

CROISSANCE DES TISSUS DU RAT ET QUALITÉ DES PROTÉINES ALIMENTAIRES ; INFLUENCE SUR LE NOMBRE ET LA TAILLE DES CELLULES

G. DURAND, G. FAUCONNEAU et Éliane PENOT

avec la collaboration technique de Noëlle BOURGEOUX

*Laboratoire des Métabolismes,
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas*

SOMMAIRE

La croissance de la carcasse, de l'intestin grêle et du foie de rats nourris, les uns avec des protéines de mauvaise qualité (gluten de blé), les autres avec des protéines de bonne qualité (farine de hareng), a été étudiée en utilisant les tests suivants :

- mesure des variations de la teneur en acide désoxyribonucléique (DNA), dont la quantité est proportionnelle au nombre de noyaux, ou par extension au nombre de « cellules » ;
- mesure des variations du rapport : poids frais/DNA, proportionnel au poids, donc à la « taille des cellules » ;
- mesure des variations de certains aspects de l'activité cellulaire, exprimées par les variations des rapports acide ribonucléique (RNA)/DNA et protéines/DNA.

Il est montré que les cellules des tissus et organes des animaux carencés sont moins nombreuses, donc plus grandes, et généralement plus riches en protéines que celles des tissus et organes correspondants et de même poids, provenant d'animaux normaux.

Il apparaît également que, dans le cas des organes et tissus provenant des animaux carencés, l'augmentation du nombre des cellules est plus étalée dans le temps, et demeure plus longtemps le facteur principal de la croissance.

INTRODUCTION

Dans une précédente publication (DURAND *et al.*, 1965 *a*), l'étude biochimique de la croissance de la « carcasse », de l'intestin grêle et du foie du rat avait été envisagée, en fonction de l'âge de l'animal, sous les deux aspects suivants :

a) *L'évolution du nombre et de la taille des cellules et l'influence respective de chacun de ces deux facteurs sur la croissance.* Nous avons expliqué en détail les raisons qui nous ont amenés à donner, *par convention*, au mot « cellule » la définition suivante : « ensemble d'un noyau et de la quantité moyenne de matière vivante qui lui est associée y compris le matériel interstitiel ». D'après cette définition, le nombre de cellules est donc égal au nombre de noyaux, et le rapport

$$\frac{\text{Poids frais (d'un tissu ou d'un ensemble de tissus)}}{\text{Nombre de noyaux}}$$

permet d'apprécier la « taille des cellules ».

L'évolution du nombre de cellules d'un tissu ou organe est parallèle à celle de la quantité de DNA qu'il contient (BOIVIN et VENDRELY, 1948). L'évolution de la taille des cellules est donc parallèle à celle du rapport poids frais/DNA.

b) *L'évolution de certains aspects de l'activité cellulaire, parmi lesquels la quantité d'acide ribonucléique et d'azote protéique par cellule :* ces quantités varient comme les rapports RNA/DNA et protéines/DNA.

De plus, la croissance de la carcasse avait été envisagée quant à l'évolution de sa composition globale, c'est-à-dire des teneurs relatives en protéines ($N \times 6,25$), eau, lipides et cendres. Les résultats ont permis de décrire, chez des rats de 3 à 17 semaines, le type de croissance propre à chacune des parties étudiées et de préciser dans les trois cas les rôles respectifs de la multiplication et du grandissement cellulaires.

L'objet de la présente publication est l'étude de l'influence de la qualité des protéines alimentaires sur l'évolution des mêmes phénomènes au cours de la croissance, avec les critères ci-dessus définis. Elle concerne la croissance comparée de l'intestin grêle (sans séreuse), du foie et de la « carcasse » de rats, les uns soumis à un régime apportant des protéines de bonne qualité (farine de poisson de Norvège), les autres à un régime apportant des protéines de mauvaise qualité (gluten de blé). Nous entendons par « carcasse » l'ensemble du corps de l'animal, moins le foie, l'intestin grêle et le gros intestin (ce dernier est écarté et n'est soumis à aucune analyse).

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Matériel animal

Onze lots de rats mâles *Wistar* ont été utilisés. La numérotation, le nombre d'animaux, l'âge et le poids vif moyen au moment de l'abattage, ainsi que le régime alimentaire auquel ils ont été soumis sont rassemblés dans le tableau 1.

- *Lot 1* : les animaux n'ont consommé que le lait maternel.
- *Lot 2* : après le sevrage, les animaux ont reçu pendant une semaine un aliment équilibré à base de blé et de farine de poisson (18 p. 100 de matières azotées), appelé « aliment standard »
- *Lots H* (H_1 à H_6) : après la semaine d'adaptation, on a distribué aux animaux un régime semi-synthétique à 16 p. 100 de matières azotées ; celles-ci sont apportées exclusivement par de la farine de hareng de Norvège (régime H). Quoique cet aliment soit relativement pauvre en méthio-

nine-cystine, le taux azoté utilisé est tel que tous les acides aminés indispensables sont apportés en quantité suffisante pour couvrir les besoins du rat (RANHOTRA et JOHNSON, 1965; ROGERS et HARPER, 1965).

TABLEAU I

Numéro du lot	Age à l'abattage (semaines)	Poids à l'abattage (g)	Régime	Nombre d'animaux
1	3	39 ± 2	Lait maternel Standard	15
2	4	70 ± 3		11
H ₁	5	106 ± 5	Farine de Hareng (régime H)	10
H ₂	7,5	193 ± 10		8
H ₃	10	282 ± 14		5
H ₄	17	393 ± 25		6
H ₅	40	487 ± 30		6
G ₁	7,5	106 ± 5	Gluten de blé (régime G)	9
G ₂	10	157 ± 7		7
G ₃	17	205 ± 10		7
G ₄	40	439 ± 25		5

La composition centésimale du régime est portée dans le tableau 2. A 1 000 g du mélange sont ajoutés 500 ml d'eau, de façon à obtenir une pâte fluide. L'aliment ainsi composé est distribué *ad libitum*.

• Lots G (G₁ à G₄) : après la semaine d'adaptation, on a distribué aux animaux un régime iso-énergétique au précédent, et contenant la même quantité de matières azotées (16 p. 100). Mais celles-ci sont apportées exclusivement par du gluten de blé (régime G).

TABLEAU 2

Composition centésimale des régimes alimentaires

	Régime H	Régime G
Farine de poisson de Norvège	22,0	—
Gluten de blé	—	20
Amidon de maïs	42,5	44,5
Sucre cristallisé	21,5	21,5
Huile d'arachide (pression)	8	8
Agar-Agar	2	2
Mélange minéral (OSBORNE et MENDEL)	3	3
Mélange vitaminique (HENRY et RÉRAT, 1963)	1	1

Le régime ne permet pas de couvrir en particulier les besoins du rat en lysine et en tryptophane.

La composition centésimale en g du mélange sec est rapportée dans le tableau 2. A 1 000 g du mélange sont ajoutés 650 ml d'eau; l'aliment ainsi constitué est distribué *ad libitum*.

a) *Consommation comparée des animaux H et G.*

La consommation quotidienne des animaux H en fonction de leur poids est portée sur la figure 1. De 9,5 g (matière sèche) pour des animaux pesant 70 g, elle s'élève jusqu'à 20,5 g pour des animaux pesant 400 g. La figure 2 a représente la courbe de consommation relative des animaux G par rapport à celle des animaux H de même poids. On remarque qu'au moment de la mise au régime

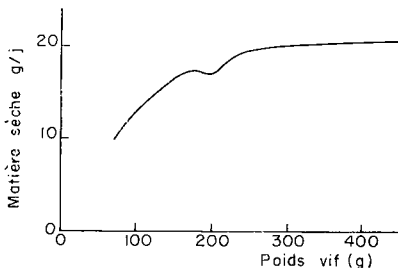


FIG. 1. — *Quantité d'aliments ingérée par les rats recevant de la farine de hareng (animaux H), en fonction de leur poids vif*

les premiers manifestent peu d'appétit pour l'aliment qui leur est distribué et ne consomment que 75 p. 100 de ce que consomment les seconds ; puis ils semblent vouloir rattraper leur retard, ce qui correspond au premier sommet de la courbe. La consommation relative se stabilise ensuite à 85 p. 100 quand les rats pèsent de 130 à 220 g, augmente à nouveau à partir de 220 g jusqu'à égaler celle des animaux H vers 290-300 g.

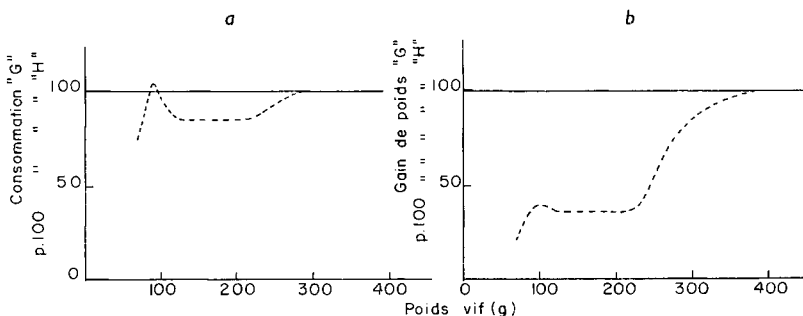


FIG. 2. — *Consommation alimentaire (a) et croissance (b) relatives des rats recevant du gluten de blé (G) par rapport à celles des rats recevant de la farine de hareng (H)*

b) *Croissance comparée des animaux H et G.*

La croissance des animaux H est maximale (environ 5,5 g) quand les animaux pèsent à peu près 200 g. La figure 2 b représente la courbe de croissance relative des animaux G par rapport à celle des animaux de même poids. A cours du premier stade (de 100 à 220 g), quand la consommation relative des rats G est de 85 p. 100, leur gain de poids quotidien relatif est de 37 p. 100. Quand les animaux G atteignent 220 g, au moment où leur appétit augmente, leur gain de poids relatif augmente lui aussi jusqu'à atteindre pratiquement 100 p. 100 pour des animaux de 400 g.

Il apparaît donc que, lorsque les animaux G atteignent 220 g, il y a un changement assez brusque dans leur besoin en acides aminés indispensables : à partir de ce stade, ils supportent de mieux en mieux un régime pauvre en lysine et en tryptophane : ceci apparaît sur les figures 3 a et 3 b où les coefficients d'utilisation pratique de l'azote et de l'énergie sont rapportés en fonction du poids vif. A partir de 300 g, les animaux G tendent à s'aligner sur les animaux H ; à partir de 400 g tous les animaux peuvent pratiquement consommer indifféremment de la farine de poisson ou du gluten de blé, sans que leur vitesse de croissance s'en trouve affectée. Ceci n'est qu'une confirmation supplémentaire des conclusions de plusieurs auteurs et principalement de MITCHELL (1947) suivant lesquelles le besoin en lysine du rat adulte est très faible.

Il est intéressant de considérer le moment du changement dans le besoin en acides aminés indispensables ; celui-ci est-il dû au fait que les animaux aient atteint un certain poids (220 g) ou bien un certain âge (environ 17 semaines) ? La question serait aisément soluble en essayant parallèlement des protéines de qualités diverses, depuis l'œuf jusqu'à la zéine.

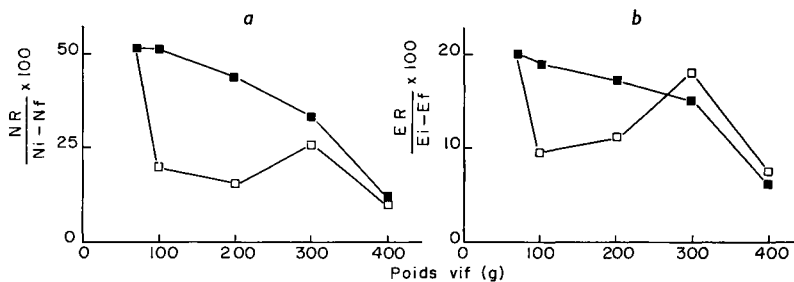


FIG. 3. — Évolution des coefficients de rétention :

a) de l'azote $\left(\frac{N \text{ retenu}}{N \text{ ingéré} - N \text{ fécal}} \times 100 \right)$

b) de l'énergie $\left(\frac{E \text{ retenue}}{E \text{ ingérée} - E \text{ fécale}} \times 100 \right)$

en fonction du poids vif de l'animal

■ rats « Farine de Hareng » □ rats « Gluten »

c) Aspect des animaux.

De 70 à 220 g, le pelage des rats recevant le gluten est hérissé, de couleur blanc roux, et les régions de la peau exposées à la lumière (queue, extrémités des membres) sont couvertes d'érythèmes. Au-delà de 220 g, ces symptômes disparaissent peu à peu, et les animaux reprennent un aspect normal.

Méthodes analytiques

Les méthodes d'abattage des animaux, les prélèvements des foies et des intestins grêles et toutes les opérations analytiques conduisant au dosage de l'azote (azote total et azote protéique), et des acides nucléiques (RNA et DNA) dans les organes et la carcasse ont déjà été décrites (DURAND *et al.*, 1965 a).

RÉSULTATS

CARCASSE (tabl. 3 fig. 4 a à 4 d)

Poids frais.

La carcasse, telle qu'elle a été définie, représente au sevrage 89,7 p. 100 du poids vif, et seulement 82 p. 100 chez des animaux de 70 g. Ceci est dû au développement important de l'intestin grêle, du cæcum et de son contenu après le sevrage. La phase d'allométrie positive de ces organes est suivie d'une phase d'allométrie négative, de sorte que la part de la carcasse dans le poids frais augmente à nouveau pour atteindre environ 92 p. 100 chez des animaux dépassant 400 g. Le régime ne semble pas avoir d'influence.

Composition globale.

Les résultats sont résumés dans le tableau 3. La teneur des carcasses G en protéines est en général de 10 à 20 p. 100 inférieure à celle des carcasses H de même

TABLEAU 3

Carcasse

N° du lot.....	1		2		H ₁	H ₂	H ₃	H ₄	H ₅	G ₁	G ₂	G ₃	G ₄
Age (semaines).....	3	4			5	7,5	40	17	40	7,5	40	17	40
Poids vif (g).....	39	70			106	493	282	393	487	107	155	205	439
Poids de carcasse.....	35	57			89	468	252	359	451	90	137	183	405
a) Composition globale en fonction du poids et du régime alimentaire en g. 100 de poids frais de carcasse													
Eau.....	71,4	70			68,6	66,4	61,1	56,7	52,8	63,7	57,6	56,3	49,5
Lipides.....	8,9	9,5			10,2	11,8	16,4	20,5	26,8	15,5	23,1	23,2	31,2
Protéines (N × 6,25).....	17	17,3			17,6	18,5	19,3	19,7	17,4	17,3	16,1	17,5	16,4
Cendres.....	2,7	3,2			3,6	3,3	3,2	3,1	3,0	3,5	3,2	3,0	2,9
b) Évolution de la teneur en acides nucléiques et en azote en fonction du poids et du régime alimentaire													
Poids frais p. 100 du poids vif.....	89,7	81,9			84,0	87	89,4	91,3	92,4	84,0	88,5	89,5	92,1
Poids S.D. (1) p. 100 du poids frais.....	17,5	18,2			18,1	20,2	18,6	20,8	18,0	17,4	16,2	17,8	17,0
DNA/g S.D. (μM de bases).....	43,3	35,0			31,5	24,1	48,2	43,5	42,2	23,0	21,7	17,7	12,6
DNA total (μM de bases).....	265	366			507	715	854	1 008	990	360	480	579	869
RNA/g S.D. (μM de bases).....	43,7	44,2			40,5	26,3	20,0	15,1	13,4	26,5	24,6	20,2	14,5
RNA total (μM de bases).....	267	430			652	892	938	1 128	1 090	415	544	660	998
Poids frais (g) × 10 ³	132	157			175	235	296	356	455	250	284	316	466
DNA total (μM).....													
Azote/g S.D. (mg).....	3,1	3,8			4,3	6,4	7,4	10	11	5,9	6,2	7,6	10,7
DNA/g S.D. (μM).....													
RNA/DNA.....	1,01	1,17			1,29	1,25	1,09	1,12	1,09	1,16	1,13	1,14	1,14

(1) S.D. = Sec et dégraissé.

pois. Il y a un effet dépressif du gluten. Les teneurs en cendres ne semblent pas influencées par le régime. Les teneurs respectives en eau et en lipides sont modifiées : les animaux qui reçoivent les protéines de mauvaise qualité emmagasinent des quantités plus importantes de lipides et moins d'eau. Ainsi, les carcasses du lot H₂ contiennent seulement 11,8 p. 100 de lipides alors que les carcasses du lot G₃, dont le poids est voisin, en contiennent 23,2 p. 100, soit pratiquement le double. Ces différences s'atténuent quand le poids des carcasses dépasse 400 g.

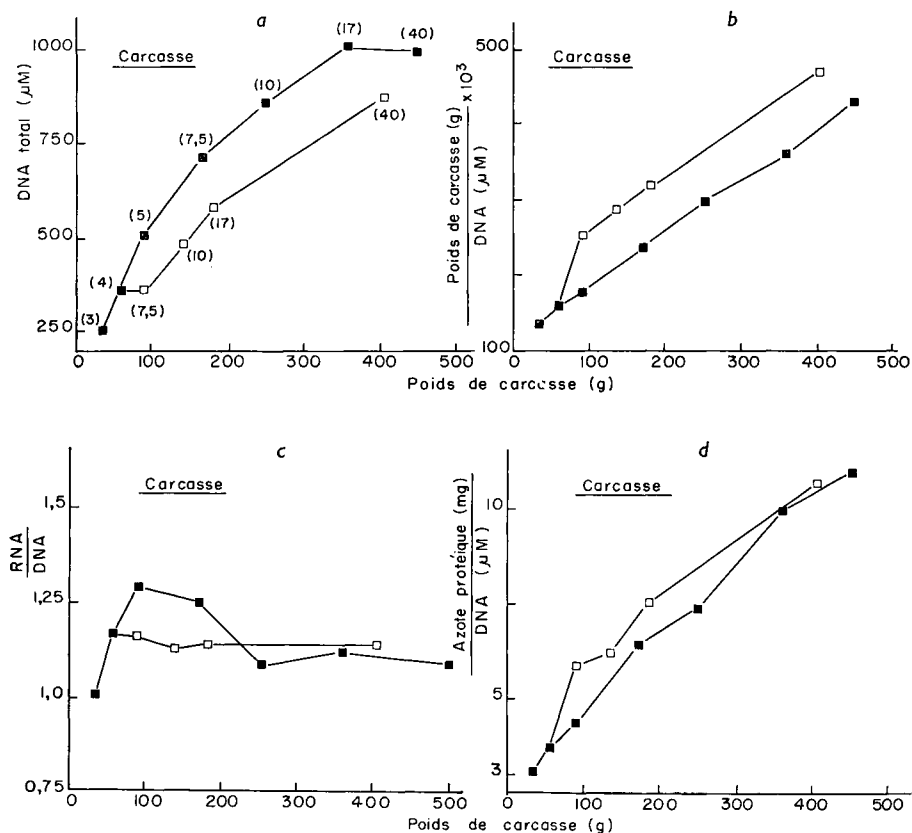


FIG. 4. — Carcasse. — Évolution :

- a) du contenu total en DNA,
 b) du rapport poids frais/DNA,
 c) du rapport RNA/DNA,
 d) du rapport Azote protéique/DNA

en fonction du poids frais de la carcasse

■ rats « Farine de Hareng » □ rats « Gluten »

L'âge des animaux est noté entre parenthèses sur la figure a

Teneurs en DNA et rapport poids frais/DNA (fig. 4 a et 4 b).

L'étude de la teneur des carcasses H et G, comparées à poids égal, en DNA et RNA a été déjà abordée dans une précédente publication (DURAND *et al.*, 1965 b) ; il apparaît que, avec le régime H, à partir du moment où les animaux pèsent 70 g,

la quantité de DNA augmente en fonction du poids de la carcasse suivant une courbe que l'on peut assimiler à un arc de l'hyperbole :

$$y = \frac{10^3 x}{0,74 x + 107,5} \quad (1)$$

où : y est la quantité de DNA en micromoles (somme des bases en micromoles), x le poids de la carcasse en grammes.

Lorsqu'on soumet les animaux au régime G, l'augmentation du DNA est provisoirement arrêtée, jusqu'à ce que le poids de la carcasse atteigne 90-100 g environ. Au-delà, le DNA augmente à nouveau en fonction du poids de la carcasse, suivant une courbe que l'on peut assimiler à un arc de l'hyperbole :

$$y = \frac{10^3 x}{0,68 x + 191,0} \quad (2)$$

La courbe (2) tend à se rapprocher de la courbe (1) sans toutefois pouvoir la rejoindre. Il faudrait, pour qu'il y ait intersection des deux courbes, que les carcasses atteignent un poids supérieur à 1 300 g, ce qui est absurde. Ainsi, dans nos conditions expérimentales, la teneur en DNA d'une carcasse G est inférieure de 30 à 10 p.100 à celle d'une carcasse H de même poids.

Il résulte évidemment de ce qui précède que les rapports poids frais/DNA sont, dans l'un et l'autre cas, des fonctions approximativement linéaires du poids de carcasse et que le rapport poids frais/DNA G est toujours plus élevé.

Activité cellulaire.

RNA/DNA (fig. 4 c). — Partant de 1,17 pour des carcasses de 57 g, le rapport RNA/DNAH est maximal quand les carcasses pèsent entre 100 et 200 g. Il est alors supérieur ou égal à 1,29. Il diminue ensuite et se stabilise autour de 1,10 dès que les carcasses atteignent le poids de 250 g. Le rapport RNA/DNA G présente une remarquable stabilité restant très voisin de 1,15 pour des carcasses pesant de 57 à 400 g.

Azote protéique/DNA (fig. 4 d). — Le rapport H augmente de 3,1 à 11 quand le poids de carcasse augmente de 35 à 450 g. Le rapport G augmente très rapidement pendant la période de transition et devient supérieur de 30 p. 100 au rapport H correspondant. Cette différence s'atténue peu à peu et disparaît quand les carcasses atteignent le poids de 350 g environ.

INTESTIN GRÊLE (tabl. 4, fig. 5 a à 5 d)

Poids frais.

Celui-ci ne dépend que du poids vif des animaux ; quel que soit le régime alimentaire, l'organe atteint 85-90 p. 100 de son poids maximal (10 g environ) quand les animaux pèsent 200 g. Le poids de l'intestin grêle correspondant aux animaux G de 439 g (lot G₄) est anormalement faible (8,76 g), comme des vérifications ultérieures, effectuées sur un grand nombre d'animaux, ont permis de le constater.

Poids sec et dégraissé p. 100 du poids frais.

La valeur de ce rapport décroît de 11,4 à 10,5 durant la semaine qui suit la mise au régime H ; elle augmente légèrement par la suite, et atteint 11,2 quand le poids de l'intestin est le plus élevé.

TABLEAU 4

Intestin grêle

Évolution de la teneur en acides nucléiques et en azote en fonction du poids et du régime alimentaire.

N° du lot.....	1	2	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄	H ₅	G ₁	G ₂	G ₃	G ₄
Age (semaines).....	3	4	5	7,5	10	17	40	7,5	40	17	40
Poids vif (g).....	39	70	107	193	282	393	487	107	155	205	439
Poids frais/rat (g).....	2,4	4,2	6,4	8,4	9,1	9,7	10,3	6,5	7,7	9	8,76
Poids frais p. 100 du poids vif.....	6,05	6,0	6,0	4,3	3,2	2,4	2,1	6,1	5,0	4,35	4,99
Poids S.D. (¹) p. 100 du poids frais.....	10,4	11,4	10,5	10,5	10,6	10,6	11,2	9,1	10,3	10,3	10,4
DNA/g S.D. (µM de bases).....	124,6	120	112,6	112,9	109,0	112,3	102,5	114	100	100	99
DNA total (µM de bases).....	31	58	74	99	106	115	118	67,2	78,7	93,2	90,2
RNA/g S.D. (µM de bases).....	150,2	140,2	156,7	133,0	121,2	117,5	110,1	139,8	116,5	118	98,5
RNA total (µM de bases).....	37	67	105	117	118	121	127	82,5	92	109,7	89,7
Poids frais (g) × 10³.....	77	73	84	84,5	86	84	87	96,7	97,8	96	97,1
DNA total (µM).....											
Azote/g S.D. (mg).....	1,14	1,10	1,20	1,20	1,25	1,26	1,32	1,2	1,36	1,36	1,37
DNA/g S.D. (µM).....											
RNA/DNA.....	1,20	1,16	1,39	1,18	1,10	1,05	1,07	1,23	1,16	1,18	0,99

(¹) S.D. = Sec et dégraissé.

Dans le cas G, la valeur du rapport décroît de 11,4 à 9,1 après la période qui suit la mise au régime ; elle augmente à nouveau par la suite, et reste voisine de 10,3-10,4.

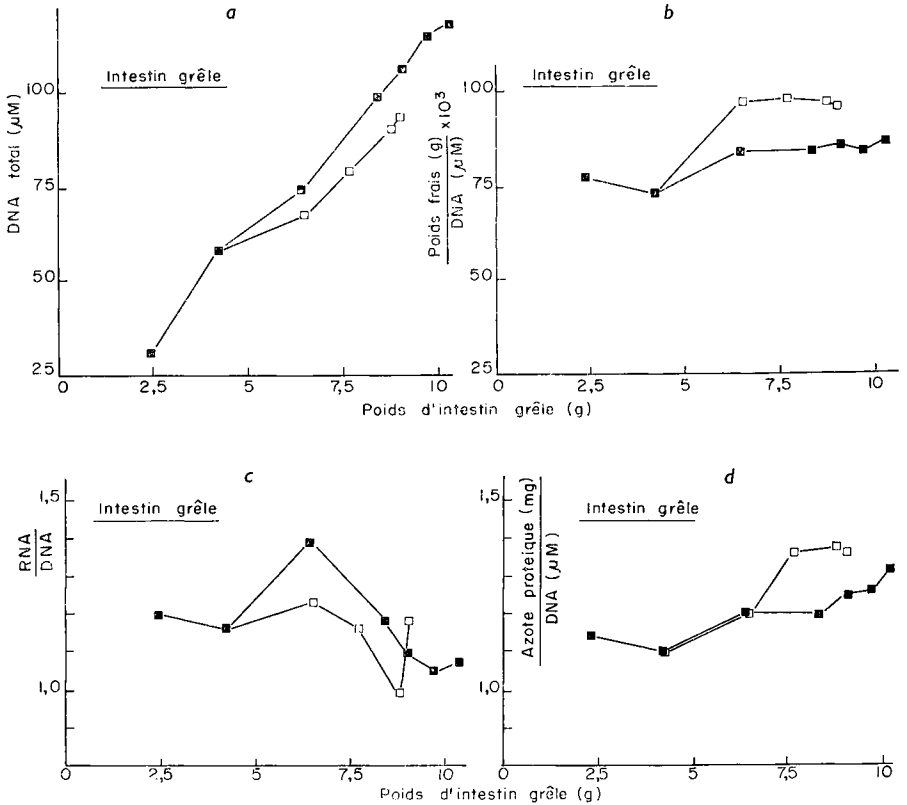


FIG. 5. — Intestin grêle. — Évolution en fonction du poids de l'organe :

- du contenu total en DNA,
- du rapport poids frais/DNA,
- du rapport RNA/DNA,
- du rapport Azote protéique/DNA

■ rats « Farine de Hareng » □ rats « Gluten »

A poids égal d'organe, le rapport demeure donc légèrement plus faible quand les animaux reçoivent du gluten de blé.

Teneurs en DNA et rapport poids frais/DNA (fig. 5 a et 5 b).

A poids égal d'organe, les intestins G contiennent moins de DNA que les intestins H correspondants : 3,9 p. 100 en moins pour des organes de 5 g, 12,5 p. 100 en moins pour des organes de 9 g et au-dessus. Il s'ensuit évidemment que la valeur du rapport poids frais/DNA est plus grande dans le cas G. Mais dans les deux cas, elle est remarquablement peu variable dès que les organes ont atteint le poids de 6,5 g, oscillant autour de $85 \times 10^{-3} \text{ g}/\mu\text{M}$ de bases DNA pour les intestins H et de $97 \times 10^{-3} \text{ g}/\mu\text{M}$ de bases DNA pour les intestins G.

TABLEAU 5

Note

Évolution de la teneur en acides nucléiques et en azote en fonction du poids et du régime alimentaire

N° du lot	1	2	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄	H ₅	G ₁	G ₂	G ₃	G ₄
Age (semaines)	3	4	5	7,5	10	17	40	7,5	40	17	40
Poids vif (g)	39	70	407	493	282	393	487	407	435	205	439
Poids frais/rat (g)	4,8	3,9	5,7	9,4	43	15,6	47,75	5,1	7,4	9,4	45,7
Poids frais p. 100 du poids vif	4,7	6	5,4	4,9	4,6	4	3,6	4,7	4,6	4,4	3,5
Poids S.D. (°) p. 100 du poids frais	15	18,5	16	18	19	19	18,9	14,5	14,7	15,9	18,6
DNA/g S.D. (μM de bases)	45,2	34,8	38,3	33,0	29,4	28,4	27,0	41,8	39,6	35,4	24,4
DNA total (μM de bases)	12,5	25	36	57	73	82	90,5	30,0	41	51	70
RNA/g S.D. (μM de bases)	141,8	420,7	131,0	121,0	100,6	90	87,4	445,5	431,3	430,5	83,6
RNA total (μM de bases)	39	88	123	211	250	262	293	106	137	175	242
Poids frais (g) × 10 ³	148	453	458	465	477	490	496	469	472	478	223
DNA total (μM)	3,4	3,8	3,5	4,0	4,7	4,8	4,9	3,3	3,5	4,0	5,7
Azote/g S.D. (mg)	3,4	3,8	3,5	4,0	4,7	4,8	4,9	3,3	3,5	4,0	5,7
DNA/g S.D. (μM)	3,4	3,47	3,47	3,67	3,45	3,21	3,24	3,48	3,31	3,40	3,46
RNA/DNA	3,44	3,47	3,47	3,67	3,45	3,21	3,24	3,48	3,31	3,40	3,46

(°) S.D. = Sec et dégraissé.

Activité cellulaire.

RNA/DNA (fig. 5c). — Le rapport est plus faible pour les intestins grêles G, tout au moins jusqu'à ce que le poids frais soit de 8,5 g.

Azote protéique/DNA (fig. 5d). — Pour des intestins de 4 à 6,5 g, le rapport est comparable dans les deux cas. Par la suite, le rapport G augmente fortement, de telle sorte que la teneur en azote de l'organe entier n'est pas éloignée de celle d'un organe H correspondant.

FOIE (tabl. 5, fig. 6 a à 6 d)

Poids frais.

Quel que soit le régime alimentaire, le poids frais du foie augmente aussi longtemps que le poids vif de l'animal. Alors que le foie représente 4,7 p. 100 du poids vif chez un rat de 39 g, il représente encore 3,6 p. 100 chez un rat de 450 g environ.

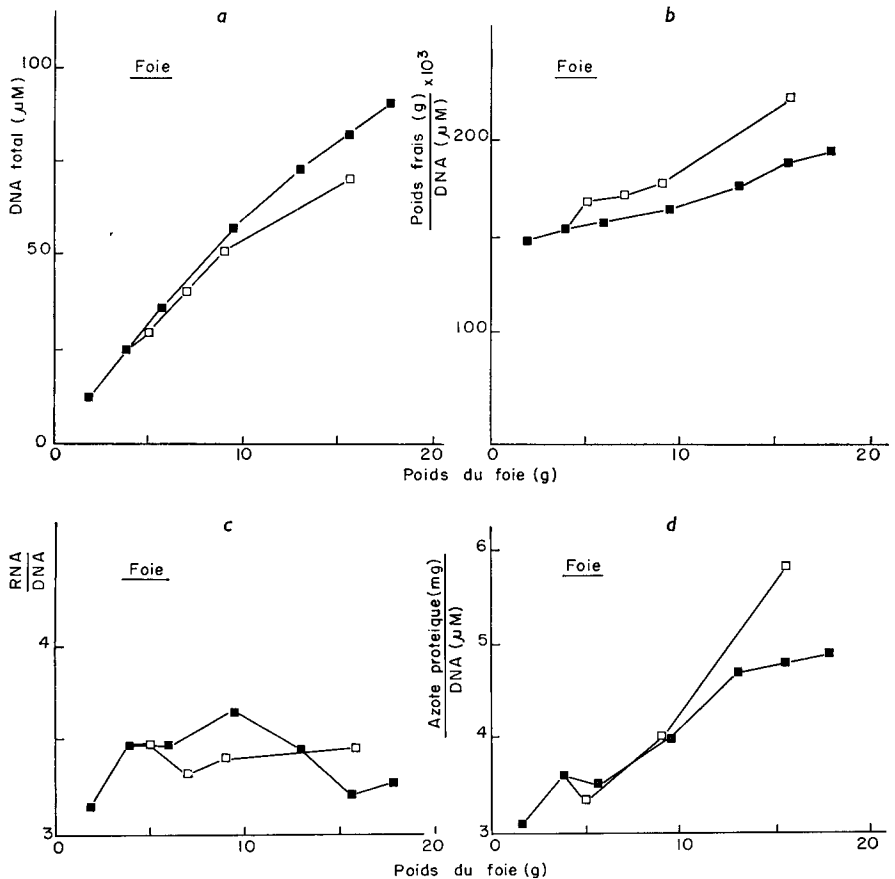


FIG. 6. — Foie — Évolution en fonction du poids de l'organe :

- du contenu total en DNA,
- du rapport poids frais/DNA,
- du rapport RNA/DNA,
- du rapport Azote protéique/DNA

■ rats « Farine de Hareng »

□ rats « Gluten »

A poids vif égal des animaux H et G, le poids frais des foies G est plus faible que celui des foies H :

de 10,5 p. 100 pour des animaux de 105 g
 de 8 p. 100 pour des animaux de 200 g
 de 12 p. 100 pour des animaux de 440 g

soit une infériorité moyenne de 10 p. 100.

Dans ce qui suit, les foies H et G seront comparés à poids frais égal.

Poids sec et dégraissé p. 100 du poids frais.

Celui-ci est plus faible dans le cas des foies G que dans le cas H : en effet, quand le poids des foies varie de 5 à 9 g, ce rapport varie de 16 à 18 dans le cas H, alors qu'il ne varie que de 14,5 à 15,9 dans le cas G. Au-delà, les foies G comblent peu à peu leur retard et le rapport atteint à peu près la même valeur {maximale pour des foies G de 16 g, soit environ 19.

Teneurs en DNA et rapport poids frais/DNA (fig. 6 a et 6 b).

Le DNA total des foies G est inférieur de 5 p. 100 à celui des foies H pour des organes dont le poids augmente puisque l'écart s'accroît de 5 à 15 p. 100 quand le poids des foies augmente de 10 à 16 g. Le rapport poids frais/DNA est donc plus élevé dans le cas G.

Activité cellulaire.

RNA/DNA (fig. 6 c). — Le rapport H augmente de 3,47 à 3,67 quand le poids du foie augmente de 3,9 à 9,4 g ; il redescend ensuite et se stabilise vers 3,2. Le rapport G garde une valeur s'écartant peu de 3,4 pendant toute la période étudiée.

Azote protéique/DNA (fig. 6 d). — Le rapport H augmente rapidement de 3,6 à 4,7 quand le poids du foie augmente de 3,9 à 13 g. Il n'augmente plus ensuite que très lentement. Le rapport G ne subit pas une brusque augmentation suivie d'un ralentissement, mais au contraire une augmentation régulière ; comme dans le cas de l'intestin grêle, il devient supérieur au rapport H correspondant.

DISCUSSION

A — Choix des lots

La croissance des animaux des lots analysés, tant avec le régime H qu'avec le régime G correspond en général à la croissance moyenne observée sur un grand nombre d'animaux ; une exception toutefois : le lot G₃ est composé d'animaux ayant présenté une croissance plus faible que la moyenne, les animaux de ce lot auraient dû peser, au lieu de 205 g, environ 230 g.

B — Considérations générales

Les animaux qui reçoivent les protéines de mauvaise qualité ont un moins grand appétit (fig. 2). Les effets d'une alimentation à base de gluten de blé, que nous avons étudiés, sont donc la somme :

- 1° d'une carence des protéines en certains acides aminés indispensables : lysine et tryptophane.
 2° d'une réduction de la consommation totale des protéines.
 3° d'une réduction de la consommation d'énergie.

Avec la méthode utilisée, il n'est pas possible de déterminer la part qui revient à chacune de ces trois causes. D'autre part, comme il en avait déjà été discuté dans une précédente publication, des organes comme le foie ou l'intestin grêle, ou un ensemble de tissus comme ce que nous avons appelé « carcasse », sont constitués de tissus variés (musculaires, osseux, conjonctifs, épithéliaux, etc.). La méthode utilisée ne permet pas de déterminer la part revenant à chacun d'eux.

Dans ce qui suit, compte tenu des conventions adoptées dans l'introduction, les expressions :

Quantité de DNA
 Rapport poids frais/DNA
 RNA/DNA et azote/DNA

seront remplacées respectivement par :

$$\text{Nombre de cellules} = N = k \times \text{DNA}$$

$$\text{Taille de cellule} = \frac{\text{Poids frais}}{N} = p$$

Quantité de RNA par cellule et quantité d'azote par cellule

Carcasse

Le nombre de cellules contenues dans les carcasses des animaux du lot H₅ est légèrement inférieur au nombre de cellules contenues dans les carcasses des animaux H₁. Il semble peu probable que cette diminution soit l'expression d'une réalité physiologique relative au vieillissement, mais plutôt l'effet d'une variabilité génétique liée à l'hétérogénéité de la souche de rats utilisés. Toutefois, les influences possibles d'autres facteurs de variabilité (saison, environnement, etc.) ne doivent pas être écartées.

a) Influence des protéines alimentaires sur le nombre de cellules contenues dans des carcasses comparées à poids égal.

De l'analyse des résultats, il ressort que le nombre de cellules contenues dans des carcasses d'animaux normalement alimentés est une fonction du poids de celles-ci ; il apparaît aussi qu'à partir d'un certain stade de la croissance (après sevrage), cette fonction peut être assimilée à une hyperbole :

$$\text{Nombre de cellules} = \frac{a \times \text{poids frais}}{b \times \text{poids frais} + c}$$

a étant un coefficient dépendant des unités choisies, b et c étant des paramètres.

Le passage d'un régime riche à un régime pauvre est suivi d'une période au cours de laquelle la multiplication cellulaire est inhibée ; la croissance pondérale, devenue faible, est due au seul grandissement cellulaire. Cette période de transition

étant achevée, le nombre de cellules augmente à nouveau en fonction du poids de l'animal, suivant une hyperbole du même type que la précédente, mais différente quant à ses paramètres, ceux-ci étant tels que le retard pris vis-à-vis des animaux bien alimentés peut être en partie comblé, mais en partie seulement.

La régularité des arcs de courbe représentant les variations de la quantité de noyaux, tant en fonction du poids que de l'âge (et en conséquence la régularité des arcs de courbe représentant la variation de la taille des cellules en fonction des mêmes variables), est remarquable, si l'on considère la grande diversité des tissus composant la carcasse. Le fait que l'on ne constate pas de « décrochements » soudains est le signe que le développement de l'organisme est le résultat d'une évolution harmonieuse de l'ensemble de ses constituants et qu'aucun accident (arrêt de la croissance d'un tissu, déclenchement de la croissance d'un autre, apparition de polyploïdie) ne vient brusquement en briser le rythme.

Ceci, tout aussi vrai pour l'intestin grêle, est un peu moins évident pour le foie.

Dans la présente étude, les animaux ont été soumis au régime pauvre à un stade précoce de la croissance (4 semaines, 70 g), et la période de transition s'est étendue sur plus de deux semaines. La durée de cette dernière devient de plus en plus brève et finalement devient nulle quand le passage d'un régime à l'autre a lieu à un stade de plus en plus tardif de la croissance (DURAND, non publié). Ceci peut conduire à penser que les animaux, qui ont accumulé la plus grande part du capital cellulaire fixé par leur capacité génétique, deviennent insensibles à des carences en lysine et en tryptophane et peuvent dès lors être considérés comme adultes. En pratique, et avec la souche utilisée, ce stade adulte correspond aux animaux du lot H₄ (17 semaines, 400 g), puisque la quantité de DNA contenue dans les carcasses des animaux de ce lot et celle contenue dans les carcasses des animaux du lot H₅ (fig. 4 a) ne sont pas sensiblement différentes. Une telle définition de l'état adulte soulève le problème suivant : étant donné que les animaux G atteignent moins vite leur capital cellulaire maximal, doit-on en conclure que le fait d'avoir reçu une alimentation de médiocre qualité retarde l'arrivée à l'âge adulte et que la jeunesse s'en trouve en quelque sorte prolongée ?

Les travaux de plusieurs auteurs (cités par ANDREW, 1960) laissent penser qu'un allongement de la période de croissance dû à une réduction de la consommation alimentaire favorise l'allongement de la durée de vie des animaux. En va-t-il de même lorsque l'allongement de la période de croissance est dû à la médiocrité des protéines alimentaires ? Aucune donnée ne permet actuellement de prévoir quel peut en être le retentissement sur les états physiologiques futurs de l'animal.

b) *Étude de l'influence relative de l'augmentation du nombre et de la taille des cellules sur la croissance des carcasses H et G, comparées à poids égal.*

Soit P le poids frais d'un tissu (ou d'un ensemble de tissus), N le nombre de cellules dont il est constitué, ρ la taille de ces cellules. On a, par définition :

$$P = N \times \rho \quad (1)$$

ou
$$P = k \text{ DNA} \times \rho \quad (2)$$

on peut écrire
$$\frac{dP}{P} = \frac{d(\text{DNA})}{\text{DNA}} + \frac{d\rho}{\rho} \quad (3)$$

Il est évidemment impossible de mesurer des variations du DNA et de \bar{p} pour des variations de poids dP arbitrairement petites ; aussi on ne peut utiliser la relation que sous la forme :

$$\frac{\Delta P}{P} = \frac{\Delta(\text{DNA})}{\text{DNA}} + \frac{\Delta \bar{p}}{\bar{p}} \quad (4)$$

Cette expression peut être traduite ainsi :

« La variation relative du poids d'un tissu (ou d'un ensemble de tissus) autour d'un poids donné est égale à la somme des variations relatives concomitantes du nombre et de la taille des cellules dont il est constitué. »

Calcul des éléments de la relation (4).

Soient P_1 , DNA_1 et \bar{p}_1 , les caractéristiques d'un tissu à un moment donné ; sous l'effet d'une variation de poids P , ces caractéristiques deviennent P_2 , DNA_2 , \bar{p}_2 .

TABLEAU 6

Carcasse

La variation relative du poids de la carcasse, somme des variations relatives concomitantes du nombre et de la taille des cellules dont elle est constituée

Périodes	I	1_h	II_h	III_h	IV_h	V_h	
Temps (semaines)...	3 à 4	4 à 5	5 à 7,5	7,5 à 10	10 à 17	17 à 40	
Poids moyen (g)....	46	73	129	210	305	405	
$\frac{\Delta P}{P} \times 10^2$	40	44	61	40	35	22	Régime H
$\frac{\Delta(\text{DNA})}{\text{DNA}} \times 10^2$...	32	32	34	18	17	-2	
$\frac{\Delta \bar{p}}{\bar{p}} \times 10^2$	17	11	29	23	18	24	

Périodes	I_g	II_g	III_g	IV_g	
Temps (semaines).....	4 à 7,5	7,5 à 10	10 à 17	17 à 40	
Poids moyen (g).....	74	113	160	294	
$\frac{\Delta P}{P} \times 10^2$	45	42	29	76	Régime G
$\frac{\Delta(\text{DNA})}{\text{DNA}} \times 10^2$	-2	28	19	40	
$\frac{\Delta \bar{p}}{\bar{p}} \times 10^2$	46	13	10	38	

Il vient alors :

$$\begin{aligned} \Delta P &= P_2 - P_1 & P &= \frac{P_2 + P_1}{2} \\ \Delta(\text{DNA}) &= \text{DNA}_2 - \text{DNA}_1 & \text{DNA} &= \frac{\text{DNA}_2 + \text{DNA}_1}{2} \\ \Delta p &= p_2 - p_1 & p &= \frac{p_2 + p_1}{2} \end{aligned}$$

Les calculs concernant respectivement les carcasses des rats H et G sont rassemblés dans le tableau 6. Les importances relatives de la division cellulaire (exprimées en p. 100 du gain de poids relatif), en fonction du poids de carcasse, sont représentées sur les figures 7 a et 7 b.

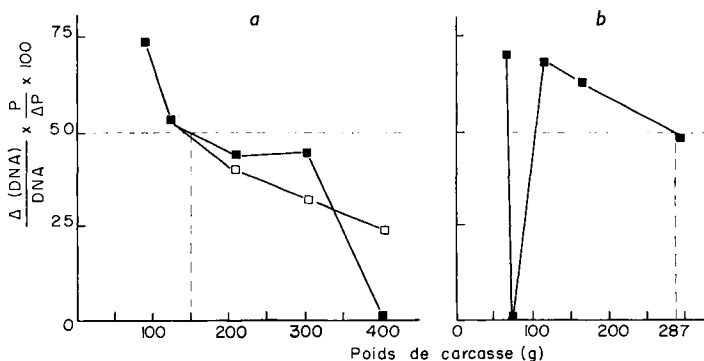


FIG. 7. — Carcasse. — Importance relative de la division cellulaire au cours de la croissance en fonction du poids de la carcasse

- a) rats « Farine de Hareng » ■ points observés □ points théoriques
- b) rats « Gluten »

Il apparaît clairement que : dans le cas H, l'augmentation du nombre de cellules est le facteur le plus important de la croissance jusqu'à ce que les carcasses pèsent 145 g (rats de 170 g, âgés de 7 semaines). Au-delà, le fait que l'influence de l'augmentation du nombre de cellules présente un palier suivi d'une chute brutale est dû à l'anomalie qui existe en ce qui concerne les quantités comparées de DNA contenues dans les carcasses des animaux H₄ et H₅. Il est probable que la réalité est proche de la courbe théorique obtenue à partir de l'équation dérivée de l'équation (1) qui fournit l'expression :

$$\frac{1}{\text{DNA}} \times \frac{d(\text{DNA})}{dP} = \frac{107,3}{P(0,74 P + 107,3)}$$

Cette courbe théorique indique que, dans le gain de poids résiduel d'animaux en fin de croissance, la multiplication cellulaire interviendrait encore pour environ 24 p. 100.

— dans le cas des animaux G, la période d'inhibition mise à part, l'augmentation du nombre de cellules est le facteur le plus important de la croissance jusqu'à ce que les carcasses des animaux pèsent 290 g environ (rats de 320 g, âgés de 20 semaines).

c) *L'âge et la taille des cellules.*

La taille des cellules de la carcasse semble assez indépendante du régime alimentaire, donc de la vitesse de croissance, et semblerait être une caractéristique liée à l'âge (fig. 8). On peut remarquer que, dans le cas le moins favorable qui est celui des lots H₄ et G₃ âgés l'un et l'autre de 17 semaines, la différence entre la taille des cellules n'est que de 9 p. 100 alors que le poids des carcasses varie du simple au double.

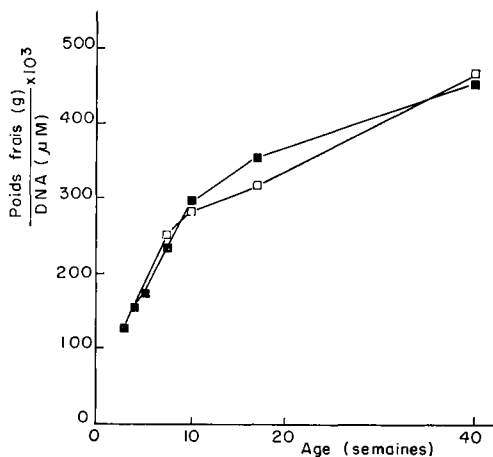


FIG. 8. — Carcasse. — Évolution de la taille des cellules (rapport Poids frais/DNA) en fonction de l'âge des animaux.

■ rats « Farine de Hareng » □ rats « Gluten »

d) *La teneur des carcasses en azote et la multiplication cellulaire.*

En limitant l'apport d'acides aminés indispensables, on limite la synthèse des protéines, donc la synthèse du DNA (DOUDNEY, 1961 ; PRITCHARD et LARK, 1964 ; LEGROS et BRACHET, 1965 ; TAYLOR, 1965), mais on constate que le ralentissement de la synthèse des protéines et celui du DNA ne sont pas proportionnels, puisque le rapport protéines/DNA G est plus grand que le rapport H correspondant. Faut-il en penser que d'autres facteurs secondaires à la carence en lysine et en tryptophane interviennent pour diminuer le nombre des mitoses, en particulier la modification du métabolisme énergétique (fig. 3 b) ? L'étude de PROP et HENDRIX (1965), à propos de l'action de l'insuline sur le taux mitotique, vient à l'appui de cette hypothèse.

Intestin grêle

Comme il a déjà été signalé, le poids frais de l'intestin grêle du lot G₄ est exceptionnellement faible. De même, la quantité de RNA par cellule des organes de ce lot n'est sans doute pas représentative.

L'épithélium de l'intestin grêle du rat est soumis à un renouvellement rapide, de l'ordre de quelques dizaines d'heures (LEBLOND et STEVENS, 1948). La vitesse de renouvellement de l'épithélium intestinal peut être modifiée par l'alimentation (HOOPER et BLAIR, 1958 ; MUNRO et GOLDBERG, 1963).

Il s'ensuit que le nombre de noyaux en phase S peut être également modifié par l'alimentation. S'il en était ainsi, la quantité moyenne de DNA par noyau pourrait ne pas être la même dans les deux cas, H et G ; notre méthode de comparaison risquerait d'être en défaut. En fait, il n'en est rien, en effet, la prolifération cellulaire de l'épithélium intestinal est limitée aux cryptes de LIEBERKÜHN (LEBLOND et STEVENS, 1948). Il a été montré, d'autre part, que 35 p. 100 des cellules de ces cryptes se trouvaient à chaque instant en phase S (CAIRNIE et al., 1965). On peut admettre que tout se passe comme si 17,5 p. 100 des cellules des cryptes étaient tétraploïdes. Or, les cellules des cryptes ne représentent qu'une faible partie, inférieure à 10 p. 100, du nombre des cellules totales de l'organe (VODOVAR, *communication personnelle*). En conséquence, le fait que la variation du régime alimentaire entraîne une variation de la vitesse de renouvellement de l'épithélium intestinal ne saurait avoir une influence appréciable sur la teneur moyenne en DNA par cellule.

Compte tenu de ces remarques, il apparaît que :

1° Le poids frais de l'intestin ne dépend que du poids de l'animal et il n'augmente plus que très lentement dès que celui-ci atteint 200 g.

2° La taille des cellules de l'organe est caractéristique du régime, sans que l'on puisse dire si la responsabilité en incombe aux seules protéines ou à l'ensemble du régime. En effet, COMBE et al. (1965) trouvaient, avec un régime contenant 20 p. 100 de caséine, un nombre et une taille de cellules très comparables à ce qui a été mis en évidence à propos des rats recevant du gluten de blé. Avec un tel régime, la qualité des protéines ne pouvait être mise en cause.

3° A partir du moment où les cellules ont atteint la taille caractéristique du régime, celle-ci demeure remarquablement stable. Par conséquent, la croissance est due exclusivement à l'augmentation du nombre de cellules.

Foie

Il est connu qu'une forte proportion des noyaux du foie sont polyploïdes ; de plus, le taux de polyploidie peut varier sous l'influence de facteurs intrinsèques et extrinsèques, en particulier l'âge (THOMSON et al., 1953 ; FUKUDA et SIBATANI, 1953 ; ENESCO et LEBLOND, 1962) et l'alimentation (KARANDE et INAMDAR, 1964). La mesure des variations des quantités de DNA ne permet donc plus de mesurer le nombre de cellules que de façon fort imprécise. Il est difficile de tirer des conclusions exactes sur l'incidence de l'augmentation du nombre des cellules et de leur grandissement sur la croissance de foies soumis à différentes conditions alimentaires. Il faudrait au préalable déterminer la quantité de DNA moyenne par noyau des différents lots étudiés. Certains auteurs (KARANDE et INAMDAR, 1964), qui ont étudié l'influence de l'alimentation sur la polyploidie du foie, ont trouvé qu'une alimentation protéique insuffisante soit en quantité, soit en qualité agissait en augmentant la proportion de noyaux diploïdes (au détriment des noyaux tétra- et octoploïdes), donc en diminuant la quantité moyenne de DNA par noyau. D'autres auteurs (UMANA, 1965) ont trouvé le contraire ; d'autres encore n'ont pas trouvé de modifications notables (THOMSON et al., 1953). Le problème reste posé.

Quoi qu'il en soit, il apparaît que :

1° Quel que soit le régime alimentaire, la croissance du foie dure aussi longtemps

que la croissance de l'animal, et elle est toujours due pour la plus grande part à l'augmentation du nombre des cellules.

2° A poids d'animal égal, le foie de l'animal qui reçoit les protéines de mauvaise qualité est plus petit (10 p. 100) et moins riche en protéines.

3° Comparés à poids égal, les foies G possèdent un nombre de cellules à peu près égal à celui des foies H, tant que le poids vif des animaux ne dépasse pas 200 g. Au-delà, il semble qu'ils en contiennent moins.

Reçu pour publication en mars 1966.

SUMMARY

GROWTH OF TISSUES IN THE RAT AND QUALITY OF PROTEIN IN THE DIET ; INFLUENCE ON NUMBER AND SIZE OF CELLS

Groups of male rats aged 4 to 40 weeks were given, from 4 weeks of age (70 g) a diet supplying protein of good quality, Norwegian herringmeal, or one supplying protein of poor quality, wheat gluten. The two diets were equal in energy value, and both had 16 p. 100 crude protein ($N \times 6,25$). The rats given herringmeal (Diet H) grew normally, 5,5 g daily ; those getting wheat gluten (diet G), deficient in lysine and tryptophan had reduced rate of gain, 1,5 g daily.

Growth of the carcass (body of the animal less liver and small and large intestines), of small intestine and of liver were studied by measuring variations in :

— Deoxyribonucleic acid (DNA) content, the amount of which is proportional to the number of nuclei, or by extension, the number of « cells » ;

— The ratio of weight to DNA proportional to the weight and thus to the « size of cells »

— Some aspects of cellular activity, expressed by changes in ratios of ribonucleic acid (RNA) and of protein to DNA.

From analysis of results the following points emerge :

a) *Carcass.* — *Normal animals* : from the age of 4 weeks the number of cells of the carcass may be considered as a hyperbolic function of its weight. The increase in the number of cells is the greatest factor of growth until the carcass weighs 145 g (rats weighing 170 g, aged 7 weeks, the time of puberty). Thereafter the increase in size of cells becomes the more important factor. The amount of RNA per cell is greatest when the animals weigh between 100 and 200 g, aged 5 to 7 weeks. — *Deprived animals* : during the 2 or 3 weeks after starting on diet G, increase in the number of cells is inhibited. After that, the number increases once again as a function of weight of the carcass, following a hyperbola different from the preceding one ; the setback during the period of inhibition does not seem to be able to be completely overcome. Except during the period of inhibition, increase in the number of cells is the most important factor of growth until the carcasses of the animals weight about 290 g (rats of 320 g, aged 20 weeks). The amount of RNA per cell remains always close to the value in animals aged 4 weeks. The size of the cell is independent of the diet and seems to be a characteristic related to age.

b) *Small intestine.* — The growth of the organ does not depend on the diet but only on weight of the animal, and becomes very small when the animal reaches 200 g. Size of cells is characteristic of the diet and is greater on diet G (12 per cent). As soon as this characteristic size is reached, growth of the organ is due exclusively to increase in the number of cells. The amount of RNA per cell is less when the animals are deprived.

c) *Liver.* — At equal bodyweight the liver of the deprived animal is smaller (10 per cent), and contains less protein than the liver of the normal animal. The liver of the deprived animal has fewer cells than a liver of the same weight from a normal animal, but whatever the diet, growth of the organ goes on as long as the animal is growing, and is always due for the most part to increase in the number of cells. The amount of RNA per cell is at a maximum at 7 weeks of age in normal animals ; in deprived animals it remains close to the value found in animals 4 weeks old.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDREW A., 1960. Growth and the aging process in : *Fundamental aspects of normal and malignant growth*. Ed. W. W. Nowinsky, 952-972, Elsevier publishing company.
- BOIVIN A., VENDRELY R., VENDRELY C., 1948. L'acide désoxyribonucléique du noyau cellulaire dépendant des caractères héréditaires ; arguments d'ordre analytique. *C. R. Acad. Sci.*, **226**, 1061-1062.
- CAIRNIE A. B., LAMERTON L. F., STEEL G. G., 1965. Cell proliferation studies in the epithelium of the rat. *Exp. Cell Res.*, **39**, 528-538.
- COMBE E., PENOT E., CHARLIER H., SACQUET E., 1965. Métabolisme du rat germ-free. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **5**, 189-206.
- DOUDNEY C. O., 1961. Recovery of nucleic acid synthesis in bacteria after amino-acid starvation. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **5**, 405-409.
- DURAND G. A., FAUCONNEAU G., PENOT E., 1965 a. Étude biochimique de la croissance de l'intestin grêle, du foie et de la carcasse du rat ; rôles respectifs de la multiplication et du grandissement cellulaires. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **5**, 163-187.
- DURAND G. A., FAUCONNEAU G., PENOT E., 1965 b. Influence de l'âge et du régime alimentaire sur la teneur en acides nucléiques et en protéines de la carcasse du Rat blanc en croissance. *C. R. Acad. Sci.*, **260**, 7002-7005.
- ENESCO M., LEBLOND C. P., 1962. Increase in cell number as a factor in the growth of the organs and tissues of the young male rat. *J. Embryol. Exp. Morph.*, **10**, Part. 4, 530-562.
- FUKUDA M., SIBATANI A., 1953. Relation between the body weight and the average DNA content of liver nuclei in postnatal growth of the rat. *Exp. Cell Res.*, **4**, 237-238.
- HENRY Y., RÉRAT A., 1963. Étude de l'ingestion spontanée d'éléments énergétiques et de protéines chez le rat en croissance par la méthode du libre choix. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **3**, 103-117.
- HOOPER C. S., BLAIR M., 1958. The effect of starvation on epithelial renewal in the rat duodenum. *Exp. Cell Res.*, **14**, 175-181.
- KARANDE A. A., INAMDAR N. B., 1961. Observations on liver polyploidie of rat under different dietetic states. *Indian J. Exp. Biol.*, **2**, 138-142.
- LEBLOND C. P., STEVENS C. E., 1948. The constant renewal of the intestinal epithelium on the albino rat. *Anat. Rec.*, **100**, 357-378.
- LEGROS F., BRACHET J., 1965. Effets de la puromycine sur la mitose, la synthèse des protéines et celle du DNA au cours de la segmentation de l'œuf de Batracien. *J. Embryol. Exp. Morph.*, **13**, Part. 2, 195-206.
- MITCHELL H. H., 1947. Protein utilization by the adult rat : the lysine requirement. *Arch. Biochem.*, **12**, 293-300.
- MUNRO H. N., GOLDBERG D. M., 1964. The effect of protein intake on the protein and nucleic acid metabolism of the intestinal mucosal cell. In : *The role of the gastrointestinal tract in protein metabolism*. Ed. MUNRO H. N. Colloquium of the Council for International Organization of Med. Sci. Blackwell, Oxford.
- PRITCHARD R. H., LARK K. G., 1964. Induction of replication by thymine starvation at the chromosome origin in *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.*, **9**, 288-307.
- PROP F. J., HENDRIX S. E., 1965. Effect of insulin on mitotic rate in organ cultures of total mammary glands of the mouse. *Exp. Cell Res.*, **40**, 277-281.
- RANHOTRA G. S., JOHNSON B. C., 1965. Effect of feeding different amino acid diets on growth rate and nitrogen retention of weanling rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **118**, 1197-1201.
- ROGERS Q. R., HARPER A. E., 1965. Amino acid diets and maximal growth in the rat. *J. Nutr.*, **87**, 267-273.
- TAYLOR F. W., 1965. Control of DNA synthesis in mammalian cells in culture. *Exp. Cell Res.*, **40**, 316-332.
- THOMSON R. Y., NEAGY F. C., HUTCHINSON W. C., DAVIDSON J. N., 1953. DNA content of the rat cell nucleus and its use in expressing the results of tissue analysis ; with particular reference to the composition of liver tissue. *Biochem. J.*, **53**, 460-474.