

ÉTUDE DU MÉTABOLISME D'UN ŒSTROGÈNE PHÉNOLIQUE CHEZ LE BOUC ET LE MOUTON

I. — EFFETS DU SEXE ET DE LA VOIE D'INJECTION
SUR LA DISTRIBUTION TISSULAIRE D'UNE DOSE PHYSIOLOGIQUE D'HEXŒSTROL

R. F. GLASCOCK et R. W. SMITH

*Department of Radiobiochemistry,
National Institute for Research in Dairying,
Reading University, England*

SOMMAIRE

La distribution de la radioactivité est étudiée chez le Bouc à des temps variables après injection intraveineuse d'hexœstrol-³H à la dose de 1 µg/kg.

Dans la plupart des tissus la concentration maximum s'observe 20 minutes après l'injection. La plus forte capacité de fixation de l'œstrogène s'observe dans les poumons, dans les glandes endocrines et dans les organes sexuels. La concentration maximum dans ces derniers, à l'exception possible de la prostate, est plus faible que celle observée dans les organes sexuels des ruminants femelles injectés par voie sous-cutanée.

La concentration maximum dans les poumons s'observe 1 heure après l'injection et elle est environ 20 fois plus élevée que dans les organes sexuels. Par des expériences supplémentaires effectuées sur des béliers injectés par voie sous-cutanée et sur des brebis injectées par voie intraveineuse, il est démontré que la forte concentration dans les poumons ne s'observe qu'après injection intraveineuse et qu'elle est indépendante du sexe de l'animal.

INTRODUCTION

La concentration sélective d'un œstrogène dans les organes où il provoque une réaction physiologique (les soi-disant « tissus-cibles ») a été démontrée pour la première fois dans ce laboratoire en 1957 (GLASCOCK et HOEKSTRA, 1959). Cinq heures après l'injection sous-cutanée d'hexœstrol tritié en solution huileuse, la concentration de la radioactivité dans le tractus génital et la glande mammaire est 20 à 40 fois

plus élevée que dans les muscles. Depuis ce travail, ces études ont été étendues à d'autres œstrogènes et à d'autres espèces par de nombreux chercheurs qui ont confirmé nos résultats (JENSEN et JACOBSON, 1960 ; ALBERGA et BAULIEU, 1965 ; TERENTIUS, 1965).

Il est bien connu que les œstrogènes exercent de nombreux effets chez le mâle, entre autres celui de provoquer une hypertrophie des organes sexuels secondaires et, à un moindre degré, de l'hypophyse (voir revue d'EMMENS et PARKES, 1947). Administrés à la mère gestante ils produisent d'importantes malformations mammaires chez le fœtus, aussi bien mâle que femelle (DELOST, JEAN et JEAN, 1962). Chez quelques espèces ils ont un effet catabolique mais chez le Ruminant ils ont un effet anabolique qui se traduit par une augmentation du taux de croissance (ANDREWS, BEESON et JOHNSON, 1950, 1954 ; ANDREWS et BEESON, 1953). Ceci est mis à profit pour la production de viande et les quelques études du métabolisme des œstrogènes chez le mâle ne se rapportent qu'au danger éventuel que comporterait pour le consommateur des traces d'œstrogène restant dans les parties comestibles des animaux ainsi traités (WIBERG et STEPHENSON, 1957 ; GLASCOCK et HOEKSTRA, 1958 ; MITCHELL, NEUMANN et DRAPER, 1959).

L'objet primitif du présent travail était d'étudier chez le ruminant mâle, comme on l'avait déjà fait chez la femelle, la distribution dans les tissus d'une seule dose physiologique d'hexœstrol marqué. Dans les expériences précédentes sur la femelle nous avons observé que les courbes de concentration de l'hexœstrol sanguin en fonction du temps étaient différentes dans les deux espèces étudiées, caprine et ovine. Il nous a semblé probable que cette différence était due à des facteurs incontrôlables tels que la vascularisation et la perméabilité des tissus sous-cutanés. Par contre, après injection intraveineuse la radioactivité retrouvée dans les tissus ne devrait dépendre que de leur capacité de fixation. Dans les premières expériences du présent travail nous avons donc utilisé cette voie d'injection pour essayer ainsi d'obtenir des résultats plus uniformes que dans les expériences sur la femelle. Certains résultats inattendus obtenus au cours du travail nous ont pourtant incités à mesurer la concentration de la radioactivité dans une gamme de tissus limitée, chez le mâle après injection sous-cutanée et chez la femelle après injection intraveineuse d'hexœstrol tritié.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Hexœstrol-³H

L'hexœstrol tritié de radioactivité spécifique élevée est préparé selon la méthode de GLASCOCK et POPE (1960) modifiée. Cette modification consiste en la substitution du diacétate de dienœstrol au phénol libre. La tritiation de ce composé donne un mélange des diacétates des deux isomères d'hexœstrol (*meso* et *iso*) qui se détériore moins rapidement que les phénols marqués libres. La radioactivité spécifique de l'hexœstrol utilisé dans ces expériences a été de 150 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$.

Le jour même de l'expérience une partie aliquote d'une solution de ce produit dans le benzène est évaporée à sec, le résidu est hydrolysé et les isomères sont séparés par chromatographie sur papier selon les indications de GLASCOCK et POPE (1960). La tache correspondant à l'isomère physiologiquement actif (le *meso*-hexœstrol) est localisée à l'aide d'un autoradiogramme et extraite au méthanol. L'œstrogène tritié est ensuite mis en solution dans du NaCl isotonique ou dans de l'huile d'arachide aux concentrations de 10 et de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ respectivement, et il est administré aux animaux dans un délai de moins de 10 mn.

Les animaux

Tous les animaux étaient âgés de 3 à 9 mois. Les boucs étaient des mâles intacts de l'élevage de l'Institut et les ovins ont été fournis par la ferme expérimentale de l'Université de Reading.

Chaque animal reçoit, soit par injection intraveineuse, soit par injection sous-cutanée dans la nuque, une dose de 1 µg/kg de poids vif. Au moment voulu on saigne les animaux par section des carotides sous anesthésie au Nembutal et on prélève les organes immédiatement après.

Préparation des échantillons

Chaque organe est haché à l'aide d'un hachoir domestique, ou coupé en petits morceaux selon le cas, et le hachis est bien mélangé. Un échantillon de 5 g, ou tout le hachis s'il y en a moins, est pesé et traité pendant 4 minutes à 100 °C par NaOH 1,0 N à raison de 0,5 ml/g pour amollir le tissu conjonctif. Environ 1 mg d'hexœstrol non-marqué est ajouté comme entraîneur pour empêcher la perte par évaporation des quantités très faibles d'hexœstrol radioactif pendant la lyophilisation. Le mélange est homogénéisé à chaud, neutralisé par l'H₂SO₄ et lyophilisé. Il en résulte une poudre fine qui contient toute la radioactivité du tissu frais. Ces échantillons sont conservés dans un dessiccateur.

Mesure de la radioactivité

On brûle 50 mg de poudre lyophilisée dans un courant d'oxygène à l'aide d'un appareil analogue à celui décrit précédemment par GLASCOCK (1952). L'eau de combustion est recueillie dans un tube en U plongé dans de la carboglace et transférée ensuite sous vide dans un tube contenant 0,75 ml d'éthanol. On ajoute à cette solution 10 ml d'une solution scintillante de la composition suivante : 2,5 diphényloxazole 4 g/l, 1,4-bis-(5-phényloxazol-2-yl) benzène, 0,3 g/l, dans le toluène. Dix ml de ce mélange sont comptés dans un spectromètre à scintillation liquide (Tri-Carb, modèle 3314, Packard). Le rendement pour le tritium dans chaque échantillon est mesuré par l'emploi d'un étalon interne et la radioactivité spécifique des échantillons est calculée après avoir effectué une correction pour leur teneur en Na₂SO₄ introduit au cours de leur préparation. Les résultats sont exprimés en mµg d'hexœstrol par g de tissu sec calculés à partir de la radioactivité spécifique de l'hexœstrol administré.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Mâles injectés par voie intraveineuse

Le tableau 1 montre les concentrations de radioactivité dans de nombreux tissus de boucs à des temps variables après injection de l'hexœstrol tritié en solution isotonique. Le tableau donne aussi la teneur en sang de quelques-uns de ces organes mesurée à l'aide de globules rouges marqués au ⁵¹Cr dans une expérience différente de celle rapportée ici. Ces chiffres et la teneur en hexœstrol du sang, donnée aussi par le tableau 1, permettent de constater que la quantité d'hexœstrol contenue dans le sang qui reste dans les tissus après dissection, est négligeable par rapport à la concentration totale dans les tissus. Aucune correction n'a donc été effectuée à cet égard.

Le tableau 1 montre que la concentration maximum en œstrogène est atteinte dans la plupart des tissus 20 minutes après l'injection, alors que chez la femelle injectée par voie sous-cutanée la concentration maximum se produit 5 heures après l'injection (GLASCOCK et HOEKSTRA, 1959). Le tableau montre aussi que la capacité de fixation des muscles est très faible. Comme le muscle n'a jamais été considéré comme tissu-cible des œstrogènes on peut l'utiliser comme tissu étalon.

Les concentrations maxima dans l'hypophyse, la thyroïde et les surrénales atteignent environ les mêmes valeurs que chez les brebis injectées par voie sous-cutanée. Il est à noter que les concentrations dans les deux lobes de l'hypophyse sont maxima 20 minutes après l'injection et que la concentration dans le lobe antérieur est toujours entre 2 et 4 fois plus élevée que dans le lobe postérieur.

TABLEAU I

Concentrations de radioactivité (exprimées en $\mu\mu\text{g}$ d'hexœstrol/g de tissu sec) dans divers tissus de bouc à des temps variables après injection intraveineuse d'hexœstrol- ^3H en solution isotonique à la dose de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids vif

Tissu	Sang (%)	Animal					
		GG	GH	GD	GE	GC	
		Intervalle entre l'injection et l'abattage					
		20 mn	40 mn	1 h	2 h	5 h	
Testicules.....	0,86	1,92	0,506	0,463	0,24	0,13	
Canal déférent.....	1,87	1,28	0,32	0,41	0,17	0,14	
Épididyme {	corps.....	3,0	1,28	0,48	0,39	0,20	0,09
		14,8	1,65	0,77	—	—	—
{	queue.....	—	1,24	0,44	—	—	—
Vésicules séminales.....	1,10	1,22	0,51	0,34	0,15	0,05	
Glandes bulbo-urétrales.....	4,1	1,12	0,34	0,29	0,10	0,04	
Pénis.....	1,8	0,66	0,30	0,22	0,09	0,06	
Glandes mammaires.....	—	1,04	0,73	0,28	0,19	0,11	
Glandes salivaires.....	—	0,99	0,32	0,34	0,21	0,09	
Hypophyse {	lobe antérieur.....	3,3	2,60	1,31	0,70	0,41	0,29
		—	0,75	0,20	0,33	0,23	0,12
Surrénales.....	3,4	1,78	0,73	0,97	0,68	0,21	
Thyroïde.....	4,1	1,37	0,46	0,34	0,32	0,10	
Poumons.....	16,9	4,68	3,38	38,00	18,30	3,10	
Pancréas.....	—	1,47	1,79	0,44	0,26	0,11	
Rate.....	—	0,98	0,61	0,85	0,93	—	
Foie.....	5,8	8,27	2,92	5,60	1,95	0,87	
Intestin grêle.....	—	22,70	3,32	7,05	2,07	0,64	
Reins.....	—	6,94	1,58	2,00	0,95	0,90	
Tissu adipeux.....	—	0,37	0,20	0,09	0,08	0,06	
Cerveau {	encéphale.....	1,07	0,30	0,19	0,06	0,09	0,02
		—	0,42	0,22	0,12	0,07	0,00
Moelle osseuse.....	—	0,34	0,17	0,10	0,07	0,04	
Os (fémur).....	—	0,04	0,21	0,01	0,02	0,01	
Muscle squelettique.....	0,77	0,42	0,12	0,15	0,08	0,03	
Muscle cardiaque.....	5,2	1,00	0,29	0,36	0,19	0,05	
Peau.....	—	0,37	0,22	0,18	0,10	0,08	
Sang (à l'abattage).....	100,00	5,44	3,01	1,86	0,72	1,43	

Les concentrations maxima dans les organes sexuels sont voisines de celles trouvées dans les glandes endocrines. Elles sont cependant bien plus faibles que celles observées chez la femelle après injection sous-cutanée. Ainsi la concentration maximum dans l'utérus était de 21,1 $\mu\mu\text{g}/\text{g}$, c'est-à-dire 42 fois plus élevée que dans le

muscle, alors que dans le présent travail la concentration maximum dans les testicules n'est que de 1,9 $\mu\text{g/g}$, soit environ 5 fois celle trouvée dans le muscle. De plus, la glande mammaire mâle, connue pour sa réactivité aux œstrogènes, a une capacité de fixation plus faible que la glande mammaire femelle.

Les concentrations sont plus élevées dans le foie, l'intestin et les reins que dans la plupart des autres organes bien que les valeurs maxima soient assez différentes de celles observées chez la femelle après injection sous-cutanée (tabl. 2). Nous avons

TABLEAU 2

Concentrations de la radioactivité (exprimées en μg d'hexœstrol/g de tissu sec) en divers tissus de mouton 5 heures après injection sous-cutanée d'hexœstrol- ^3H en solution huileuse à la dose de 1 $\mu\text{g/kg}$ de poids vif

(Valeurs pour la femelle d'après GLASCOCK et HOEKSTRA, 1959)

Tissu	Animal		
	SG (Mâle)	SH (Mâle)	2 (Femelle)
Testicules	1,32	1,14	
Canal déférent.....	1,75	1,17	
Épididyme (entier).....	1,00	0,56	
Vésicules séminales	3,06	2,26	
Glandes bulbo-urétrales.....	1,03	2,11	
Pénis	1,28	0,43	
Prostate	3,90	11,50	
Utérus.....	—	—	21,1
Vagin	—	—	12,3
Ovaires	—	—	14,1
Glandes mammaires.....	—	—	9,1
Surrénales.....	1,53	2,23	1,9
Poumons.....	1,50	1,37	3,2
Pancréas	0,93	1,01	0,9
Foie	—	—	5,2
Intestin grêle.....	—	—	7,3
Reins.....	—	—	21,8
Muscle squelettique.....	0,28	0,41	0,5
Peau	—	—	21,8
Sang (à l'abattage).....	—	—	8,7

attribué ces hautes concentrations au fait que ces organes sont impliqués dans l'excrétion de cet œstrogène et cette explication pourrait être également valable pour le mâle.

Dans les glandes salivaires on retrouve une concentration 2 fois plus élevée que dans le muscle. Ce résultat est en accord avec une observation analogue faite chez la Souris avec le stilboestrol par BENGTSOON et ULLBERG (1963) ainsi qu'avec celle de GREEN (1954) qui a signalé une sécrétion d'œstrogènes dans la salive humaine.

La concentration dans les poumons est la plus frappante. Une heure après l'injection elle atteint une valeur maximum de 38 $\mu\text{g/g}$, 250 fois supérieure à celle des muscles et plus de 10 fois supérieure à celle déterminée précédemment dans les poumons des femelles injectées par voie sous-cutanée.

Pour préciser si les différences de concentration observées dans les tissus du mâle par rapport à ceux de la femelle, surtout en ce qui concerne les poumons, découlent du sexe de l'animal ou de la voie d'injection, nous avons effectué deux autres séries d'expériences dont les résultats figurent sur les tableaux 2 et 3.

TABLEAU 3

Concentrations de la radioactivité (exprimées en μug d'hexœstrol/g de tissu sec) dans les tissus de brebis 1 heure après injection intraveineuse d'hexœstrol- ^3H à la dose de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids vif

A cause de la forte concentration dans le sang les valeurs dans ce tableau ont été corrigées pour la quantité d'hexœstrol dans le sang résiduel (tabl. 1). La teneur en sang de l'utérus a été prise égale à celle de l'utérus de Chatte (GLASCOCK et MICHAEL, résultats non publiés), et celle des ovaires a été prise égale à celle des surrénales.

Tissu	Animal		
	Sang (%)	8	25
Utérus	3,1	9,76	11,6
Ovaires	3,4	4,28	4,09
Poumons.....	16,9	10,7	9,8
Muscle	0,77	0,86	0,60
Sang (à l'abattage)	100	10,9	7,6

Mâles injectés par voie sous-cutanée

Le tableau 2 montre les concentrations de radioactivité retrouvées dans divers organes de béliers 5 heures après l'injection sous-cutanée d'hexœstrol marqué en solution huileuse. Dans le tableau nous citons à titre de comparaison les valeurs obtenues précédemment chez la femelle dans une expérience analogue.

On constate tout d'abord que les concentrations dans tous les organes sont voisines de celles observées 20 minutes après injection intraveineuse (tabl. 1). Le tableau 2 montre aussi que, dans la mesure où nous avons fait l'analyse des organes communs aux deux sexes, on n'observe pas de différence de concentration attribuable au sexe.

À un tissu près, ces résultats sont en accord avec ceux de ULLBERG et BENGTESSON (1963) qui ont observé chez la Souris une distribution analogue dans les tissus des deux sexes après injection sous-cutanée d'œstrogènes naturels. Seules, les concentrations dans les glandes surrénales étaient différentes, étant plus élevées chez le mâle que chez la femelle. Le présent travail montre que cette différence due au sexe de l'animal ne s'observe pas chez le Ruminant.

Comme dans le cas des animaux recevant l'œstrogène par voie intraveineuse (tabl. 1) les concentrations retrouvées dans les organes sexuels sont bien plus faibles chez le mâle que chez la femelle bien que jusqu'à 10 fois plus élevées que dans le muscle. Il est aussi à noter que la concentration dans la prostate, qui n'a pas été disséquée dans le cas d'injections intraveineuses (tabl. 1) est bien supérieure à celle obser-

vée dans tous les autres tissus. Chez le Bélien la prostate n'est qu'une bande de tissu mal défini et difficile à séparer avec précision de la paroi dorsale de l'urètre. Il est donc fort possible que nos échantillons soient contaminés par du tissu non-prostatique, ce qui pourrait expliquer le désaccord entre les deux résultats. Il n'en reste pas moins que la prostate de l'animal SH possède une capacité de fixation de l'œstrogène du même ordre que celle de l'utérus.

Chez la femelle la concentration maximum se produit dans la plupart des tissus 5 heures après injection sous-cutanée (GLASCOCK et HOEKSTRA, 1958) et il est très probable qu'il en est de même pour le mâle. Pourtant, la concentration à ce moment dans les poumons des mâles recevant l'œstrogène par cette voie est 20 fois moindre que la concentration maximum observée chez les animaux recevant une injection intraveineuse (tabl. I). Il apparaît donc que la concentration exceptionnellement élevée dans les poumons ne tient pas au sexe de l'animal mais à la voie d'injection.

Femelles injectées par voie intraveineuse

Le tableau 3 montre les concentrations retrouvées dans une gamme limitée de tissus de brebis 1 heure après injection intraveineuse de l'œstrogène en solution isotonique. On constate que les concentrations de l'hexœstrol dans le sang de ces deux animaux au moment de l'abattage sont jusqu'à 6 fois supérieures à celles des boucs après traitement analogue, ce qui est probablement dû à une différence de vitesse d'excrétion dans les deux espèces. En effet la concentration de l'hexœstrol sanguin dans ces expériences est assez élevée pour nous avoir obligés à corriger les concentrations observées dans les différents tissus pour tenir compte de l'hexœstrol présent dans le sang résiduel.

Le tableau montre que la concentration dans l'utérus est environ 2 fois plus élevée que dans les ovaires comme on le trouve après injection sous-cutanée. Cependant, les concentrations elles-mêmes sont moindres non seulement en valeurs absolues mais aussi par rapport à celles observées dans les muscles. Les concentrations dans les poumons, moins élevées que chez le mâle après injection par la même voie, sont cependant 3 fois plus élevées que celles observées chez la femelle injectée par voie sous-cutanée.

Cette constatation confirme que la présence de concentrations élevées d'hexœstrol tritié dans les poumons n'est pas liée au sexe. Elle résulte, tant chez la femelle que chez le mâle, de l'usage de la voie intraveineuse pour l'injection. Il est à ce propos intéressant de rappeler que BENGTTSSON (1963) a observé une forte concentration de radioactivité dans les poumons et dans le système réticulo-endothélial en général après injection sous-cutanée à la Souris d'un polymère de stilbœstrol marqué. Cependant la même constatation n'a pas été faite après l'administration d'œstrogènes naturels ou du monomère du stilbœstrol lui-même. Il semble donc fort probable que, chez la Souris comme chez le Ruminant, la voie intraveineuse soit responsable de la présence de fortes concentrations de radioactivité dans les poumons.

DISCUSSION GÉNÉRALE

On ne peut que conjecturer sur le mécanisme par lequel se produisent les fortes concentrations de radioactivité dans les poumons. Nous savons depuis les travaux de GLASCOCK et SMITH (1965) que, 10 secondes après injection d'une faible dose d'hexœstrol dans une des veines jugulaires, un pic de radioactivité apparaît dans l'autre jugulaire. On peut donc penser que le pic dans les poumons est d'autant plus élevé que le trajet parcouru par le corps marqué est moindre. Les poumons sont les premiers organes dont les capillaires se trouvent en présence de cette forte concentration passagère et il est possible qu'un taux de fixation anormalement élevé mais non spécifique en résulte.

BAULIEU, ALBERGA et JUNG (1967) ont démontré d'une part l'existence dans l'endomètre de la Truie de protéines cytoplasmiques qui se lient spécifiquement aux œstrogènes et, d'autre part, l'absence d'un système analogue dans le tissu pulmonaire. La concentration élevée observée uniquement après injection intraveineuse semble donc découler de la circonstance plus ou moins fortuite du lieu d'injection. En ce qui concerne les poumons, une injection jugulaire équivaut à une injection artérielle, et si l'on effectuait l'injection dans une artère desservant un autre organe, il est probable qu'une concentration analogue s'y produirait.

En conclusion on peut dire que les organes sexuels mâles ont une capacité de fixation d'œstrogène plus élevée que celle du muscle mais, pour la plupart, plus faible que celle des organes sexuels femelles. A l'exception de son effet sur les poumons, la voie d'injection (intraveineuse ou sous-cutanée) influence plus le temps d'apparition de la concentration maximum dans les tissus que les valeurs des concentrations elles-mêmes.

Le présent travail ne jette aucune lumière sur la question de la forme chimique de la radioactivité retrouvée dans les tissus ni sur le mécanisme de son accumulation. Il est vrai que nous avons utilisé l'hexœstrol comme entraîneur ce qui implique que la radioactivité se trouve sous cette forme dans les tissus. On sait depuis les travaux de TERENIUS (1966) que chez la Souris la majeure partie de la radioactivité récupérée des tissus cibles après l'administration de l'hexœstrol tritié est sous forme d'hexœstrol libre. Chez la Brebis, une constatation analogue a été faite dans ce laboratoire (GLASCOCK et SMITH, résultats non publiés). Ces faits justifient dans une large mesure l'emploi de l'hexœstrol comme entraîneur.

Quant au mécanisme de l'accumulation d'œstrogènes dans les tissus, BAULIEU, ALBERGA et JUNG, (1967) ont démontré que les protéines cytoplasmiques qui lient les œstrogènes n'ont aucune affinité spécifique pour d'autres stéroïdes y compris la testostérone. Étant donné les effets physiologiques qu'exercent les œstrogènes chez le mâle, il n'est pas étonnant qu'une haute concentration se produise dans le tractus génital. Cependant l'existence des protéines dans les tissus mâles capables de lier spécifiquement les œstrogènes semble peu probable ; le mécanisme de cette capture mérite d'être étudié. Cet aspect du problème est en effet à l'étude et dans un article suivant nous examinerons de plus près la nature chimique de la radioactivité retrouvée dans les différents tissus.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Melle BOSHER pour sa collaboration technique et M. BONE, bibliothécaire de cet Institut, pour avoir aimablement vérifié le texte et la bibliographie de cet article.

SUMMARY

A STUDY OF THE METABOLISM OF A PHENOLIC ŒSTROGEN IN THE RUMINANT
I. — EFFECT OF SEX AND ROUTE OF INJECTION ON THE DISTRIBUTION IN TISSUES
OF A PHYSIOLOGICAL DOSE OF HEXŒSTROL

The distribution of radioactivity was studied in the male goat at various times after the intravenous injection of ^3H -hexoestrol at a dose of $1 \mu\text{g}/\text{kg}$. In most of the tissues the maximum concentration occurred in the animal killed 20 minutes after the injection. The highest concentration of oestrogen occurred in the lungs and in the endocrine and reproductive organs. The maximum concentration in the latter, with the possible exception of the prostate, was lower than in the reproductive organs of female ruminants injected subcutaneously.

Maximum concentration in the lungs occurred 1 hour after the injection, when it was about 20 times as high as in the reproductive organs. Supplementary experiments on males injected subcutaneously and on females injected intravenously showed that the high concentration in the lungs occurred only after intravenous injection and was independent of the sex of the animal.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALBERGA A., BAULIEU E. E., 1965. Concentration élective de l'œstradiol dans l'endomètre chez la Ratte. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **261**, 5226-5228.
- ANDREWS F. N., BEESON W. M., 1953. The effect of various methods of estrogen administration on the growth and fattening of wether lambs. *J. Anim. Sci.*, **12**, 182-187.
- ANDREWS F. N., BEESON W. M., JOHNSON F. D., 1950. The effect of hormones on the growth and fattening of yearling steers. *J. Anim. Sci.*, **9**, 677.
- ANDREWS F. N., BEESON W. M., JOHNSON F. D., 1954. The effects of stilbestrol, dienestrol, testosterone and progesterone on the growth and fattening of beef steers. *J. Anim. Sci.*, **13**, 99-107.
- BAULIEU E. E., ALBERGA A., JUNG I., 1967. Récepteurs hormonaux. Liaison spécifique de l'œstradiol à des protéines utérines. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **265**D, 354-357.
- BENGTSSON G., 1963. Autoradiographic distribution studies of injected ^{32}P -labelled polydiethylstilboestrol phosphate. *Acta endocr.*, Copenh., **43**, 581-586.
- BENGTSSON G., ULLBERG S., 1963. The autoradiographic distribution pattern after administration of diethylstilbestrol compared with that of natural oestrogens. *Acta endocr.*, Copenh., **43**, 561-570.
- DELOST P., JEAN Ch., JEAN C., 1962. Production expérimentale de malformations mammaires chez le fœtus de Rat par injection d'œstradiol à la mère au 14^e jour de la gestation. *C. R. Soc. Biol.*, **156**, 2048-2052.
- EMMENS C. W., PARKES A. S., 1947. Effect of exogenous estrogens on the male mammal. *Vitamins Horm.*, **5**, 233-272.
- GLASCOCK R. F., 1952. A combustion technique for the assay of tritium, ^{13}C and ^{14}C in a single 10 mg. sample of biological material. *Biochem. J.*, **52**, 699-704.
- GLASCOCK R. F., HOEKSTRA W. G., 1958. The metabolism of hexoestrol in ruminants. *Proc. IInd U. N. int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy*, **27**, 104-109.
- GLASCOCK R. F., HOEKSTRA W. G., 1959. Selective accumulation of tritium-labelled hexoestrol by the reproductive organs of immature female goats and sheep. *Biochem. J.*, **72**, 673-682.

- GLASCOCK R. F., POPE G. S., 1960. The preparation and purification of tritium-labelled hexoestrol of very high specific activity on the 5 mg. scale. *Biochem. J.*, **75**, 328-335.
- GLASCOCK R. F., SMITH R. W., 1965. Une comparaison de la distribution sanguine et de la vitesse de transport d'un œstrogène à ceux de trois autres constituants sanguins d'un ruminant dans les deux minutes suivant leur injection. *Meded. Landbouwhogeschool, Gent.*, **30**, 749-763.
- GREEN S., 1954. Biological demonstration of estrogenic substances excreted in human saliva. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **86**, 653-655.
- JENSEN E. V., JACOBSON H. I., 1960. Fate of steroid estrogens in target tissues. *Steroids and Cancer*, pp. 161-178, éd. G. Pincus et E. P. Vollmer, Academic Press, N. Y.
- MITCHELL G. E., NEUMANN A. L., DRAPER H. H., 1959. Metabolism of tritium-labeled diethylstilbestrol by steers. *J. Agric. Fd Chem.* **7**, 509-512.
- TERENIUS L., 1965. Uptake of radioactive oestradiol in some organs of immature mice. *Acta endocr., Copenh.*, **50**, 584-596.
- TERENIUS L., 1966. The uptake of radioactive isomers of a synthetic oestrogen in various organs of immature mice. *Acta endocr., Copenh.*, **53**, 84-92.
- ULLBERG S., BENGTSOON G., 1963. Autoradiographic distribution studies with natural oestrogens. *Acta endocr., Copenh.*, **43**, 75-86.
- WIBERG G. S., STEPHENSON N. R., 1957. The detection of estrogenic activity in tissues of steers which have been fed diethylstilbestrol. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **35**, 1107-1112.
-