

CARCINOGENESE MAMMAIRE INDUITE, AVEC DES NEUTRONS DE 14 MeV,
CHEZ LE RAT SPRAGUE-DAWLEY, PAR 3 IRRADIATIONS REPETEES.



M. JACROT, J. MOURIQUAND et C. MOURIQUAND

Laboratoire d'Histologie

Faculté de Médecine, Domaine de la Merci - 38700 LA TRONCHIE (France).

Un certain nombre d'espèces animales telles que le chien, le chat, la souris et le rat présentent spontanément des tumeurs mammaires. Cependant, depuis fort longtemps, les travaux de tumorigénèse expérimentale de la glande mammaire ont porté, presque exclusivement, sur les rongeurs (1-2).

En ce qui concerne le rat, la susceptibilité varie beaucoup selon les souches étudiées. Il est maintenant bien établi (3-4-5-6) que les rats Sprague-Dawley présentent spontanément des tumeurs mammaires dont la fréquence dépend à la fois de l'âge et du sexe :

- Chez la femelle, avant un an, le taux des tumeurs est très faible (environ 2 %). Par contre, durant la deuxième et troisième année de vie, la fréquence d'apparition se situe entre 48 et 54 %.

- chez le mâle, il n'y a pratiquement pas de tumeur avant l'âge de quinze à dix huit mois et le taux des animaux atteints, au cours de leur vie, n'excède jamais 10 %.

Bien que quelques cas de tumeurs thyroïdiennes ou surrénales aient été diagnostiquées, la glande mammaire est le site privilégié des néoplasmes susceptibles de se développer chez ces animaux.

Ces données ont permis l'établissement de modèles expérimentaux variés. Ainsi, la carcinogénèse de la glande mammaire peut être induite chez le rat soit :

- par des carcinogènes chimiques tel que DMBA (7, 12-diméthylbenz(a)anthracène) et plus récemment NBU (N-nitroso-N-butyl urée).

- soit par des carcinogènes physiques : rayonnements électromagnétiques (Rayons X et rayons γ) et neutrons.

Depuis quelques années, l'utilisation répétée des rayons X a été associée avec un risque ac-

cru de cancer du sein chez la femme (7-8-9). D'autre part, le vif intérêt rencontré par les études portant sur les effets biologiques des neutrons est lié au développement récent des techniques d'analyse par radioactivation applicables à la clinique humaine (10).

Pour des doses équivalentes, les rayons X et le rayonnement γ induisent les mêmes effets. Il existe une relation linéaire entre des doses uniques, comprises entre 25 et 400 rads, le temps de latence et le taux d'induction tumorale.

Cette relation ne semble pas exister pour les neutrons.

Pour des doses élevées (400 à 800 rads), l'efficacité biologique relative (R.B.E.) des neutrons est de deux à trois fois plus forte que celle des rayons X ou du rayonnement gamma.

Selon VOGEL & ZALDIVAR (5), à faible dose, le R.B.E. des neutrons de fission dans l'induction tumorale pourrait être de vingt à soixante fois plus élevée que celle des rayons X.

KELLERER & ROSSI (11) ont émis l'hypothèse que la R.B.E. pourrait être de 100 par rapport aux rayons X quand la dose de neutrons est approximativement de 1 rad.

Ainsi, le seuil de la carcinogénèse mammaire induite par l'irradiation neutronique chez la femelle Sprague-Dawley, s'il existe, est certainement très bas.

Le but des travaux, entrepris dans notre laboratoire, est de tester les possibilités offertes par trois irradiations répétées en neutrons de 14 MeV dans le domaine de la carcinogénèse mammaire chez le rat Sprague-Dawley.

MATERIEL ET METHODE

a) Les animaux :

Les animaux utilisés au cours de cette étude (50 mâles et 155 femelles) sont des OFA (origine Sprague-Dawley). Soumis à un éclairage contrôlé (12 h de jour - 12 h de nuit) les rats, dès le 25^e jour, ont été élevés dans une animalerie maintenue à une température de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Ils sont placés, par groupe de 4 ou 5, dans des cages sur une litière de sciure de bois dépoussiérée et examinés deux fois par semaine. Nourriture (régime synthétique d'entretien UAR n^o 103) et eau de boisson sont données ad libitum. Les animaux choisis pour l'expérimentation ont un poids proche du poids moyen calculé pour l'ensemble du lot. Ils sont été irradiés aux 50, 57 et 65e jours d'âge et suivis pendant 11 mois après la fin des irradiations. Les doses totales absorbées sont comprises entre 6 et 24 rads. L'intégrité de l'organisme a été contrôlé à travers le cycle oestrien, la croissance et la reproduction. Les tumeurs mammaires, apparues ont été enlevées sous anesthésie au nembutal. L'étude histologique des prélèvements et des principaux organes a été faite après fixation au liquide de Bouin et coloration à l'Hématoxyline Phloxine et Safran.

b) accélérateur-générateur de neutrons de 14 MeV :

Accélérateur de particules chargées, cet appareil (figure 1) produit des réactions génératrices de neutrons rapides. La plus couramment utilisée est provoquée par l'accélération de

deutrons qui produisent sur du tritium des neutrons dont la distribution est quasi mono-énergétique ($^3\text{H}(d,n)^4\text{He}$).

c) Dispositif d'irradiation tournant :

L'homogénéité du faisceau de neutrons fournis par le générateur est fonction de l'homogénéité du faisceau de deutons et de la répartition uniforme du tritium sur la cible. En fait, ces conditions ne sont pas parfaitement remplies. Pour corriger les effets de l'anisotropie du flux en fonction de la position et du temps, il faut faire tourner l'échantillon durant l'irradiation parallèlement à l'axe de la cible. D'autre part, la composition de l'animal n'étant pas uniforme, l'échantillon doit également tourner sur lui-même.

La combinaison de toutes ces solutions permet d'ajouter les effets de chacune d'elles et c'est pourquoi un dispositif d'irradiation tournant a été réalisé (figure 1). Les caractéristiques de fonctionnement de cet appareil sont les suivantes :

- 10 révolutions par minute sur l'axe parallèle à la cible.
- 20 révolutions par minute sur l'axe de l'échantillon.

Ces vitesses de rotation sont bien tolérées par le rat vivant.

RESULTATS

I. Incidence des irradiations sur :

a) Cycle oestrien :

Toutes les femelles soumises aux irradiations répétées réelles (95 femelles) ou simulées (60 femelles témoins) ont été choisies parmi les animaux ayant un cycle oestrien de 4 jours. Aucune perturbation profonde n'a été observée chez les animaux irradiés. Seul un allongement transitoire du cycle (5 jours au lieu de 4) a été noté chez 8 % des ratte. Mais 15 jours après la fin des irradiations tous les animaux traités avaient un Estrus tous les 4 jours.

b) La croissance :

Les courbes illustrant la croissance pondérale et staturale des rats OFA soumis à la diète choisie ont été tracées à partir des moyennes $\pm \sigma$ (écart-type à la moyenne) des mesures et pesées faites sur 60 rats (30 femelles + 30 mâles) jusqu'à 400 jours (figures 2 et 3).

L'évolution de la prise de poids journalière, plus importante chez le mâle, est comparable pour les deux sexes. La phase pubertaire (55 à 65 jours) est marquée par une accélération de la croissance. A partir de 230 jours. La femelle prend peu de poids. Par contre, la croissance reste non négligeable chez le mâle.

A partir de 120 jours, la croissance du squelette est très lente chez la femelle. Toutefois, les modifications de la taille chez le mâle restent encore sensibles jusqu'au 200ème jour. La croissance du squelette évolue ensuite très lentement et au même rythme pour les deux sexes.

Après un bref ralentissement, consécutif à l'anesthésie et à la double rotation, la croissance pondérale et l'accroissement du squelette des animaux (mâle et femelle) soumis aux irradiations réelles ou simulées, ne présentent aucune différence significative avec celles des témoins.

c) La reproduction :

Parmi les animaux irradiés, 10 mâles et 40 femelles ont été mis en reproduction 3 semaines après la fin des irradiations.

Différents lots ont été ainsi constitués soit :

- 1 mâle irradié x 4 femelles témoins
- 1 mâle irradié x 2 femelles témoins + 2 femelles irradiées
- 1 mâle irradié x 4 femelles irradiées
- 1 mâle témoin x 4 femelles témoins.

Aucune baisse du taux de fécondité n'a été observée.

Aucune anomalie ni dans la croissance, ni dans le sex ratio n'a été rencontrée chez les petits issus de parents irradiés.

II. Induction tumorale :

a) Le temps de latence :

Dans les conditions expérimentales adoptées (3 irradiations répétées en neutrons rapides) l'induction tumorale semble se faire en deux étapes :

- de 30 à 100 jours après la fin des irradiations les tumeurs observées sont toutes malignes.
- après une période silencieuse d'une centaine de jours, apparaissent des tumeurs surtout bénignes.

b) La fréquence :

Bien que les premiers néoplasmes observés apparaissent au niveau du mamelon, aucune tumeur épithéliale de la glande n'est apparue pendant l'expérimentation. Ainsi, pour une dose totale absorbée de 6 Rads, au cours des 3 irradiations, 7 % des mâles ont présenté des tumeurs telles que fibrosarcomes (Fig. 4) et lymphosarcomes.

Par contre chez la femelle ce sont les tumeurs mammaires qui sont le plus couramment induites (20 % pour 6 rads - 60 % pour 24 Rads). Quelque soit la dose totale absorbée les fibroadénomes (Fig. 5) apparaissent en plus grand nombre chez les femelles vierges (environ 4/5 des animaux porteurs). 5 % de ces tumeurs bénignes ont présentées des récurrences (fig. 6).

Bien que moins nombreuses, les tumeurs malignes (adénocarcinomes fig. 7) ont récidivé dans 45 % des cas (fig. 8).

Des métastases pulmonaires (fig. 9) ont été observées chez des animaux porteurs soit de fibrosarcomes (2/4), soit d'adénocarcinomes (2/20).

Dans ce modèle expérimental des modifications du statut hormonal retentissent sur la carcinogénèse mammaire :

Ainsi l'ovariectomie pratiquée dès l'ouverture du vagin (37 ± 2 jours) supprime l'induction tumorale.

Par contre la gestation suivie de lactation (placées après les irradiations) amplifie la réponse.

Enfin, lorsqu'un stress à l'éther encadre l'exposition aux neutrons, le nombre des tumeurs bénignes et malignes ainsi que le nombre d'animaux porteurs augmentent considérablement.

CONCLUSION :

Les résultats obtenus, par cette expérimentation, mettant en évidence l'hormonodépendance de la promotion tumorale voisine de celle qui a été observée avec les carcinogènes chimiques.

Cependant ces tumeurs présentent par leurs récurrences et leur éventuelles métastases quelques similitudes avec les cancers du sein chez la Femme.

Certes, les fréquences d'induction tumorale paraissent modestes comparées à celles obtenues avec le modèle DMBA, elles devraient cependant, nous semble-t-il se révéler fort utiles dans l'étude des influences hormonales susceptibles de contrôler l'apparition de ces tumeurs radio induites.



— BIBLIOGRAPHIE —

1. LACASSAGNE F.A.

Apparition du cancer de la mamelle chez la souris mâle soumise à des injections de folliculine.
C.R. Acad. Sciences, Paris, 195, 630-634, 1932.

2. HUGGINS C., GRAND L.C. and BRILLANTES F.P.

Mammary cancer induced by a single feeding of polynuclear hydrocarbons and its suppression.
Nautre, 189, 204-207, 1961.

3. DAVIS R.K., STEVENSON G.T., BUSCH K.A.

Tumor incidence in normal Sprague Dawley rats.
Cancer Res., 16, 194-197, 1956.

4. SHELLABARGER G.J., CRONKITE E.P., LIPPINCOTT S.W.

The occurrence of mammary tumors in the rat after sublethal whole-body irradiation.
Radiation Res., 6, 501-512, 1957.

5. VOGEL H.H. Jr et ZALDIVAR R.

Experimental mammary neoplasms : A comparison of effectiveness between neutrons, X and gamma radiation.

Symp. on neutrons in Radiobiology. ORNL, 207-229, 1969.

6. VOGEL H.H. Jr et ZALDIVAR R.

Neutron-induced mammary neoplasms in the rat.

Cancer Res., **32**, 933-938, 1972.

7. MYRDEN J.A. et HILTZ J.E.

Breast cancer following multiple fluoroscopies during artificial pneumothorax treatment of pulmonary tuberculosis.

Can. Med. Assoc. J., **100**, 1032-1034, 1969.

8. SHORE R.E., HEMPELMANN J.H., KOWALUK E. et al.

Breast neoplasms in women treated with X-rays for acute postpartum mastitis.

J. Natl. Cancer Inst., **59**, 813-822, 1977.

9. BOICE J.D. Jr et MONSON R.R.

Breast cancer in women after repeated fluoroscopic examinations of the chest.

J. Natl. Cancer Inst., **59**, 823-832, 1977.

10. COHN S.H., ELLIS K.J. et WALLACH S.

In vivo neutron activation analysis, clinical potential in body composition studies.

Am. J. Med. **57**, 683-686, 1974.

11. KELLERER A.M. et ROSSI H.J.

RBE and the primary mechanism of radiation action.

Rad. Res., **47**, 15-34, 1971.



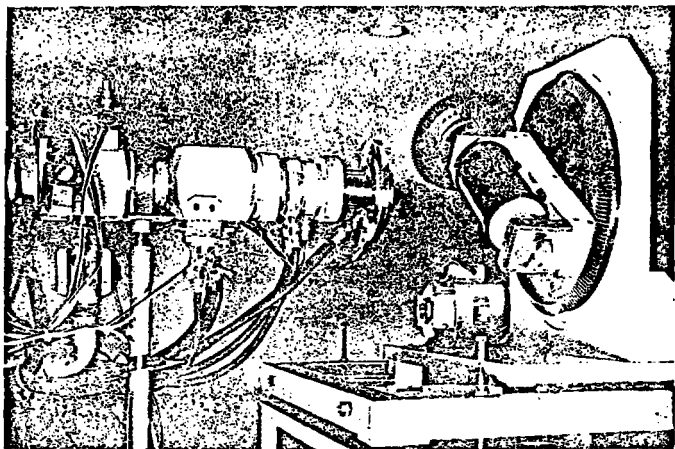


Figure 1 : Prolongateur et cible tritiée de l'accélérateur-générateur de neutrons de 14 MeV. Dispositif d'irradiation tournant.

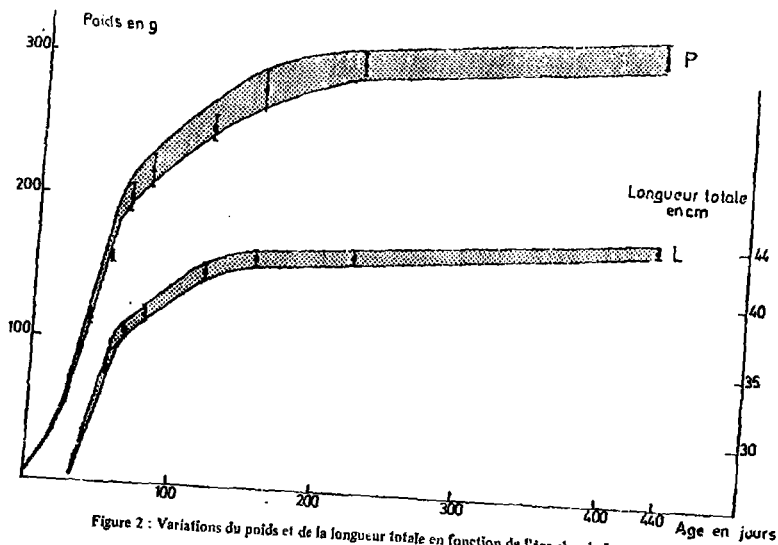


Figure 2 : Variations du poids et de la longueur totale en fonction de l'âge chez la femelle OFA

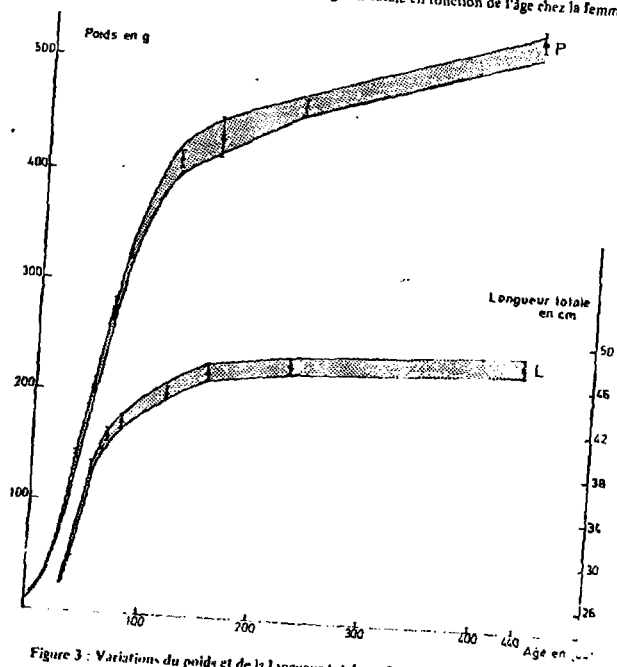


Figure 3 : Variations du poids et de la longueur totale en fonction de l'âge chez le mâle OFA

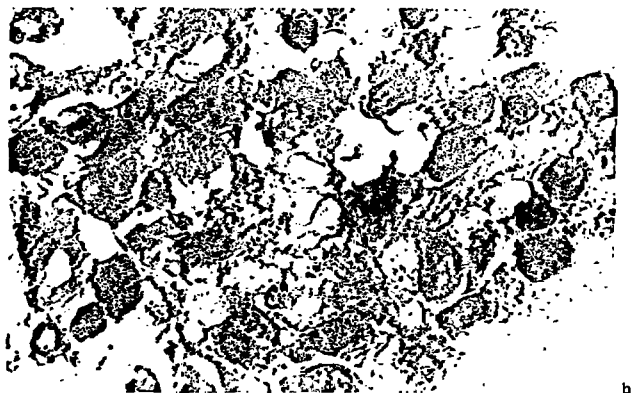
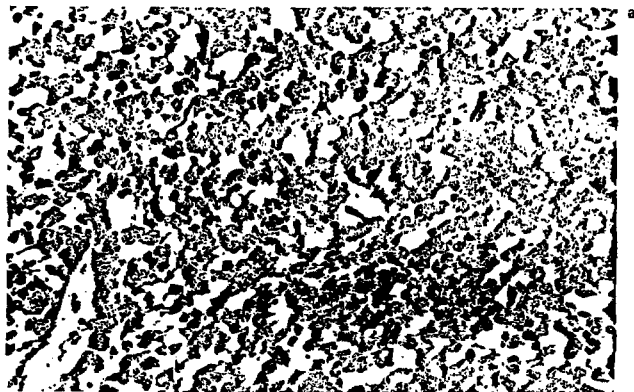


Figure 4 : Fibrosarcome apparu 95 jours après la fin des irradiations chez un même
OFA. H.P.S.
a) X 320
b) X 1250

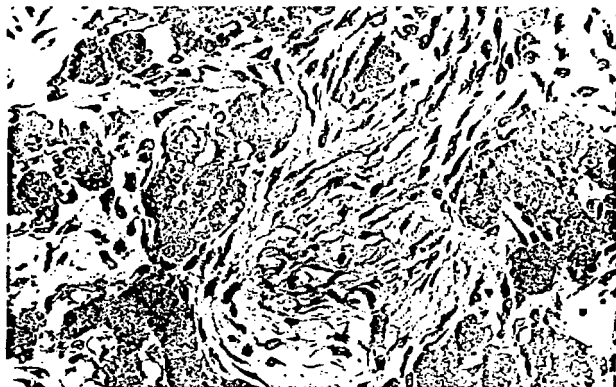


Figure 5 : Fibroadénome apparu 200 jours après la fin des irradiations chez une femelle OFA

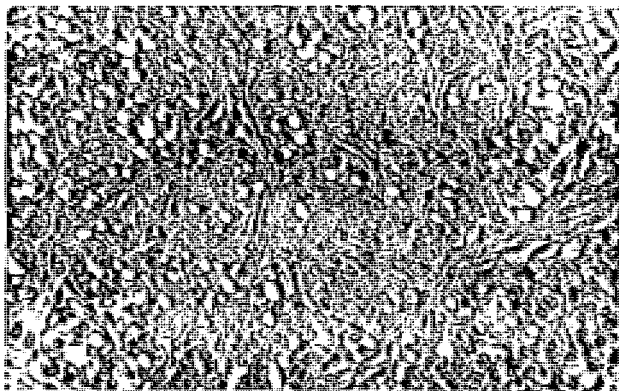


Figure 6 : Récidive du fibroadénome précédent apparue 65 jours après l'exérèse H.P.S.
X 320

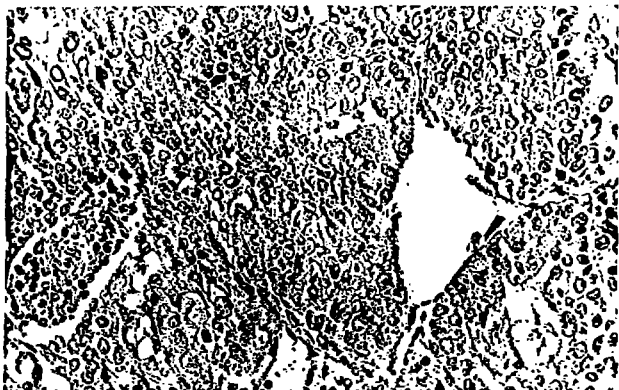


Figure 7 Adénocarcinome apparu 39 jours après la fin des irradiations chez une femelle OFA. H.P.S.
X 320

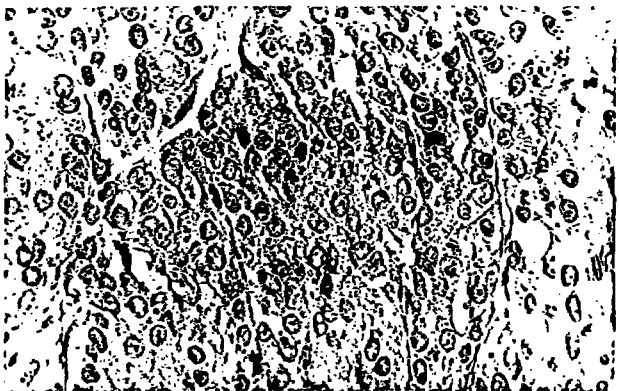


Figure 8 : Récidive de l'adénocarcinome précédent apparu 32 jours après l'excise . H.P.S.
X 320

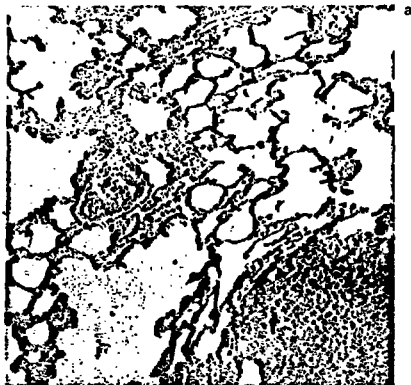


Figure 9 : Métastases pulmonaires d'un adénocarcinome. H.P.S.
a) X 320
b) X 500

