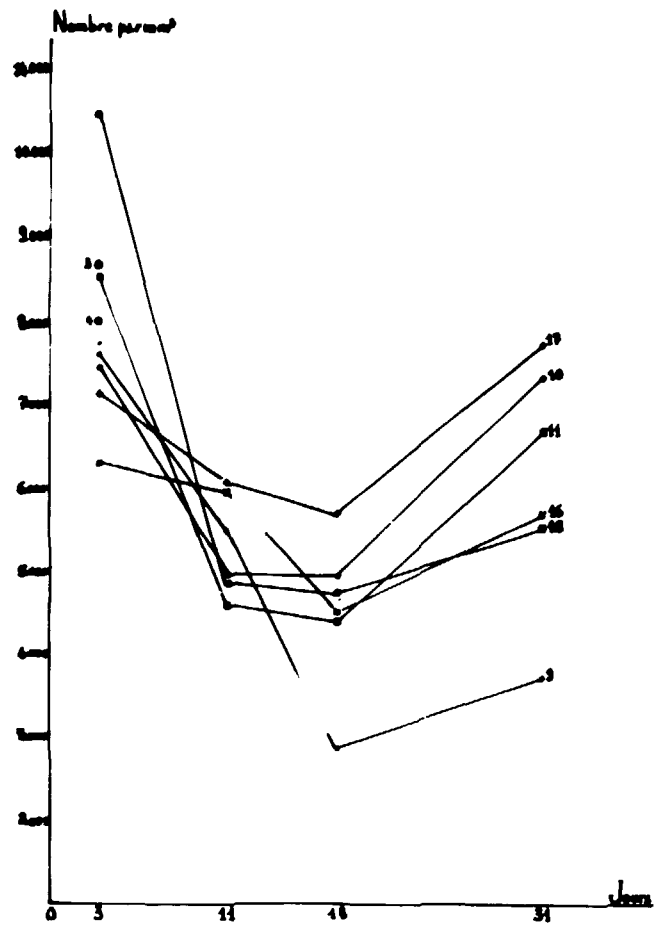


Figure 4

Evolution du nombre de leucocytes chez les rats contaminés

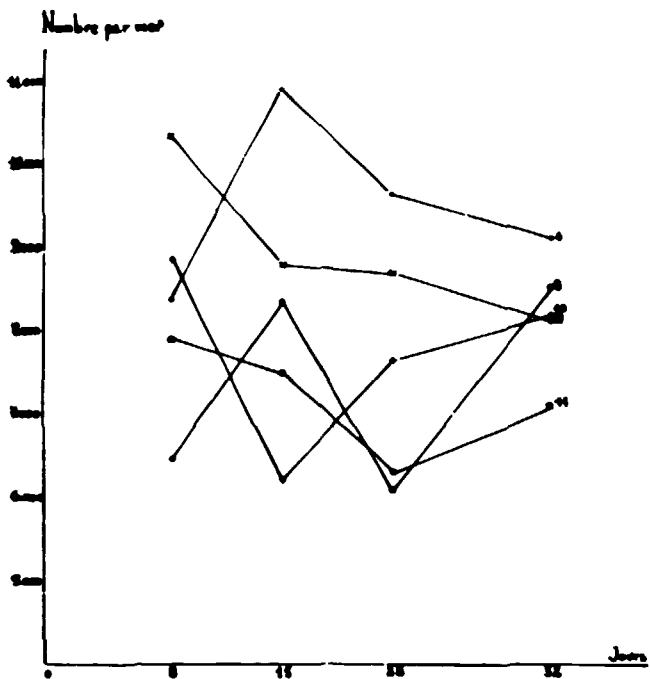


Figure 5

Evolution du nombre de lymphocytes chez les rats témoins

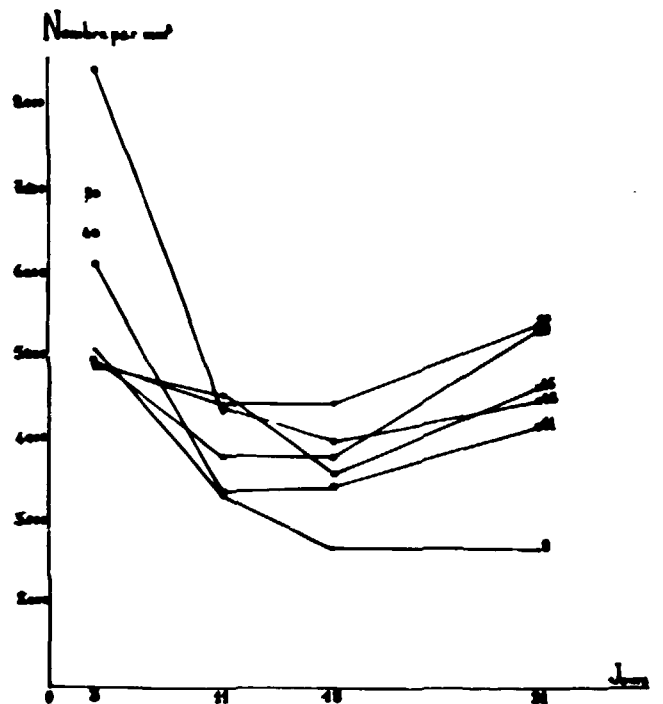


Figure 6

Evolution du nombre de lymphocytes chez les rats contaminés

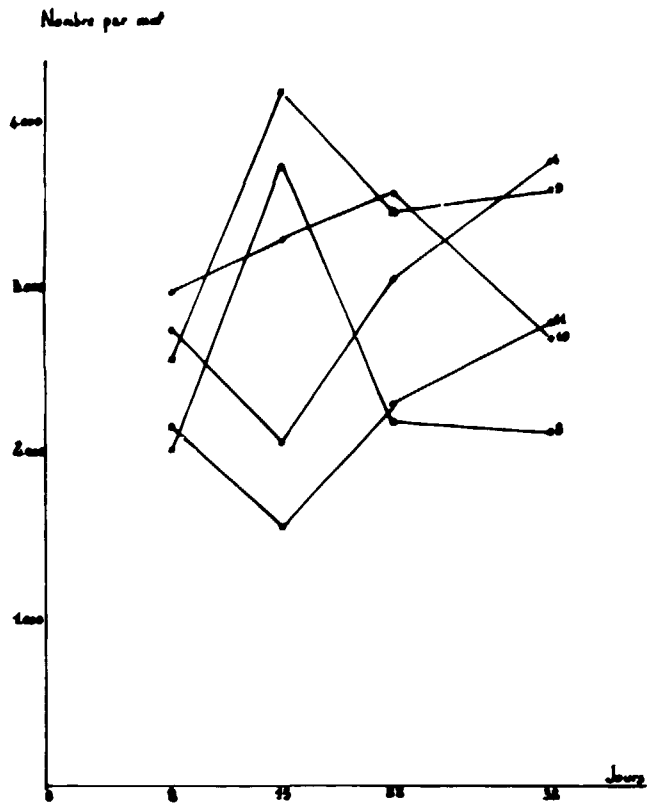


Figure 7
Evolution du nombre de granulocytes chez les rats témoins

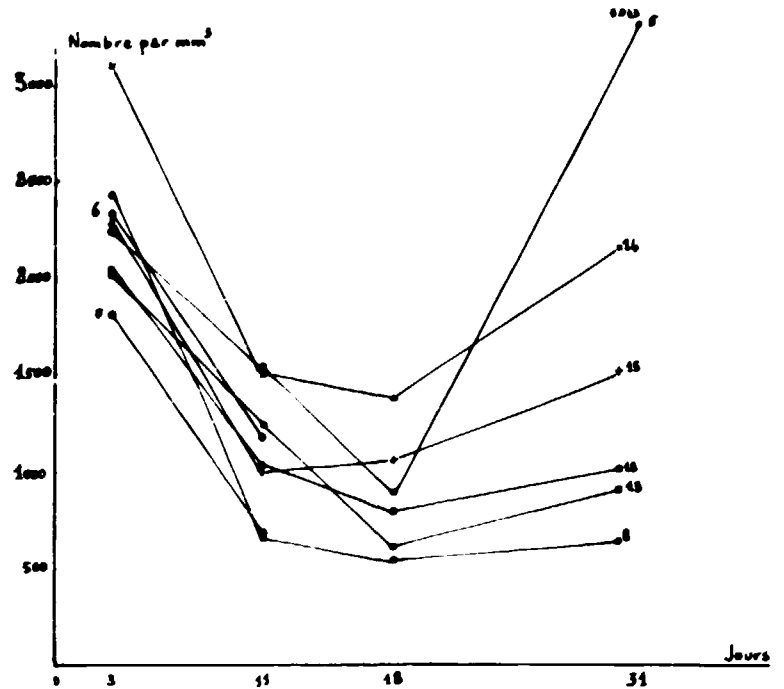


Figure 8
Evolution du nombre de granulocytes chez les rats contaminés

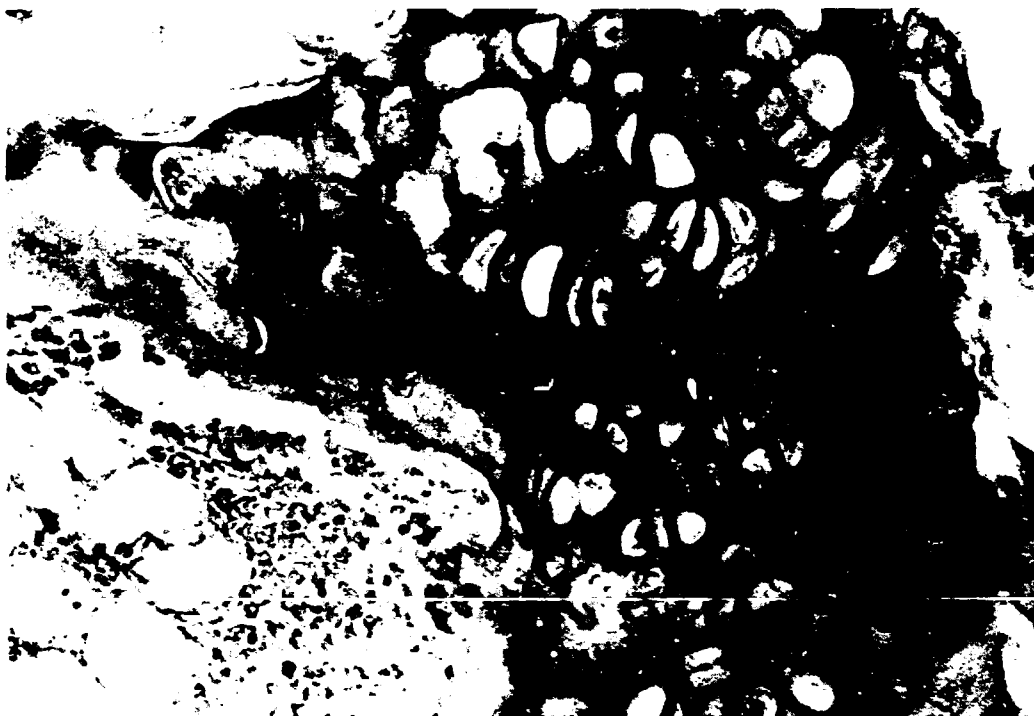


Figure 9
Modifications du cartilage épiphysaire. Noter une désorganisation, des altérations des chondrocytes, l'absence d'ossification enchondrale, comme en témoigne la disparition des ostéoblastes le long de la trabécule. G x 45 (coloration Bleu Alcian, Rouge Nucléaire) 90 ème jour .

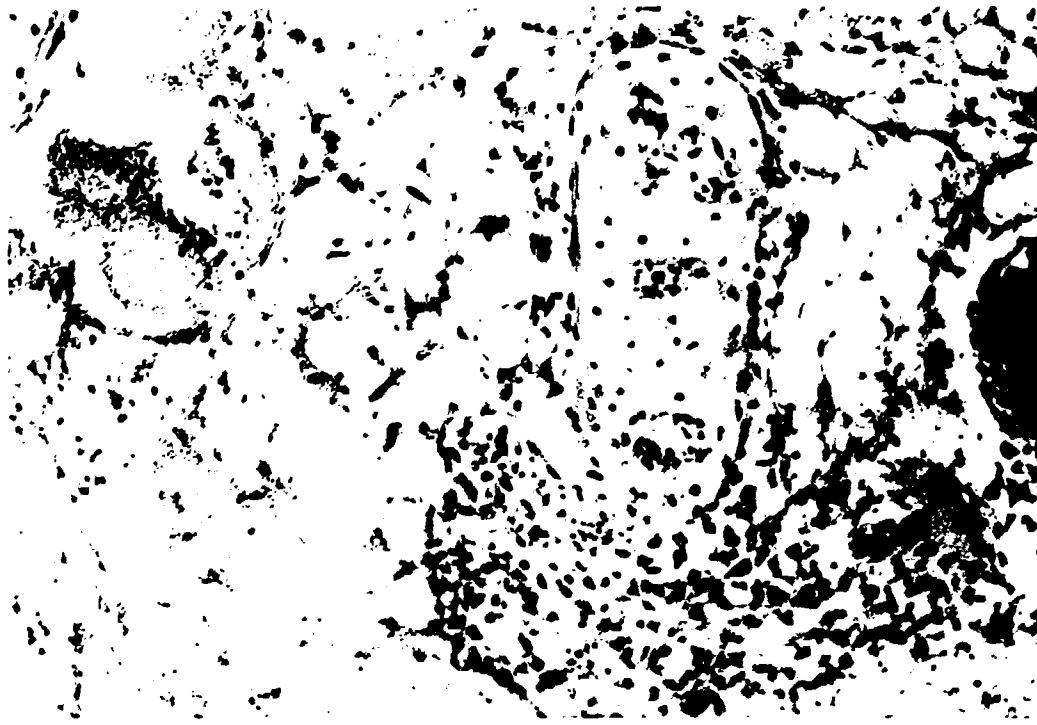


Figure 10

(0=12,5) Ostéosarcome ostéogénique d'origine centrale
 Dans la cavité médullaire, séparé du cartilage de conjugaison, s'est constitué l'ostéosarcome. 3 régions sont visibles de haut en bas : une plage constituée par des travées ostéoïdes peu anarchiques englobant des cellules peu fertiles, une deuxième plage faite de travées osseuses tumorales entourées d'ostéoblastes monstrueux très fertiles, enfin une troisième plage constituée uniquement de cellules sarcomateuses au sein d'une moëlle fibrillaire.

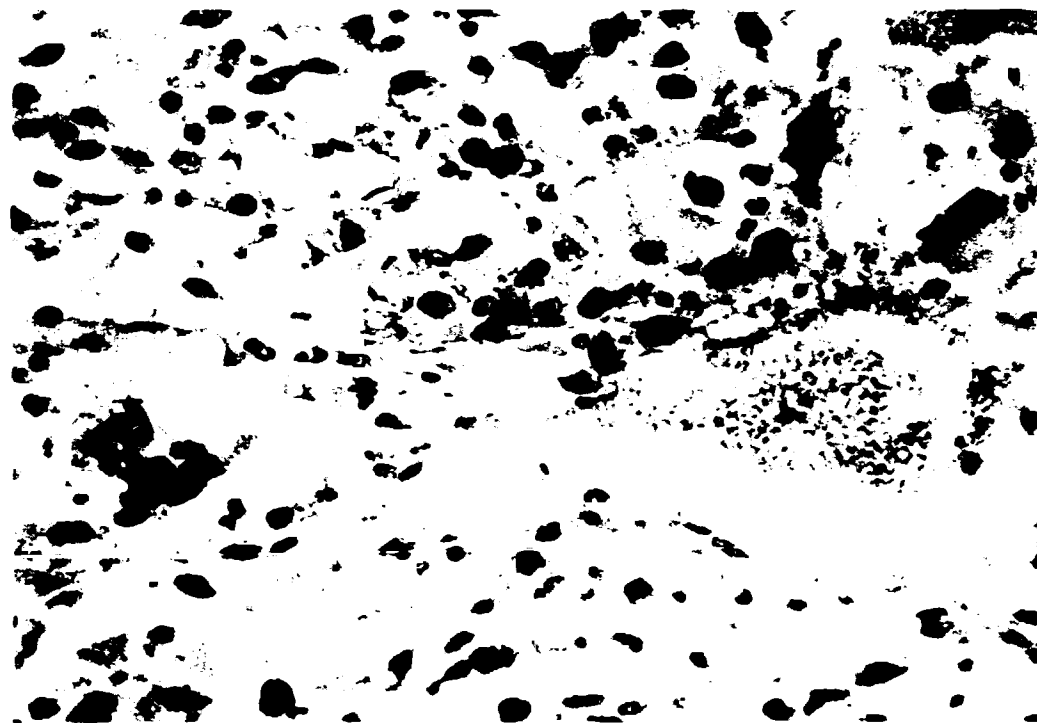


Figure 11

Sarcome fibroblastique extériorisé dans les parties molles (0 =25)
 De nombreuses cellules géantes sont visibles ainsi que des phénomènes de nécrose et d'hémorragies intratumorales

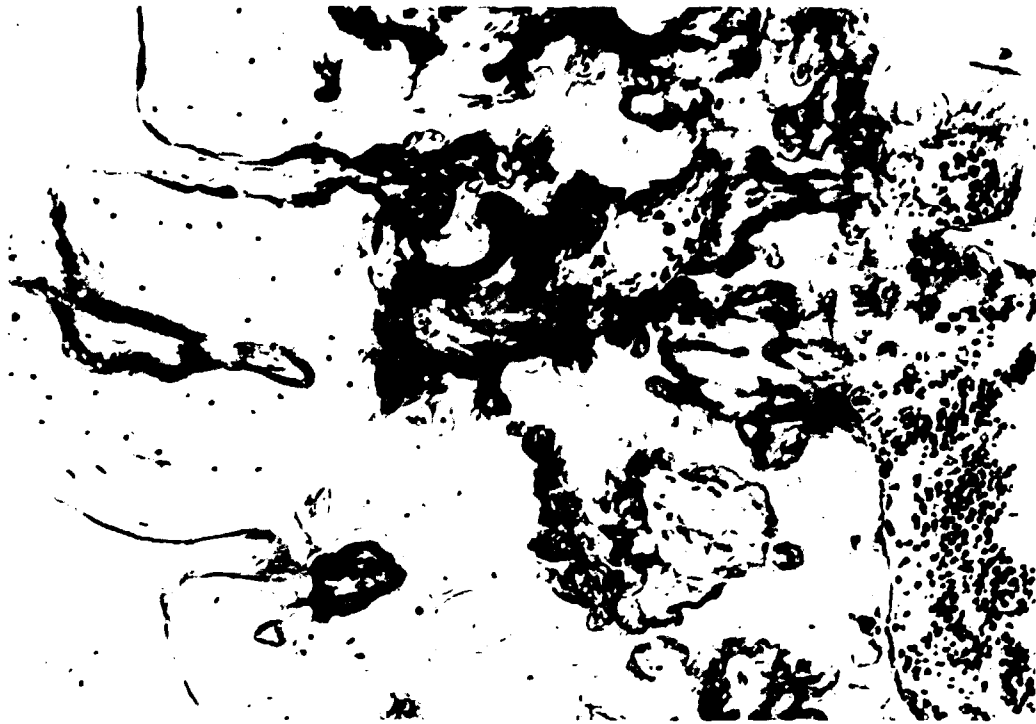


Figure 12

Présence dans la métaphyse d'une région pathologique constituée par des trabécules osseux fibrosés et des plages importantes de cartilage non résorbé. A la partie supérieure, reprise de l'activité médullaire. A la partie inférieure, l'aplasie est sévère. G x 450 (Col Hemalun Eosine) 259 ème jour

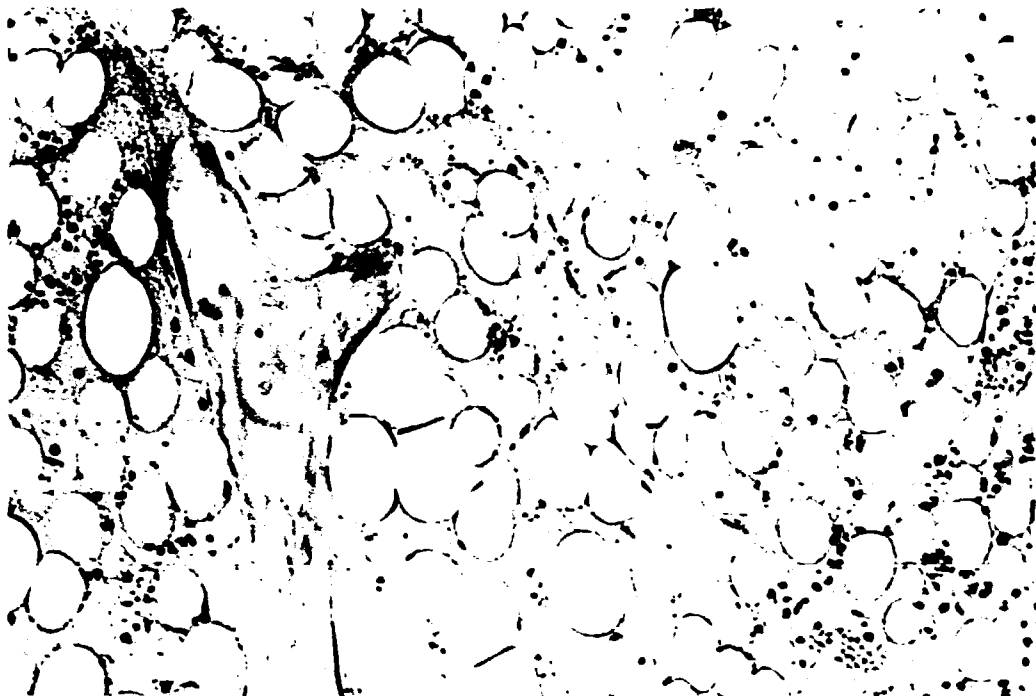


Figure 13

Aplasia médullaire. Dégénérescence adipeuse. Noter aussi l'existence d'un oedème important. G x45 (Col. Hemalun Eosine) 257 ème jour

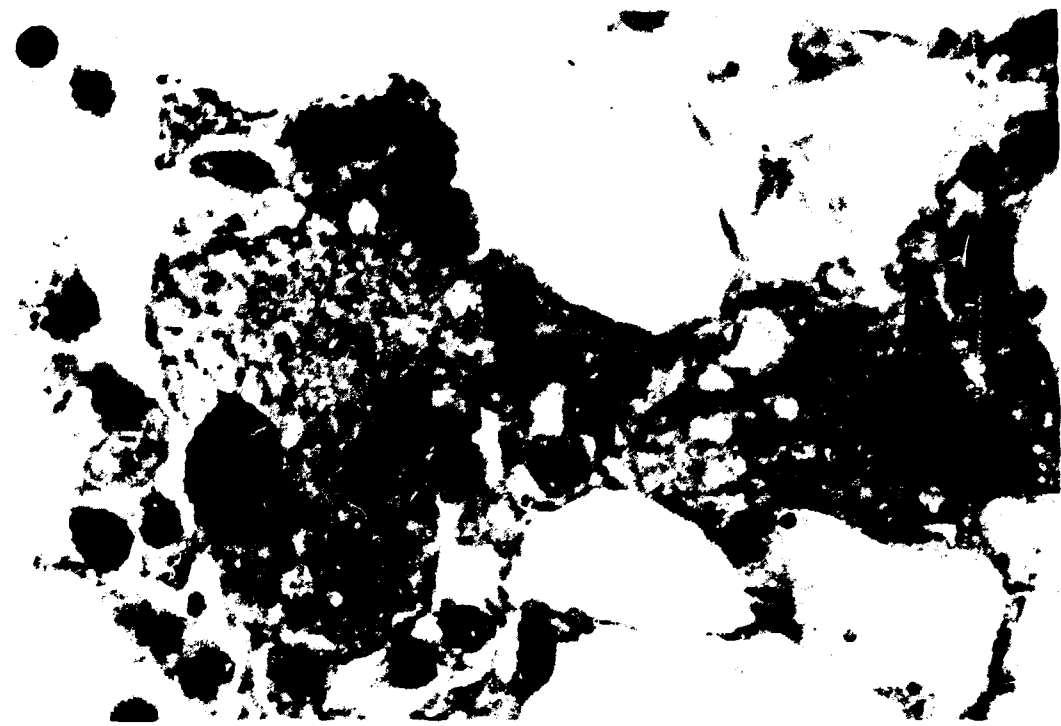


Figure 14

Cellules réticulaires entourées d'erythroblastes. Noter l'hyper-trophie de ces cellules et l'aspect en motte de la chromatine dans les deux noyaux. $\bar{G} \times 4\ 000$ (coloration de Barrette) 259 ème jour

FIN