UTILISATION DES EFFETS CYTOGÉNÉTIQUES ⁽¹⁾ EN TANT QUE DOSIMÈTRE BIOLOGIQUE

M.T. BIOLA

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

L'irradiation in vivo provoque des lésions cellulaires. La proportion de cellules endommagées par rapport aux cellules saines dépend de la nature et de la quantité des rayonnements ionisants reçus. L'observation des anomalies chromosomiques fournit pour plusieurs raisons une bonne représentation des perturbations cellulaires produites par l'irradiation. En effet,

- les chromosomes, constituants essentiels du noyau, occupent un volume important dans la cellule,
- la structure des chromosomes se prête bien à la détection des impacts qu'ils ont subis. Ce sont de longs filaments, toujours individualisés les uns des autres, constitués principalement d'acide desoxyribonucléique (ADN). L'ADN est une très longue molécule en chaîne, enroulée sur elle-même en double hélice. Elle est entourée d'un manchon de protéines, qui augmente l'épaisseur des chromosomes et facilite leur observation au microscope.

Si une particule dont l'énergie est suffisante pour rompre les liaisons chimiques de l'ADN, atteint un chromosome, elle provoque une cassure chromosomique, qui, si elle persiste, pourra être décelée à une certaine phase du cycle mitotique.

Au cours de la division cellulaire se produit une duplication chromosomique. Chaque chromosome d'une des deux cellules-filles contient une des hélices de l'ADN de la cellule-mère, sur laquelle s'est synthétisée par moulage une nouvelle hélice d'ADN.

Si une cellule possédant une anomalie chromosomique subit une division, elle donnera naissance à des cellules comportant également une anomalie chromosomique.

Enfin les chromosomes jouent un rôle fondamental dans la vie cellulaire. Ils portent les gènes qui gouvernent les caractères héréditaires et de nombreux processus physiologiques de la cellule. Ces gènes sont alignés le long des chromosomes. Ils s'y suivent dans un ordre bien défini, toujours le même. Les propriétés de ces gènes dépendent de la nature même des molécules élémentaires qui les composent et de la séquence dans laquelle ces dernières sont rangées. De petites perturbations à l'intérieur des chromosomes peuvent avoir des répercussions importantes dans la cellule atteinte. Les chromosomes représentent les éléments

(¹) Les deux textes qui suivent, de M.T. Biola et R. Le Gô ont été présentés au cours d'une réunion scientifique tenue par la Société le 31 mars 1966 sur le thème « Aspects quantitatifs des effets biologiques de l'irradiation ».

Le troisième texte de cette réunion, présenté par G. Marblé, figurera dans le prochain numéro de ce bulletin.

les plus radiosensibles existant dans la cellule. C'est à leur niveau que se produisent les principales lésions cellulaires provoquées par l'irradiation.

La cytogénétique, ayant pour but l'observation des chromosomes d'une cellule, ne permet pas cependant de détecter toutes les atteintes produites au niveau des chromosomes; mais seulement celles qui sont suffisamment importantes pour être décelées par observation de la cellule à l'aide d'un microscope ordinaire. Malgré cette restriction, elle apportera cependant des informations sur l'atteinte cellulaire par irradiation.

I - PHASE DU CYCLE CELLULAIRE PERMETTANT L'OBSERVATION DES CHROMOSOMES

En dehors de la période de division cellulaire, les chromosomes bien qu'indépendants les uns des autres, ne se distinguent pas dans la masse plus ou moins homogène du noyau. Cette phase de repos est très longue par rapport à la phase de division cellulaire.

Quelques heures avant la division cellulaire une nouvelle double hélice d'ADN se synthétise tout le long de l'ancienne sur chaque chromosome, puis après une courte phase de repos débute la division cellulaire, appelée mitose.

Au cours de cette division, les chromosomes subissent des modifications de leur aspect morphologique provenant de la spiralisation de l'hélice d'ADN.

On distingue dans la mitose les phases successives :

- Au cours de la première, la prophase, les chromosomes se raccourcissent. Ils apparaissent alors sous forme de très longs filaments, très fins, flexueux, pelotonnés dans le noyau. Dans le cytoplasme se développe un fuseau achromatique, formé de fibres très fines dont les extrémités sont situées aux 2 pôles opposés de la cellule.
- Au cours de la métaphase, les chromosomes se raccourcissent encore. Chacun d'eux apparaît sous forme de 2 filaments réunis en un point : le centromère, dont le rôle consiste à diriger la migration des chromosomes au cours de la mitose.

Le centromère de chaque chromosome vient se fixer sur une fibre du fuseau achromatique dans le plan équatorial de la cellule, situé à égale distance des 2 pôles.

Les chromosomes restent un moment immobiles dans ce plan, c'est le stade où ils sont le mieux individualisés.

- Au cours de la troisième phase de la mitose, l'anaphase, le centromère de chaque chromosome se clive, chaque chromosome fils est entraîné par son centromère vers un pôle de la cellule, alors que son homologue est entraîné vers l'autre. Les 2 lots de chromosomes se regroupent aux pôles.
- Enfin commence le dernier stade, la télophase, le regroupement des chromosomes est terminé. Une membrane apparaît autour de chaque noyau fils. Le cytoplasme s'étrangle ou se fissure; la mitose est terminée. Les 2 cellules filles ainsi obtenues entrent dans une nouvelle phase de repos.

Au cours de la métaphase, les chromosomes sont bien individualisés. Le niveau où se situe le centromère de chaque chromosome est bien déterminé.

On peut alors reconnaître un chromosome d'après sa longueur relative et la position de son centromère.

On peut ranger les chromosomes d'une cellule somatique par paire; le classement par ordre de taille de toutes les paires de chromosomes d'une cellule constitue un caryotype. Les cellules somatiques humaines contiennent 23 paires de chromosomes. Une de ces paires, la paire sexuelle est formée de 2 éléments semblables chez la femme X - X — et de 2 éléments dissemblables chez l'homme X-Y.

Les caryotypes de toutes les cellules somatiques d'un sujet normal sont identiques. Les individus normaux d'une même espèce possèdent donc, à l'exception de la paire sexuelle, des caryotypes identiques.

La cytogénétique consistant en l'observation des chromosomes à ce stade, nous permet de déceler le mieux possible les anomalies produites à leur niveau.

II - TECHNIQUE PERMETTANT DE FAIRE DES OBSERVATIONS

Pour avoir une meilleure estimation de la proportion de cellules ayant subi une altération chromosomique provoquée par l'irradiation, il faut faire ces observations au cours de la première mitose qui suit l'atteinte, car comme nous allons le voir, la proportion de cellules lésées peut varier par la suite. De plus, il faut pouvoir observer un grand nombre de cellules en métaphase et arriver à disperser suffisamment les chromosomes contenus dans ces cellules à ce stade. Cette dispersion, qui a pour but l'élimination des superpositions des chromosomes, ne doit pas être trop importante, car on risquerait alors de perdre des chromosomes ou de confondre ceux de cellules différentes. Une technique récente, datant de 6 ans seulement, permet de faire ces observations sur les cellules du sang périphérique (1).

Dans l'organisme, une fois arrivées dans le sang périphérique, les cellules ne subissent plus de mitose. Il est possible cependant d'initier *in vitro* de nouvelles mitoses dans certaines catégories de leucocytes : les lymphocytes principalement et peut-être aussi les monocytes. Il faut pour cela faire incuber du sang pendant 3 jours à 37° dans un milieu nutritif spécial.

Ce milieu contient, en plus d'éléments nutritifs classiques, un produit particulier : la phytohémagglutinine. C'est cette dernière substance qui provoque l'initiation des mitoses.

Après 3 jours d'incubation, les premières mitoses ainsi initiées *in vitro* dans les leucocytes sont arrêtées au cours de la métaphase en ajoutant au milieu de culture de la colchicine, pendant 2 heures. Ce produit augmente ainsi le nombre de cellules en métaphase.

Ensuite une courte incubation de ces cellules dans un milieu hypotonique provoque un gonflement des membranes cytoplasmiques. Les cellules sont alors fixées puis étalées sur des lames, qu'il faut sécher très rapidement à l'air. Ce dernier traitement entraîne l'éclatement des membranes cytoplasmiques et permet la dispersion des chromosomes.

Après coloration, les métaphases, où la dispersion des chromosomes est correcte, sont sélectionnées, puis photographiées.

Après découpage de tous les chromosomes d'une cellule, ceux-ci sont classés en caryotype.

L'initiation des mitoses en culture et l'éclatement des membranes cytoplasmiques peuvent se produire plus ou moins bien. De nombreux facteurs peuvent entraîner l'échec de telles cultures, en particulier la qualité des lots de fabrication de la phytohémagglutinine, et l'atteinte plus ou moins grave des cellules mises en culture.

L'observation des anomalies chromosomiques est également possible à partir de prélèvements de moelle osseuse. Dans ce dernier tissu, centre de formation de plusieurs lignées de cellules sanguines, les cellules subissent des mitoses. Par incubation de ces cellules en présence de colchicine, il est possible d'augmenter le nombre de cellules en métaphase. Après avoir fait subir aux cellules un choc hypotonique et un éclatement de la membrane cytoplasmique selon la technique décrite précédemment, il devient possible alors d'obtenir des images chromosomiques similaires à celles obtenues dans les cultures de leucocytes. Dans notre laboratoire nous nous sommes limités cependant aux cultures de leucocytes dans lesquelles les cellules sont toutes en phase de repos au moment du prélèvement. Nous les observons au cours de leur première mitose *in vitro*; celles-ci ne proviennent que d'une seule ou de deux lignées cellulaires.

Par contre dans la moelle osseuse, les cellules appartiennent à un nombre plus élevé de lignées cellulaires. Or, d'une part la radiosensibilité des cellules et d'autre part pour chaque cellule observée le nombre de générations écoulées depuis la formation de la lésion sont différents selon la lignée cellulaire et à l'intérieur de chaque lignée selon le stade de maturation. La radiosensibilité d'une cellule dépend aussi de la phase du cycle cellulaire où celle-ci se trouve au moment de l'atteinte (2), (3), (4), (5).

De plus, les prélèvements de sang sont plus facilement obtenus que ceux de moelle osseuse.

Les cultures de leucocytes nous fourniront donc, pour de telles études, un matériel plus homogène que celui de moelle osseuse et nous permettront de mieux évaluer la proportion de cellules lésées.

III - MÉCANISME DE FORMATION DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

Un chromosome, atteint par une particule d'énergie suffisante, subit une rupture. Les cassures chromosomiques ainsi obtenues peuvent soit persister, soit se souder entre elles (6), (7), (8), (9). Ces soudures ne peuvent s'effectuer que pendant une courte période suivant la formation de la cassure. Cette période durerait environ trente minutes.

Ces soudures nécessitent une certaine production d'énergie cellulaire. Aussi elles ne pourront plus avoir lieu si l'atteinte du métabolisme cellulaire devient trop importante. Elles ne peuvent se produire qu'entre 2 portions de chromosomes suffisamment proches l'une de l'autre.

— Un noyau cellulaire ne contiendrait qu'un nombre très limité de sites dans lesquels 2 chromosomes sont suffisamment proches l'un de l'autre pour qu'en cas de rupture leurs bouts puissent s'échanger. Un tel échange est appelé remaniement chromosomique.

— Le plus fréquemment les soudures chromosomiques se produisent non pas entre 2 chromosomes différents, mais entre les 2 portions du même chromosome qui vient d'être rompu. Cette soudure constitue alors une restauration chromosomique. Il se restaurerait environ 149 cassures sur 150 (7). Il nous sera impossible de déceler de tels points de soudures, bien que de légères modifications chimiques de la molécule d'ADN aient pu se produire, entraînant un changement de la structure du gène localisé en ce point. De telles modifications ponctuelles peuvent avoir des répercussions importantes dans la cellule, et celle-ci les transmettra à sa descendance.

Toutefois la proportion de cellules comportant des anomalies chromosomiques qui ne sont pas restaurées dépend encore de la dose reçue et des conditions d'irradiation.

IV - TYPES D'ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

L'irradiation peut entraîner des modifications de l'aspect morphologique de chromosome ou du nombre de chromosomes contenus dans la cellule.

A) *Modification de l'aspect morphologique de chromosome.*

Durant la période de culture, les leucocytes ont synthétisé leur ADN et ont commencé leur première mitose *in vitro*. Depuis le prélèvement de sang les chromosomes se sont donc dédoublés.

Les anomalies provoquées par une irradiation *in vivo* apparaîtront symétriques sur les 2 filaments du chromosome atteint.

Ces anomalies peuvent avoir nécessité une ou deux ruptures chromosomiques.

1^o Anomalie n'ayant nécessité qu'une seule rupture chromosomique. Un chromosome a subi une rupture. La partie du chromosome ne portant pas de centromère est appelé fragment.

Si le fragment est grand, le chromosome atteint apparaît alors trop court, la position de son centromère est devenue anormale. Cette anomalie est appelée déletion.

Si le fragment est petit nous ne pouvons pas toujours reconnaître de quel chromosome il provient. Seule la présence du fragment nous indique qu'il y a eu une rupture chromosomique. Nous classons cette anomalie sous le terme « fragment ».

Par opposition aux remaniements chromosomiques, ces anomalies sont appelées cassures chromosomiques simples. L'irradiation peut avoir entraîné une ou plusieurs cassures simples de chromosomes dans la même cellule.

2^o Les remaniements chromosomiques ont nécessité 2 ruptures dans la même cellule. On en distingue plusieurs types suivant la nature des portions qui se sont soudées.

— Lorsqu'un fragment sans centromère, appartenant à un chromosome, s'est soudé sur une portion cassée d'un autre chromosome portant un centromère, on a une translocation. On observe alors 2 chromosomes ayant des longueurs et des positions de centromères anormales. Un chromosome apparaîtra trop court, l'autre trop long.

— Lorsqu'un chromosome a subi 2 cassures de part et d'autre du centromère et que les fragments cassés se sont soudés en s'échangeant on a une translocation interne. Cette anomalie n'étant pas fréquente, est classée avec les autres translocations.

— Lorsque 2 portions cassées appartenant à 2 chromosomes, et portant chacune un centromère, se sont soudées entre elles, on obtient un chromosome à 2 centromères appelé dicentrique.

— Enfin lorsqu'un chromosome a subi 2 ruptures et que les 2 bouts du fragment central se soudent entre eux, on obtient un anneau. Le centromère de ce chromosome se trouve, en général, sur la portion en anneau.

Si l'observation des dicentriques, anneaux et de la plupart des fragments peut se faire sans l'établissement de caryotypes, les translocations et les délétions nécessitent souvent l'établissement de caryotype pour être mieux détectées.

Toutes ces anomalies de structure n'ont pas la même chance de persister sous leur même aspect au cours des mitoses qui suivent leur formation. Nous avons vu, en effet, que le centromère dirige le mouvement des chromosomes au cours de la mitose. Un fragment qui ne possède pas de centromère sera désorienté au moment de la mitose et souvent se perdra. Un dicentrique, au cours de l'anaphase va se scinder en 2 chromosomes fils portant chacun 2 centromères. Si les 2 centromères portés par le même chromosome fils se dirigent vers la même cellule fille, chaque cellule fille possédera un dicentrique, mais si les 2 centromères du même chromosome fils se dirigent chacun vers une cellule fille différente, le dicentrique ne se transmettra pas dans les cellules filles. Ceci entraîne la formation d'un pont chromosomique à l'anaphase réunissant les 2 cellules filles. Si ce pont, soumis à une traction suffisamment forte se rompt, les cellules filles comporteront chacune un chromosome ayant une longueur et une position du centromère anormales. Si le pont n'est pas rompu, la mitose avortera.

De même selon la façon dont le centromère d'un anneau se scindera à l'anaphase, l'anneau se transmettra ou non dans les cellules filles. S'il ne se transmet pas, il entraînera un pont chromosomique à l'anaphase qui aura le même sort que celui formé par un dicentrique, soit chaque cellule fille comportera un chromosome anormal, soit la mitose avortera.

Les fragments, anneaux et dicentriques, sont appelés anomalies instables, par opposition aux délétions et translocations qui sont appelées anomalies stables. En effet, les fragments peuvent se perdre au cours des divisions qui suivent l'irradiation, et il nous sera plus possible de déceler alors la lésion chromosomique. Les dicentriques et les anneaux ont de fortes chances de ne pas se reproduire sous leur même aspect, ou peuvent, en empêchant la mitose de se poursuivre, ne plus donner de descendance. Par contre, dans le cas de délétions ou de translocations, les chromosomes anormaux possèdent chacun un centromère et le processus de migration chromosomique au cours de la mitose pourra normalement se produire, leur descendance comportera la même anomalie.

Cependant toute anomalie peut devenir incompatible avec la vie de la cellule par suite d'une perte d'une portion de chromosome contenant des gènes importants ou par suite d'un déplacement par rapport à sa position normale d'une portion de chromosome; la séquence dans laquelle se trouvent rangés les gènes d'un chromosome étant normalement bien établie.

Les anomalies que nous observons sont celles qui ont permis l'entrée des cellules en mitose après 3 jours d'incubation *in vitro*. Une altération chromosomique importante peut retarder la mitose ou même la rendre impossible. Une cellule possédant une telle altération échappera alors à nos observations. Lorsque les cellules ont subi plusieurs divisions depuis l'irradiation, la proportion de cellules anormales que nous observons, sera inférieure à la proportion de cellules anormales que nous aurions observée lors de la première mitose, du fait que certaines cellules anormales n'ont pu avoir de descendance, et que d'autres, tels que les fragments, ne peuvent plus être détectées comme anormales.

B) *Nombre anormal de chromosomes dans une cellule.*

L'irradiation peut troubler le processus de ségrégation des chromosomes au cours de la mitose et entraîner ainsi soit un gain, soit une perte de chromosomes dans une cellule. Il peut se produire également un dédoublement de tous les chromosomes de la cellule, ou de certains d'entre eux, sans que ceci ne soit suivi d'une séparation en deux cellules filles.

- Il y aura soit hypoploïdie (perte de chromosomes),
- soit hyperploïdie (gain de chromosomes).

Le cas le plus fréquent d'hyperploïdie est la tétraploïdie où le nombre de chromosomes est 2 fois plus élevé que dans une cellule normale. Une forme curieuse de tétraploïdie est l'endoreduplication où les chromosomes apparaissent, après éclatement cellulaire, rangés déjà par paire.

Anomalies rencontrées dans les cultures de leucocytes provenant de sujets normaux :

Les seules anomalies de structure observées dans les cultures sont de très rares petits fragments; on en observe environ 1 pour 430 cellules. Par contre, on observe 6 à 12 % de cellules hypoploïdes. Cette perte de chromosomes est très certainement provoquée par la technique même d'obtention des cellules. Au moment de l'éclatement du cytoplasme cellulaire sur les lames, certains chromosomes peuvent alors se perdre. Il est également probable que les rares fragments observés dans de telles cultures se soient produits au moment de l'éclatement cytoplasmique.

On observe exceptionnellement des cellules hyperploïdes (une environ pour 200 cellules). Ces hyperploïdies sont probablement les seules vraies anomalies rencontrées dans les cultures témoins.

V - PROBABILITÉ THÉORIQUE D'OBTENTION DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

En considérant la théorie de la cible, la probabilité d'obtention des cassures chromosomiques simples est proportionnelle à la dose d'irradiation reçue par la cellule.

Ceci peut ne plus être vrai pour de trop fortes doses, car d'une part, des cellules trop lésées seraient alors incapables d'entrer en mitose et d'autre part des perturbations du métabolisme cellulaire pourraient devenir suffisamment

importantes pour inhiber plus ou moins le processus de restauration chromosomique.

Les particules doivent avoir une certaine énergie pour rompre les filaments chromosomiques. Un rayonnement de 1,5 keV n'entraîne aucune aberration chromosomique, même à une dose de 1 000 Rads (9).

La probabilité qu'une cellule contienne un remaniement chromosomique dépendrait non seulement de la dose mais du nombre de sites dans lesquels 2 chromosomes cassés peuvent être suffisamment proches pour subir entre eux un remaniement. Le nombre de ces sites contenus dans une cellule semble très limité (8), (9).

D'après la théorie de la cible la probabilité y qu'une cellule contienne un remaniement chromosomique est donnée par la formule :

$$y = N (1 - e^{-KD})^2$$

où K est une constante,

N le nombre de sites de la cellule,

D la dose.

Par approximation de cette formule on peut admettre que la probabilité de formation d'un remaniement chromosomique est proportionnelle au carré de la dose, pour des doses moyennes, et devient proportionnelle à une puissance de la dose légèrement inférieure à 2 pour de fortes doses. Si la dose est forte, le mécanisme de soudure chromosomique sera plus ou moins inhibé; on observera alors moins de remaniements chromosomiques que ce que l'on aurait pu attendre.

Ceci n'est valable que pour des rayonnements dont le transfert linéaire d'énergie (T.L.E.) n'est pas très élevé et dont une seule particule en traversant la cellule ne provoque en général qu'une seule cassure. Par contre, pour les rayonnements dont le T.L.E. est très élevé, en particulier certains neutrons rapides et les rayonnements α , une seule particule peut provoquer plusieurs cassures dans la même cellule. Dans ce cas les probabilités d'obtenir des cassures chromosomiques simples et la probabilité d'obtenir des remaniements chromosomiques sont des fonctions linéaires de la dose (9).

L'efficacité biologique d'un rayonnement dépend de la distribution spatiale de son ionisation, mesurée par le T.L.E. (10), (11), (12).

Théoriquement le débit de dose ne semble pas avoir l'influence sur le nombre de cassures chromosomiques simples observées; par contre, il peut modifier dans certaines conditions le nombre de remaniements chromosomiques observés (9), (13).

En effet, les remaniements chromosomiques doivent s'effectuer pendant une courte période, suivant la formation de la cassure.

Si le débit est très faible, la première cassure a des chances d'être devenue définitive lorsque la seconde se produit dans le même site. Donc pour une même dose il se formera moins de remaniements chromosomiques si le débit est très faible, que s'il est fort.

Comme d'autre part la proportion de cellules anormales diminue à chaque division (par suite de mort cellulaire ou de disparition des fragments), pour une

même dose, on observera moins d'anomalies chromosomiques en cas d'irradiation chronique qu'en cas d'irradiation aiguë (14), (15), (16).

Le volume occupé par les chromosomes dans les différents types cellulaires d'un organisme n'étant pas le même, le volume des sites dans lesquels les remaniements chromosomiques sont possibles serait probablement variable. De ce fait on pourrait s'attendre à une production différente de remaniements chromosomiques selon le type de cellules observées. De même selon l'espèce le nombre et le volume des sites devraient changer (5), (8), (9). Cependant quelle que soit la lignée cellulaire étudiée, les différentes sortes d'anomalies chromosomiques devraient être liées à la dose de façon similaire (17).

VI - RELATION DOSE/EFFET OBSERVÉE DANS DES CELLULES SANGUINES

L'observation des anomalies chromosomiques dans des cultures de leucocytes provenant d'échantillons de sang, irradiés juste avant la mise en culture, a permis l'établissement de relation dose/effet (18), (19), (20). Les résultats que nous possédons, jusqu'ici, proviennent de quelques expériences seulement, dans lesquelles l'évaluation des anomalies chromosomiques a été faite par observation directe au microscope, sans que les chromosomes aient été classés en caryotype.

Parmi les cassures chromosomiques simples, les auteurs de ces travaux ont étudié les fragments, reconnaissables souvent sans caryotype et les délétions subies par les 5 plus grandes paires de chromosomes, et les 5 paires possédant un centromère terminal. La détection de telles délétions est moins fine et moins sûre que celle faite après établissement de caryotypes; mais étant donné le volume relativement important de ces chromosomes par rapport au volume occupé par tous les chromosomes de la cellule, on peut estimer que ces observations donnent une estimation correcte du nombre total d'anomalies simples contenues dans la cellule. Parmi les remaniements chromosomiques les auteurs n'ont retenu que les anneaux et dicentriques reconnaissables sans établissement de caryotype; les translocations représentant les seuls remaniements chromosomiques stables n'ont pu être étudiés correctement, car pour être détectées elles nécessitent souvent l'établissement du caryotype.

Les rayonnements utilisés dans ces travaux ont été des X 250 keV, et des neutrons rapides. La plus grande partie des observations a été faite pour des doses ne dépassant pas 200 R (18), (19), (20). Quelques résultats portant sur un nombre très limité d'observations, viennent d'être publiés pour des doses allant jusqu'à 1 600 Rads de rayonnement X de 200 keV (20).

Quel que soit le rayonnement étudié, la fréquence de cassures chromosomiques simples augmente linéairement avec la dose jusqu'à 300 R. Au-delà, d'après les quelques résultats publiés, il semble que leur fréquence augmente plus rapidement que la dose (courbe I, partie droite). Ceci pourrait provenir d'une altération du processus de restauration des cassures chromosomiques aux fortes doses. Cependant il est indispensable de poursuivre les expériences pour savoir si ces premiers résultats se confirment. Quoi qu'il en soit, pour des doses n'excédant pas 300 R, tous les chercheurs ont observé une relation dose/effet linéaire pour les cassures chromosomiques simples (courbe I, partie gauche).

Le coefficient de production de ces anomalies dépend de la nature du rayonnement, comme nous pouvons le voir dans le tableau suivant :

Rayonnement	Nombre de (déletion + fragment)/cellule/R
X 250 keV 60 Rads/min	0,11 10^{-2}
Neutron 14 MeV	2,3 10^{-2}
Neutron 2,5 MeV	4,5 10^{-2}

Les rayonnements γ du cobalt semblent avoir la même efficacité biologique pour la production de toutes les anomalies que les X. Les neutrons sont plus efficaces du fait de leur T.L.E. élevé.

La production d'anneaux et de dicentriques dépend du carré de la dose pour les rayonnements X, γ et les neutrons de 14 MeV jusqu'à 200 R (voir courbe 2, partie gauche). Les valeurs des coefficients de production de ces anomalies/cellules/R² sont les suivantes :

	dicentrique	anneau + dicentrique
X 250 keV 60 Rads/min	$(0,47 \pm 0,07)10^{-5}$	$(0,52 \pm 0,07)10^{-5}$
neutron 14 MeV		$(0,81 \cdot 10^{-5})$

Les anneaux sont 10 fois plus rares environ que les dicentriques. Des expériences faites avec des rayonnements X à des doses supérieures à 200 R et ne portant toutefois que sur un nombre très limité d'observations, indiquent que la production d'anneaux et de dicentriques augmente moins rapidement que le carré de la dose. Pour conserver le même coefficient de production d'anneaux et de dicentriques par cellule, il faut prendre non plus le carré de la dose, mais des puissances de la dose inférieures à 2.

Pour 300 R il faudrait prendre 1,94, pour 400 R 1,9, pour 800 R 1,85 et pour 1 600 R 1,77.

Ces résultats préliminaires semblent indiquer qu'au-delà de 200 R de rayonnement X, au débit de dose étudié il se produirait soit une atteinte trop forte des cellules (les plus lésées deviendraient incapables d'entrer en mitose), soit un début d'inhibition du processus de soudure chromosomique.

Contrairement aux autres rayonnements étudiés, les neutrons rapides de 2,5 MeV entraîneraient, d'après des résultats préliminaires, la formation d'anneaux et de dicentriques dont la fréquence ne dépendrait non plus du carré de la dose, mais serait proportionnelle à la dose (19). Ces résultats peuvent s'expliquer; le transfert linéaire d'énergie de ce rayonnement étant très élevé, un seul neutron peut entraîner plusieurs cassures dans le même site, et donc produire un remaniement chromosomique à lui seul. Les neutrons de 1 MeV semblent, d'après d'autres résultats préliminaires, produire encore plus d'altérations chromosomiques que les neutrons de 2,5 MeV.

La fréquence des anomalies de nombre n'est pas reliée clairement à la dose reçue. Elle augmente cependant pour les fortes doses. Les hyperploïdies semblent plus fréquentes aux fortes doses, lorsqu'on prolonge exceptionnellement la durée de culture de 24 heures.

Pour essayer d'évaluer une dose reçue de quantité inconnue, on se référera aux courbes reliant le nombre d'anomalies observées à la dose de rayonnement X connu.

Les remaniements chromosomiques sont peu fréquents aux faibles doses par rapport aux cassures simples; par contre ils augmentent rapidement avec la dose. Ceci s'explique bien d'après le processus de formation des anomalies.

Comme les anneaux et les dicentriques sont plus facilement détectés, sans établissement de caryotype, que les cassures chromosomiques simples, ils seront donc utilisés de préférence pour l'estimation de fortes doses. Pour les doses inférieures à 150 R de X, on aura recours au nombre d'anomalies chromosomiques simples. De plus on pourra utiliser également le nombre total de cassures ayant donné des anomalies simples, des dicentriques et des anneaux, en comptant 2 cassures par anneau ou dicentrique (courbe 3).

VII - ESTIMATION DE LA DOSE REÇUE AU COURS D'UNE IRRADIATION IN VIVO

Dans l'organisme, les leucocytes, une fois arrivés dans le sang périphérique ne subissent plus de division. Ils constituent le dernier stade de maturation de cellules précurseurs, qui ne se trouvent pas normalement dans le sang périphérique et qui subissent en plus d'une maturation progressive, des divisions avant de devenir des leucocytes et de se déverser alors dans le sang.

On ne connaît pas la durée du cycle mitotique ni la durée de maturation de ces cellules.

En cas d'irradiation in vivo non seulement les leucocytes mais également leurs précurseurs peuvent être affectés. Si un précurseur de leucocyte possède une anomalie chromosomique cette anomalie pourra soit se modifier au cours des divisions ultérieures, soit ne pas apparaître dans le sang périphérique parce qu'elle n'a pas permis à une mitose de s'achever, soit enfin apparaître telle qu'elle était dans le précurseur affecté. Les risques de faire nos observations sur des cellules qui ont subi des divisions depuis l'irradiation, augmentent à mesure que nous nous éloignons du jour de l'irradiation pour faire les prélèvements de sang.

Tous les sujets qui ont été soumis à une irradiation, l'ont été soit en vue d'un traitement médical, soit au cours d'un accident aigu ou chronique.

En cas d'irradiation thérapeutique, celle-ci a été soit très localisée, soit accompagnée d'un traitement par des substances radiomimétiques dont l'action chimique peut être similaire à celle de l'irradiation.

En cas d'accident, la dosimétrie physique est souvent très complexe, les sujets étant soumis en général à un mélange de particules diverses, réparties dans l'organisme de façon très hétérogène. En particulier, les neutrons se thermalisant à mesure de leur pénétration dans l'organisme, ont un T.L.E. qui se modifie et ont donc une efficacité de production d'anomalies chromosomiques qui varie en fonction de leur pénétration.

Le brassage rapide du sang dans l'organisme entraîne très rapidement une homogénéisation des cellules lésées dans le sang périphérique. De ce fait que l'on fasse le prélèvement sanguin quelques heures ou plusieurs jours après une irradiation hétérogène ou localisée, l'observation des anomalies chromosomiques ne permettra pas de connaître la répartition exacte de la dose reçue; mais donnera

seulement une évaluation de la moyenne des doses locales élémentaires, intégrées à l'organisme entier. En cas d'irradiation locale ou très hétérogène le degré de gravité de l'atteinte dépend de la nature des organes touchés. Ceux-ci peuvent avoir une radiosensibilité très différente. La dose estimée d'après les anomalies chromosomiques ne fera alors pas bien ressortir les conséquences biologiques de l'irradiation et devra être interprétée du point de vue médical avec prudence, en ne dissociant pas ces résultats de ceux obtenus par d'autres tests biologiques de l'irradiation et notamment par les tests hématologiques.

Cependant on peut admettre que si un leucocyte reçoit, *in vivo* ou *in vitro*, la même dose d'un même rayonnement, il aura la même probabilité de comporter une anomalie chromosomique.

A) Observation des anomalies chromosomiques peu de temps après irradiation.

Le nombre d'anomalies chromosomiques que nous observons à partir de prélèvements de sang, effectués dans les quelques jours qui suivent l'irradiation, nous permettra d'estimer, d'après les résultats obtenus *in vitro*, la dose de rayonnement X de 250 keV qui aurait entraîné la même production d'anomalies chromosomiques *in vitro*.

Dans notre laboratoire nous avons effectué des analyses chromosomiques chez quelques personnes qui ont subi une irradiation aiguë accidentellement et avons commencé l'étude des anomalies chromosomiques chez le porc soumis à des doses connues de rayonnement γ .

Chez les personnes accidentées, les résultats obtenus dans les quelques jours qui ont suivi l'irradiation, sont donnés dans le tableau suivant :

Sujet	Temps après irradiation	Nombre d'anomalies rapporté à 100 cellules									
		Nombre cellules examinées	Hypoploïdie	Hyperploïdie	Délétion	Fragment	Dicentrique	Anneau	Translocation	Cassures, translocations exclues	Total cassures y compris translocations
Témoin		78	15	1	0	0	0	0	0	0	0
A	2 j.	51	8	0	2	2	0	0	0	4	4
B	10 j.	100	8	3	13	0	0	0	2	13	17
C	4 j.	24	41	0	91	50	62	4	12	273	297

Dans l'évaluation du nombre de cassures nous avons compté 2 cassures par remaniement chromosomique.

En plus du nombre total de cassures, nous avons calculé également le nombre de cassures sans tenir compte des translocations que nous avons pu déceler après établissement de caryotypes, puisque nous voulons comparer nos résultats à ceux obtenus par d'autres auteurs qui n'ont pas établi de caryotype.

En se reportant aux courbes obtenues après irradiations de sang *in vitro* avec des X de 250 et de 200 keV nous pouvons essayer d'estimer la dose de rayonnement X, qui, si elle avait été répartie d'une façon homogène, aurait entraîné le même nombre d'anomalies.

Le nombre de cassures ayant donné des délétions, fragments, dicentriques et anneaux, correspond pour le

sujet A à 20 R,
pour B à 75 R,
pour C à 470 R.

Le nombre de lésions chromosomiques simples correspond pour le

sujet A à 35 R,
pour B à 120 R.

Le nombre de dicentriques observés chez le sujet C correspond à 500 R.

En cas d'irradiation faible où le nombre de remaniements chromosomiques est très faible, il est probable que l'on obtiendra une meilleure estimation de la dose en considérant le nombre d'anomalies chromosomiques simples plutôt que le nombre total de cassures.

Dans ces 3 cas nous obtenons une estimation de la dose proche de celle obtenue par dosimétrie physique. L'extrapolation de nos résultats à ceux obtenus par irradiation *in vitro* donnerait une estimation valable de la dose rapportée à un rayonnement X connu. Théoriquement il ne paraît pas y avoir de dose-seuil au-dessous de laquelle la production d'anomalies chromosomiques est nulle. Des auteurs ont trouvé des lésions chromosomiques provoquées par une irradiation locale de 12 Rads de rayonnement X (21) ou de 12 Rads d'un mélange γ , neutrons (19). Cependant la sensibilité de notre méthode de détection est proportionnelle à la dose.

Pour de fortes irradiations, le nombre de dicentriques et d'anneaux est suffisamment élevé dans les jours qui suivent l'irradiation pour nous permettre de faire une estimation de la dose sans établissement de caryotype. Par contre, en cas de faible dose, la détection des anomalies nécessite l'établissement de caryotypes, ce qui représente un travail très long qui alourdit considérablement l'utilisation d'une telle étude en tant que dosimétrie biologique. Plus la dose est faible, plus il faudrait augmenter le nombre de caryotypes pour avoir une estimation correcte de la dose.

Les observations chromosomiques ne sont pas spécifiques de l'irradiation. Il semble en effet, que certains virus, notamment celui de la rubéole (22), ainsi que certaines intoxications chimiques, en particulier celles provoquées par le benzène (23), puissent entraîner des anomalies chromosomiques.

En cas d'irradiation supposée, les anomalies chromosomiques ne constitueraient donc qu'un test présomptif qui devra être associé aux autres tests biologiques et physique de l'irradiation.

B) *Persistence relative des anomalies chromosomiques.*

Nous avons observé un nombre important d'anomalies chromosomiques 5 et 7 ans après une irradiation accidentelle estimée à 430 Rads d'un mélange γ ,

neutrons; les résultats obtenus après établissement de caryotype sont donnés dans le tableau suivant :

Temps après irradiation	Nombre cellules examinées	Nombre d'anomalies rapporté à 100 cellules								
		Hypoploïdie	Hyperploïdie	Délétion	Fragment	Dicentrique	Anneau	Translocation	Cassures, translocations exclues	Cassures, y compris translocations
5 ans .	116	10,4	0,8	14	2,6	2,6	0,8	11,2	23,4	45,8
7 ans .	71	21	0	7	0	2,8	0	16,9	12,6	46,4

Chez ce sujet, le nombre total de cassures observées après établissement de caryotypes est le même pour les 2 examens effectués à 2 ans d'intervalle. Si nous comparons ces résultats à ceux obtenus à partir d'un prélèvement de sang fait 4 jours après l'irradiation du sujet C, dont la dose d'irradiation semble voisine de celle de ce sujet, nous remarquons que le nombre total de cassures observées est ici environ 6 fois plus faible que celui obtenu quelques jours après l'irradiation. Après une forte diminution, le nombre d'anomalies semble se maintenir par la suite à un niveau constant.

La plupart des anomalies instables (fragments, anneaux, dicentriques) ont disparu. Cependant il est surprenant qu'il en reste encore quelques-unes, puisqu'en principe les cellules portant ces anomalies ont dû subir de nombreuses divisions depuis l'irradiation.

Bender a observé la présence de telles anomalies instables 3 ans 1/2 après une irradiation similaire (24).

Le nombre de délétions est très inférieur ici à celui trouvé pour le sujet C, bien que les délétions soient considérées comme des anomalies stables. Ce nombre de délétions semble encore avoir subi une diminution entre la 5^e et la 7^e année après l'irradiation. Il est possible que de nombreuses cellules portant de grosses délétions, n'aient pu survivre ou donner de descendance, par suite d'une perte importante de substance chromatiniennne.

Seul le nombre de translocations ne semble pas avoir diminué; il a, peut-être, même légèrement augmenté.

Il est possible que nous classions parmi les translocations, certaines anomalies provenant de remaniements chromosomiques instables, qui se seraient transformés en remaniements stables, sans être vraiment des translocations. En effet, si une cellule contient en plus d'une délétion un dicentrique ou un anneau et qu'il y ait rupture des ponts chromosomiques formés à l'anaphase, une des cellules filles paraîtra comporter une translocation, et l'autre 2 délétions.

Quoi qu'il en soit, l'évolution dans le temps de ces translocations semble devoir être suivie très attentivement.

Chez l'homme, le nombre d'anomalies chromosomiques paraît se maintenir, du moins pour les doses moyennes, autour d'une même valeur, pendant plus d'un mois après l'irradiation. Nous avons observé le même nombre d'anomalies 3 jours, 1 mois et 1 mois 1/2 après l'irradiation, au cours d'examens effectués chez le sujet A, soumis à une irradiation accidentelle de l'ordre de 30 rems.

Bender a constaté le même fait après une irradiation accidentelle de l'ordre de 100 rems; le nombre d'anomalies commencerait à diminuer progressivement à partir du 45^e jour après l'irradiation (25). A partir de ce moment les leucocytes du sang périphérique proviendraient de cellules qui ont subi des divisions depuis l'irradiation.

Si ces résultats se confirment, les prélèvements de sang effectués dans le mois qui suit l'irradiation, permettraient encore de faire une estimation de la dose reçue.

En cas d'irradiation chronique, d'après la théorie même de formation des anomalies chromosomiques, le débit de dose doit avoir une influence sur le nombre de remaniements chromosomiques. De plus, en cas d'irradiation de très longue durée les leucocytes du sang périphérique ont pu subir des divisions depuis l'irradiation entraînant alors la perte ou la modification d'une partie des anomalies chromosomiques. Des auteurs ont observé un nombre élevé d'anomalies chromosomiques dans les leucocytes de sujets porteurs de radiodermites, après une exposition professionnelle chronique importante, de très longue durée (26), (27). Les remaniements chromosomiques stables et les délétions sont ici beaucoup plus fréquents que les dicentriques, anneaux et fragments. On ne peut se référer aux résultats expérimentaux obtenus après irradiation aiguë pour avoir une estimation biologique de la dose reçue. Il n'est pas possible de faire des irradiations à très faible débit sur le sang *in vitro*, car les leucocytes deviendraient rapidement non viables. Aussi pour avoir une estimation de la dose reçue au cours d'une irradiation chronique faut-il avoir recours à une expérimentation animale.

Nous avons l'intention de faire de telles études chez le porc, sur lequel nous avons commencé des expériences après irradiation aiguë à dose forte et homogène.

Nous n'avons pas encore dépouillé les résultats des expériences faites chez le porc dans les jours qui suivent l'irradiation; ces analyses nous ayant posé souvent de grosses difficultés techniques. En effet, les doses utilisées étant fortes, l'initiation des mitoses *in vitro* dans les leucocytes peu de temps après cette atteinte est très diminuée chez un porc. Nous avons observé 2 mois, 3 mois et 6 mois après une irradiation de 300 R de γ (^{60}Co) un nombre d'anomalies et une répartition des différents types de celles-ci sensiblement analogues à ce que nous avons obtenu chez une personne 5 et 7 ans après une irradiation de 430 Rads d'un mélange neutrons, γ . Nous pouvons nous en rendre compte en comparant les résultats déjà cités chez l'homme à ceux du porc donnés dans le tableau ci-après.

Le nombre faible d'anomalies instables observées 2 mois après l'irradiation semble indiquer que la plupart de ces cellules ont déjà subi des divisions. Cette diminution semble plus rapide que chez l'homme.

Il est intéressant de remarquer que le nombre d'anomalies ne semble plus subir de diminutions entre le 2^e et le 6^e mois après l'irradiation. Il serait inté-

Temps après irradiation	Nombre cellules examinées	Nombre d'anomalies rapporté à 100 cellules								
		Hypoploïdie	Hyperploïdie	Délétion	Fragment	Dicentrique	Anneau	Translocation	Total cassures translocations exclues	Total cassures, y compris translocations
Avant	106	5,7	1	0	2	0	0	0	0	2
2 mois	108	9,2	1	13	2,8	2,8	1	12,5	23,5	48,4
3 mois	97	7	3	12	2	0	0	11	14	36
6 mois	81	10	5	11	0	0	0	20	11	51

ressant de rechercher si le nombre d'anomalies, qui persistent, dépend de la dose reçue.

Les hyperploïdies, principalement celles dans lesquelles le nombre de chromosomes supplémentaires est faible, semblent augmenter progressivement de même que les translocations.

Certains auteurs ont observé un nombre élevé d'anomalies chromosomiques chez des personnes qui 20 ans auparavant avaient subi une irradiation thérapeutique locale très intense (28).

On ignore encore quelles conséquences peuvent avoir la persistance de telles anomalies dans un nombre élevé de cellules. L'irradiation pouvant être à l'origine de certaines affections malignes, il est important de rechercher si les cellules portant de telles anomalies peuvent ou non se transformer en cellules malignes.

Dans plusieurs types d'affections cancéreuses ou leucémiques, les cellules malignes contiennent des anomalies chromosomiques. Mais contrairement à ce qui est observé après irradiation, où toutes les anomalies sont différentes d'une cellule à l'autre, en cas d'affection maligne on observe de nombreuses cellules possédant un ou plusieurs chromosomes anormaux semblables. On ignore encore si ces anomalies de types bien spécifiques sont la cause ou la conséquence de l'affection. Néanmoins, le souci des chercheurs est de suivre l'évolution des anomalies chromosomiques post-irradiation dans le but de découvrir comment les anomalies chromosomiques sont liées à l'apparition d'une affection maligne.

Bien que les lésions chromosomiques représentent l'atteinte primaire de l'irradiation au niveau de la cellule, l'emploi de la cytogénétique, en tant que dosimètre biologique de l'irradiation pour l'homme, n'est pas encore établie.

Les premiers résultats que nous avons obtenus semblent encourageants, puisqu'ils sont en concordance avec ceux trouvés au moyen de la dosimétrie physique. Cependant qui dit dosimétrie physique, ne dit pas forcément dosimétrie biologique.

Avant de pouvoir connaître si la cytogénétique peut être utilisée comme

dosimètre biologique, notamment en cas d'hétérogénéité de l'irradiation, il faudrait poursuivre les expériences faites sur le porc.

Après avoir établi une relation dose/effet sur le sang de porc irradié in vitro, et avoir fait des expériences sur les porcs irradiés dans des conditions variées et bien déterminées, il sera possible alors d'évaluer dans quelle mesure et sous quelles conditions l'estimation de la dose ainsi obtenue correspond bien à la dose réellement reçue et à l'atteinte biologique de l'animal.

Quoi qu'il en soit l'analyse chromosomique faite après irradiation représente un travail très long, surtout si la dose reçue a été faible, et ceci limitera sûrement son utilisation en tant que dosimètre biologique.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) MOORHEAD, P.S., NOWELL, P.C., MELLMAN, W.J., BATIPPS, D.M. & HUNGERFORD, D.A. Chromosome preparations of leukocytes cultures from human peripheral blood. *Exp. Cell Research*, 1960, **20**, 613.
- (2) BENDER, M.A. & GOOCH, P.C. Chromatid type aberrations induced by X-rays in human leukocyte cultures. *Cytogenetics*, 1963, **2**, 107.
- (3) BREWEN, J.G. Cell-cycle and radiosensitivity of the chromosomes of human leukocytes. *Int. J. Rad. biol.*, 1965, **9**, 391.
- (4) DEWEY, W.C. & HUMPHREY, R.M. Restitution of radiation-induced chromosomal damage in Chinese Hamster cells related to the cell's life cycle. *Exp. Cell Research*, 1964, **35**, 262.
- (5) WOLFF, S. Radiation effects as measured by chromosome damage in cellular radiation biology. *Annual symposium on fundamental cancer research*, Houston, 1964 (Baltimore), William & Wilkins, 1965, 167.
- (6) WOLFF (S.). Radiation studies on the nature of chromosome breakage. *The American Naturalist*, 1960, **94**, (874), 85.
- (7) WOLFF, S. Some postirradiation phenomena that affect the induction of chromosome aberrations. *Journal of cellular and comparative physiology*, 1961, **58** (3), supplement 1, 151.
- (8) WOLFF, S. The kinetics for two-break chromosome exchanges. *J. theoret. biol.*, 1962, **3**, 304.
- (9) EVANS, H.J. *Chromosome aberrations and target theory*. Ds : WOLFF, S, Ed., Radiation-induced chromosome aberrations. Columbia University Press, New York and London, 1963, 8.
- (10) BROERSE, J.J. & BARENDSEN, G.W. Effects of monoenergetic neutron radiation on human cells in tissue culture. I.A.E.A. symposium on biological effects of neutron irradiation, Brookhaven (USA), octobre 1963. SM 44/6.
- (11) CURTIS, H.J., TILLEY, J. & CROWLEY, C. The cellular differences between acute and chronic neutron and gamma ray irradiations in mice. (BNL 7353).
- (12) NEARY, G.J. Chromosome aberrations and the theory of RBE. I. General considerations. *Int. J. Rad. biol.*, 1965, **9**, (5), 477.
- (13) WOLFF, S. Mechanisms of dose rate effects : Insights obtained from intensity and fractionation studies on chromosome aberration induction. *ORNL*, p. 449.
- (14) NOWELL, P.C., CRAIG, D.E., MATTHEWS, F.A. & COLE L.J. Chromosome abnormalities in liver and marrow of mice irradiated with fast neutrons, gamma rays, and X-rays : effect of dose rate. *Rad. Res.*, 1965, **24**, 108.
- (15) NOWELL, P.C. & COLE, L.J. Reduced incidence of persistent chromosome aberrations in mice irradiated at low dose rate. *Science (USA)*, 1963, **141**, 3580, 524.
- (16) YARMONENKO, S.P. & PALIGA, G.F. Influence of chronic gamma irradiation on the yield of chromosomal aberrations in rat liver cells. *Nature*, 1964, **203** (4942), 315.
- (17) BENDER, M.A. *Chromosome breakage in vitro*. Ds : PAVAN, Ed. Mammalian cytogenetics and related problems in radiobiology (New York), Pergamon Press, 1964, 87.
- (18) BENDER, M.A. & GOOCH, P.C. Types and rates of X-ray induced chromosome aberrations in human blood irradiated in vitro. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 1962, **48**, 522.

- (19) GOOCH, P.C., RANDOLPH, M.L. & BENDER, M.A. Chromosome aberrations induced in human somatic cells by neutron. *Ds : A.I.E.A. Biological effects of neutron and proton irradiation* (Upton), oct. 1963, 7, 11. Vienne; A.I.E.A., 1964, 1, 325.
- (20) KELLY, S & BROWN, C.D. Chromosome aberrations as a biological dosimeter. *Am. J. Public Health*, 1965, 55, (9), 1419.
- (21) BLOOM, A. & TJIO, J.H. In vivo effects of diagnostic X-irradiation on human chromosomes. *New Engl. J. Med.*, 1964, 270, 1343.
- (22) NICHOLS, W.W. Relationships of viruses, chromosomes and carcinogenesis. *Hereditas*, 1963, 48, 367.
- (23) TOUGH, I.M. & COURT BROWN, W.M. Chromosome aberrations and exposure to ambient benzene. *Lancet*, 1965, 1, 684.
- (24) BENDER, M.A. Persistent chromosome aberrations in irradiated human subjects. *Rad. Res*, 1962, 16, 44.
- (25) BENDER, M.A. Chromosome aberrations in irradiated human subjects. *Ann. of N.Y. Acad. Sci.*, 1964, 114, 249.
- (26) MOURIQUAND, C., PATET, J., DARNAULT, J., GILLY, C., JALBERT, P. & WOLFF, C. Etude des chromosomes chez douze porteurs de radiodermes. *C.R. acad. Sc. Paris*, 1964, 259, 3830.
- (27) MOURIQUAND, C., PATET, J., DARNAULT, J., GILLY, C., JALBERT, P. & WOLFF, C. Chromosomes et Radiations : étude de 12 sujets professionnellement atteints et porteurs de radiodermes. *Bull. inf. Sci. Tech.*, 1965, 94, 3.
- (28) BUCKTON, K.E., JACOBS, P.A. & COURT BROWN, W.M. A study of chromosome damage persisting after X-ray therapy for ankylosing spondylitis. *Lancet*, 1962, 2, 676.

LÉGENDE DES COURBES

Anomalies chromosomiques de différents types, après irradiation de sang in vitro, en fonction de la dose et de la nature du rayonnement. D'après Bender : Δ , X de 250 keV; $\bullet$, neutrons de 14 MeV; o, neutrons de fissions (résultats préliminaires). D'après Kelly $\blacktriangle$, X de 200 keV.

COURBE 1. — Délétions et fragments.

COURBE 2. — Dicotyles.

COURBE 3. — Cassures translocations exclues.