

L'EFFET DE LA LEUCOTROPHINE SUR LE REPEUPEMENT DE LA RATE AVEC DES CELLULES FONCTIONNELLES CHEZ LES SOURIS IRRADIÉES

PAR

MARIA SENA CRIVII, Z. URAY, MONICA CRISAN et ROZALIA AJTAI

Using the migration inhibition test *in vitro* in irradiated mice we have shown the decrease of migration capacity of cells in the splenic explant and the lack of migration inhibition factor (MIF).

The animals treated with leucotrophine 6 days after irradiation exhibit the repopulation of the spleen with functional cells, as shown by the increase of migration capacity and the presence of the migration inhibition factor.

The behaviour of irradiated and leucotrophine treated animals was similar with that of control nonirradiated and treated animals.

Le test de l'inhibition de la migration des leucocytes est souvent employé pour la détection de l'immunité cellulaire chez l'homme et chez les animaux. Ainsi, il est appliqué dans l'étude de l'hypersensibilité retardée [3], [6], l'autoimmunité [1], l'immunité antitumorale [9], l'immunité de transplant.

Certains auteurs ont trouvé que les différents extraits du thymus ont un effet stimulateur sur la lympho-leucoérythropoïèse et sur l'immunité [7], [13]. Des études récentes viennent de montrer que la leucotrophine, extrait protéique du thymus, a un effet radioprotecteur et stimulateur sur la leucoérythropoïèse [2], [11]. Sur la base de ces données, nous avons utilisé le test de l'inhibition directe de la migration des cellules spléniques pour obtenir des indications cytophysiologiques sur les éléments cellulaires impliqués dans ce procès, à la suite d'un traitement des souris irradiées avec de la leucotrophine.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Nous avons effectué les expériences sur des souris DBA, femelles, d'un poids de 20 ± 1 g, soumises à un régime standard.

Les animaux ont été partagés en 4 lots :

- (a) témoins non traités
- (b) témoins traités
- (c) irradiés non traités
- (d) irradiés traités.

L'irradiation a été effectuée en boîtes spéciales de plastique sous un appareil de radiothérapie TUR-I (180 kv, 10 mA, filtre 1 Cu, DEP =

= 40 cm, débit 23 R/min), la dose totale étant de 400 rad (100 rads/gamme). Après l'irradiation les animaux ont été injectés i.p. avec 0,2 ml leucotrophine (coresp. à 50 mg de glande fraîche), pendant 6 jours. Trois jours après, les animaux ont été sacrifiés.

Le test de l'inhibition directe de la migration a été effectué d'après la méthode de Sandru G. [12]. On a employé le milieu de culture IC-63 enrichi en sérum homologue inactivé à 56°C, 30 minutes, des antibiotiques et de la leucotrophine en concentration de 250 µg/ml.

Après la projection des surfaces de migration sur papier Watman 1, avec un microscope MC-1, les résultats exprimés en mg ont été calculés pour leur signification statistique par le test «t» de Student.

L'index de la migration a été calculé d'après la formule suivante:

$$IM = 100 \times \frac{\text{surface de migration en présence de la leucotrophine}}{\text{surface de migration du témoin}}$$

La positivité du MIF commence pour $IM < 80\%$.

On a introduit également le coefficient de corrélation qui peut nous montrer si les deux phénomènes observés (la migration et l'inhibition de la migration) sont interdépendants.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 1 et les figures 1 et 2.

Le tableau 1 montre que les témoins non traités ont une moyenne des surfaces de migration de $\bar{x} = 159,69$ mg et l'index de migration $IM = 103,34\%$ n'indique aucune influence significative ($p > 0,05$) si la leucotrophine est ajoutée au milieu de culture.

Les témoins traités pendant six jours ont une moyenne de 160,99 mg et $IM = 68,9\%$, ce qui peut indiquer que le facteur de l'inhibition de la migration (MIF) a été sécrété, c'est-à-dire qu'il s'agit d'une réponse lymphocytaire splénique ($p < 0,02$).

Les souris irradiées et non traitées présentaient des surfaces de migration diminuées, $\bar{x} = 53,99$ mg, ce qui montre une déplétion en cellules migratoires et/ou le baissement de la capacité physique de migration. De plus, chez ces animaux l'inhibition de la migration n'est pas présente ($\bar{x} = 56,83$, $IM = 107,49\%$, $p > 0,5$).

Les cellules spléniques des animaux irradiés et traités à la leucotrophine présentent une capacité de migration augmentée $\bar{x} = 119,72$, ainsi que la sécrétion de la lymphokine respective ($IM = 60,78\%$, $p < 0,01$), qui est mise en évidence par la présence de l'inhibition.

Ce phénomène peut être mieux étudié si on calcule les coefficients de corrélation entre les surfaces de migration en absence et en présence de la L, ainsi que l'aspect de la pente de régression linéaire. De cette manière nous avons obtenu des coefficients de corrélation très près de 1 (0,91 - 0,99), ce qui dénote l'interdépendance entre les deux phénomènes.

Tableau 1

La moyenne de la migration, l'index de migration (IM), le coefficient de corrélation et la pente de régression

GROUPE	La moyenne de la migration *		L'index de migration (IM)	Le coefficient de corrélation «r» et la pente de régression
	Sans L	Avec L		
1. Témoins non traités (n = 5)	215,83 *	225,50	104,48	r = 0,975 (p < 0,01) y = 0,847 x + 25,80
	215,00	192,00	89,30	
	86,66	102,66	118,46	
	102,33	108,25	105,78	
	178,66	176,33	98,69	
	$\bar{X} = 159,69$ ES = ±27,63	$\bar{X} = 160,94$ ES = ±24,08	$\bar{X} = 103,34$ ES = ±4,77	
	t = 0,034	p > 0,5		
2. Témoins traités à la leucotrophine (n = 5)	197,33	140,00	70,94	r = 0,964 (p < 0,01) y = 0,738 x - 7,77
	188,00	131,66	70,03	
	145,33	97,00	66,74	
	128,66	95,33	74,09	
	145,66	91,33	62,70	
	$\bar{X} = 160,99$ ES = ±13,40	$\bar{X} = 111,06$ ES = ±10,26	$\bar{X} = 68,90$ ES = ±1,94	
	t = 2,96	p < 0,02		
3. Irradiés non traités (n = 6)	48,33	50,66	104,82	r = 0,99 p < 0,001 y = 0,822 x + 12,436
	42,66	45,00	105,48	
	38,33	47,00	122,61	
	39,00	44,66	114,51	
	80,33	77,66	96,67	
	75,33	76,00	100,88	
	$\bar{X} = 53,99$ ES = ±8,41	$\bar{X} = 56,83$ ES = ±6,98	$\bar{X} = 107,49$ ES = ±3,88	
	t = 0,28	p > 0,5		
4. Irradiés traités à la leucotrophine (n = 6)	83,33	48,33	57,99	r = 0,907 (p < 0,01) y = 0,574 x + 4,065
	85,00	53,33	62,74	
	138,00	91,33	66,18	
	147,00	75,33	51,24	
	131,66	84,33	64,05	
	133,33	83,33	62,49	
	$\bar{X} = 119,72$ ES = ±11,49	$\bar{X} = 60,78$ ES = ±7,26	$\bar{X} = 60,78$ ES = ±2,20	
	t = 3,94	p < 0,01		

* — chaque valeur représente la moyenne pour 3 surfaces de migration ; \bar{X} — la moyenne ; ES — l'erreur standard ;

La figure 2 nous montre que chez les animaux non traités à la leucotrophine les pentes de régression sont parallèles et disposées sous un angle de $\cong 40^\circ$.

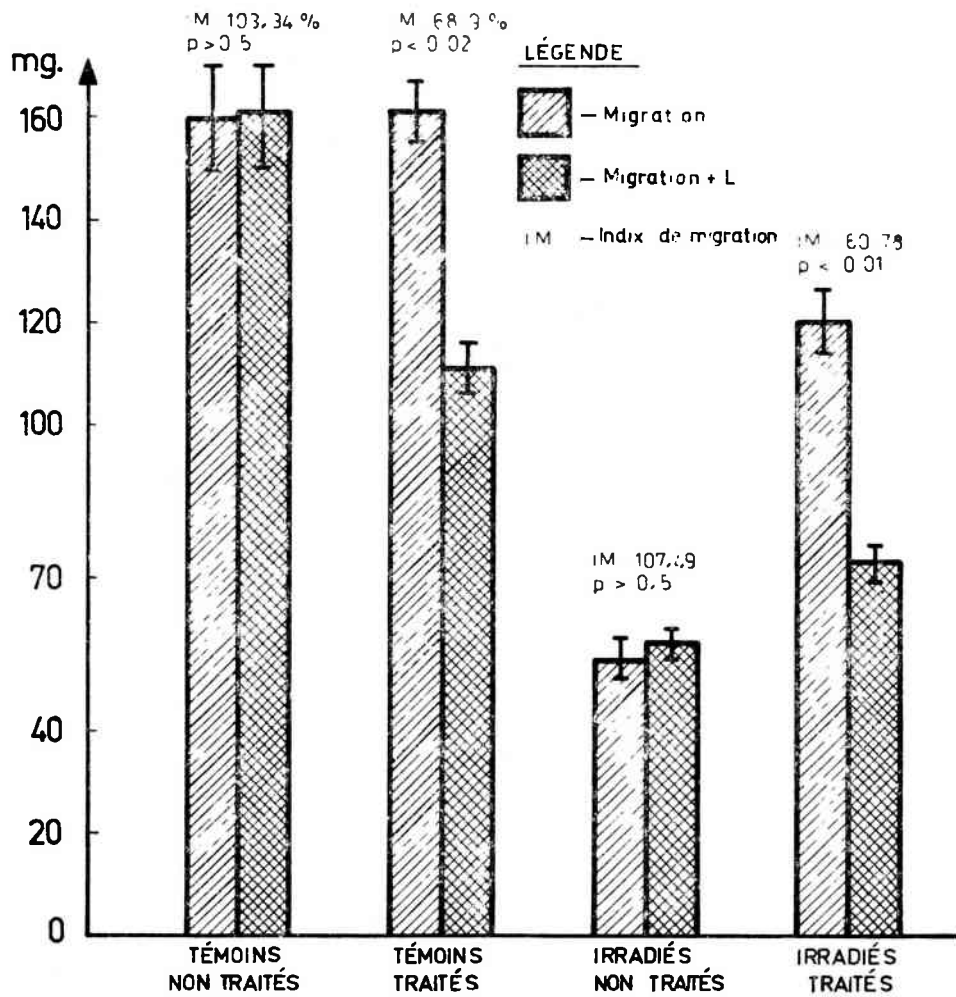


Fig. 1

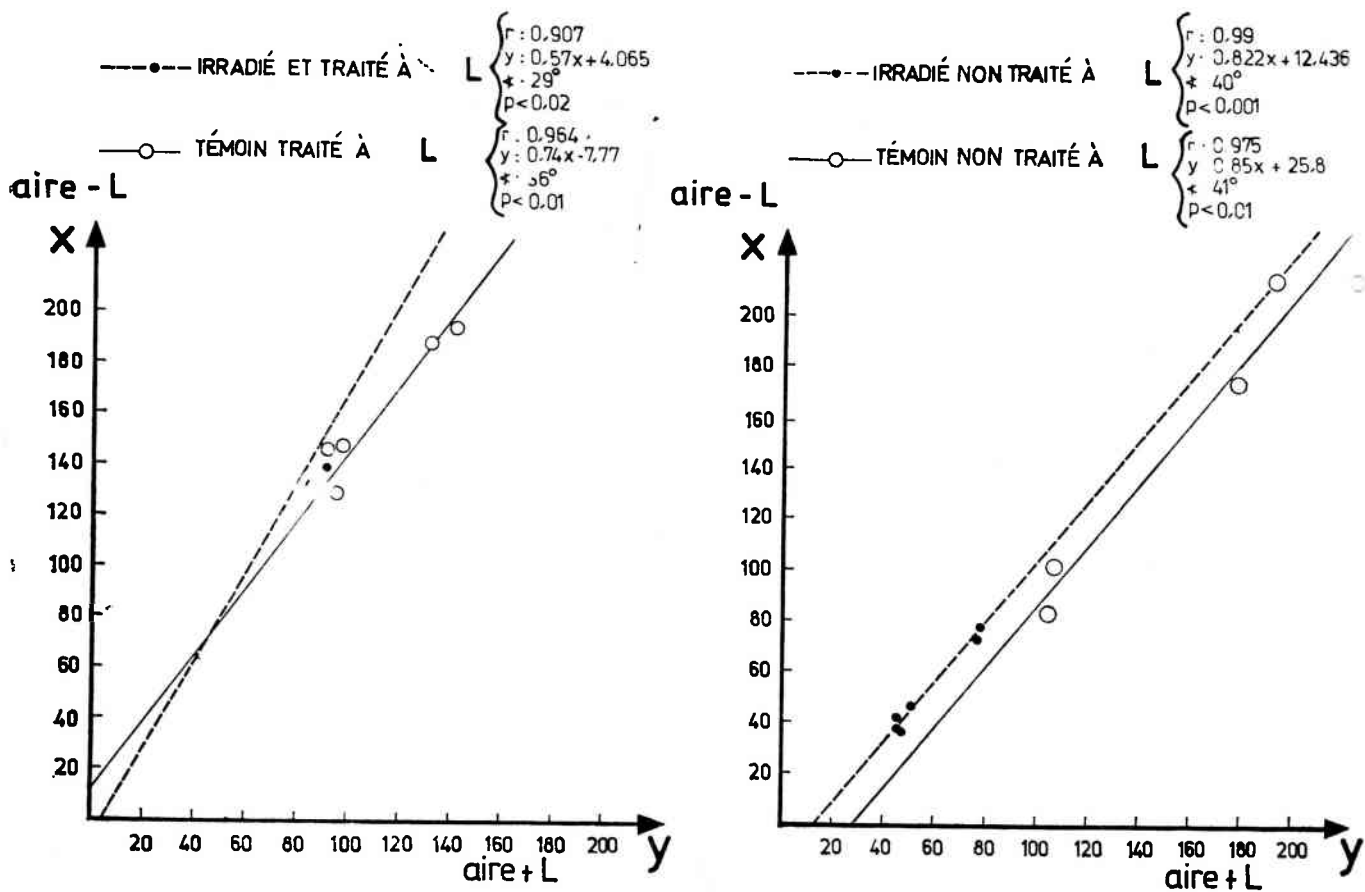


Fig. 2

Au cas des animaux traités le coefficient de corrélation est statistiquement significatif, mais d'après la pente de régression on peut observer que les animaux traités répondent plus fortement au traitement ($\angle = 29^\circ$, $p < 0,01$) que les animaux non irradiés ($\angle = 36^\circ$, $p < 0,02$).

Basés sur les données de la littérature nous pouvons supposer que l'augmentation de la surface de migration peut être provoquée par l'augmentation du nombre de cellules migratoires d'une part et par l'augmentation de leur capacité physique de migration d'autre part.

Nous pouvons corréler nos données avec celles de Rădulescu et collab. [11] et Uray [14], qui ont constaté dans la rate des souris irradiées une déplétion lymphocytaire accentuée, qui a comme suite la diminution et même la disparition des follicules lymphoïdes et l'estompation de la structure caractéristique de l'organe. Ces animaux présentent une petite capacité de migration (33,80% de la valeur du témoin). Le traitement à L apporte la restauration partielle du follicule lymphoïde et dans la pulpe rouge on voit de nouveau les lymphocytes; en même temps on observe la présence de centres de myélopoïèse et érythropoïèse. Kiricuta et collab. [2] et Coucourde [4] ont montré que la L a une action anti-leucopénique chez les malades.

La présence de l'inhibition de la migration est une preuve que le MIF a été élaboré par les lymphocytes venus pour le repeuplement de la rate des animaux irradiés. Ainsi, sous l'aspect de l'immunité cellulaire le test de l'inhibition directe de la migration peut indiquer la fonctionnalité des cellules impliquées, c'est-à-dire les granulocytes et les macrophages comme des éléments migratoires, d'une part, et les lymphocytes comme des éléments qui produisent le MIF, d'autre part.

On connaît également que la leucotrophine, tout comme la thymosine, [10] [7] stimule chez les cancéreux et chez les adultes normaux les lymphocytes T, et que la thymostérine [5] stimule les lymphocytes B chez les souris thymectomisées à la naissance.

CONCLUSIONS

Par le test de l'inhibition directe de la migration des cellules spléniques nous avons constaté :

- l'augmentation des surfaces de migration chez les souris irradiées et traitées à la leucotrophine;
- la présence de l'inhibition de la migration chez les souris irradiées et traitées;
- ces données peuvent être interprétées comme des épreuves en ce qui concerne l'effet de la leucotrophine sur le repeuplement de la rate des souris irradiées avec des cellules fonctionnelles.

BIBLIOGRAPHIE

1. BROSTOFF J., HOWELL A. and ROITT I. M., 1973, Clin. exp. Immunol., **15**, 1.
2. CHIRICUTA L., URAY Z., BAN CAMELIA, MANIU MARIANA, BUCUR MARIA, CARPEN M., Agresologie, sous presse.

3. CLAUSEN J. E. and SORBORG M., 1969, *Acta Med. Scand.*, **189**, 227.
4. COUCOURDE F., GARBAGBA P., 1970, *Minerva Med.*, **61**, 3516.
5. CRIVII MARIA SENA, TOMA V., 1978, *Rev. Roum. Biol. — Biol. Anim.*, **23**, 1, 83—84.
6. GEORGE M. and VAUGHAN J. H., 1962, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **111**, 514.
7. GOLDSTEIN A. L., ASANUMA J. R., BATTISTO M. A., HARDY J., QUINT J., WHAITE A., 1970, *J. Immunol.*, **104**, 359.
8. HARSAK J., 1973, *Biomedicine*, **19**, 213.
9. KADISH S. ANNA, MARCUS M. DONALD and BLOOM R. BARRY, 1976, *Int. J. Cancer*, **18**, 581—586.
10. LAURENTACI G., The 2th Congres of the Italian Society of Immunology, Rome, 1973, nov. 19—20.
11. RĂDULESCU ELENA, GALATAR NATALIA, URAY Z., BANU CAMELIA, NESTOR DRAGA, *Communication USSM, INST. ONCOLOGIC, Cluj-Napoca*, 1978.
12. SANDRU G., 1975, *European J. of Immunology*, **5**, 10, 729—731.
13. TRAININ N., 1974, *Physiol. Rev.*, **54**, 272.
14. URAY Z., MARIANA MANIU, CAMELIA BANU, 1978, *Oncologia*, **XVII**, 3, 193—198.

Reçu le 5 décembre 1978

*Institut Oncologique
Cluj-Napoca*