

ACTION DES RAYONS U.V. SUR L'AFFINITÉ DU NOYAU CELLULAIRE POUR LE VERT DE MÉTHYLE

par

M. ERRERA

*Laboratoire de Morphologie animale, Faculté des Sciences
de l'Université libre de Bruxelles (Belgique)*

Le mécanisme de l'action des radiations sur les cellules est encore loin d'être clair. On remarque toutefois une grande similitude entre les effets des radiations ionisantes ou ultraviolettes (ralentissement ou blocage des mitoses, effets létaux, mutations), et il semble logique d'utiliser ces dernières dont l'action est plus spécifique pour étudier la nature des constituants lésés. Les spectres d'action U.V. des effets envisagés indiquent généralement que l'énergie est absorbée au niveau des constituants nucléoprotéiques⁴, ce qui ne peut être considéré comme une preuve de leur altération. En effet, leur rôle pourrait se limiter au transport de l'énergie comme c'est le cas pour la chlorophylle au cours de la photosynthèse ou pour certains photosensibilisateurs permettant la production des mêmes lésions cellulaires à l'aide de radiations qui ne sont pas habituellement absorbées^{5,8}. Nous avons donc entrepris d'étudier le complexe désoxyribonucléique du noyau cellulaire au cours de l'irradiation. Cette étude est possible depuis que KURNICK a démontré la spécificité du vert de méthyle pour l'acide désoxyribonucléique polymérisé⁶ et que l'on sait que les U.V. entraînent une diminution d'affinité de cet acide pour ce même colorant².

Une suspension cellulaire homogène est obtenue en dispersant des petits fragments de moelle osseuse (grenouille, souris) dans du Ringer isotonique contenant 0.02 g% de citrate de Na et dépourvu de Ca⁺⁺. On dispose 50 mm^l d'une telle suspension sur une lame de verre éclairée par une lampe mineralight émettant environ 90% de sa lumière à 253.7 m μ . A intervalles de temps déterminés,

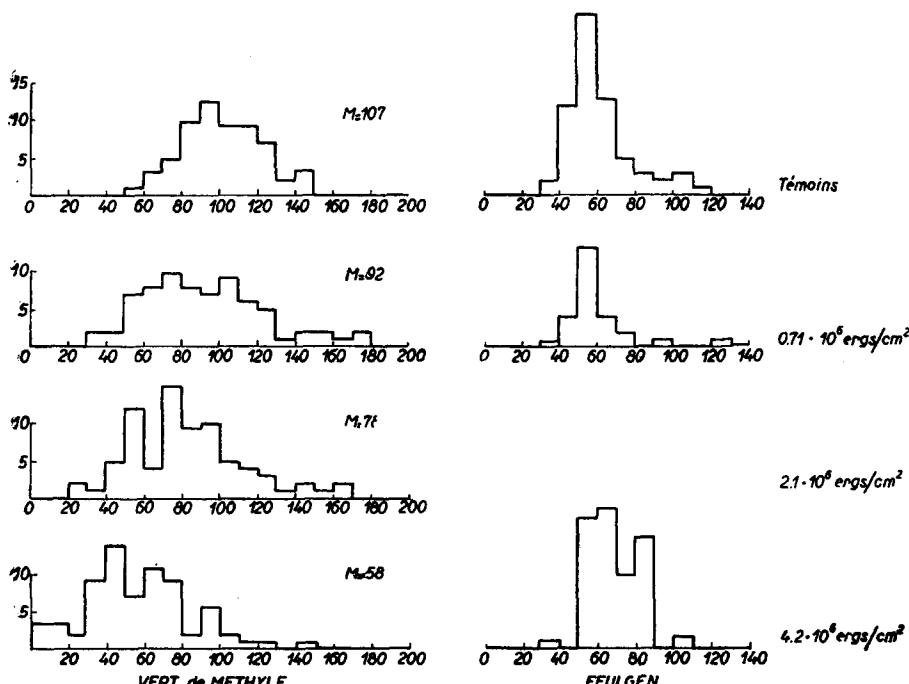


Fig. 1. Moelle osseuse de grenouille. Ordonnées: nombre de cellules étudiées. Abscisses: extinction du noyau coloré (unités arbitraires); M : valeur moyenne de l'extinction

on préleve environ 10 mm^l de la suspension : on dispose sur une même lame de microscope les frottis témoins et irradiés. Plusieurs lames sont préparées simultanément ; les frottis sont fixés par la méthode de KURNICK (10 minutes dans HCl 0.1 N), puis neutralisés (acétate de Na 0.2 M, pH 4.1). Un certain nombre d'entre eux sont colorés au Feulgen, d'autres au vert de méthyle⁶.

Il est possible ensuite, à l'aide d'un microspectrophotomètre inspiré de celui de LISON⁷, de déterminer la quantité relative de colorant fixé à chaque noyau en utilisant un filtre Ilford No. 608 (transmission maximum à 670 m μ) pour le vert de méthyle, et No. 605 (transmission maximum à 550 m μ) pour le Feulgen. On détermine d'abord la valeur de la densité optique de chaque noyau coloré, d'où est déduite la valeur de la densité optique moyenne d'une vingtaine de noyaux non colorés, dans le but de diminuer les erreurs dus à la réflexion ou à la diffusion de lumière. Connaissant ensuite le diamètre des noyaux il est possible de déterminer en unités arbitraires la quantité totale de colorant fixé à chacun d'eux⁶.

La Fig. 1 représente une expérience typique : on voit immédiatement que l'affinité des cellules irradiées pour le Feulgen n'est pas modifiée, alors qu'elle diminue de manière appréciable dans le cas du vert de méthyle. Les quantités moyennes de vert de méthyle fixées par rapport au témoin sont portées en ordonnées d'un graphique semi-logarithmique (Fig. 2) dont les abscisses représentent les énergies dépensées ; le phénomène est ainsi clairement mis en évidence.

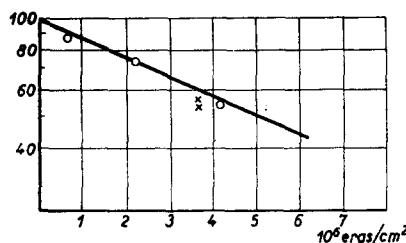


Fig. 2. Ordonnées: % des extinctions moyennes des noyaux colorés au vert de méthyle, par rapport aux témoins non irradiés

Abscisses: énergies U.V. en ergs/cm² (des mesures spectro-photométriques ont montré qu'environ 75% de l'énergie peut être absorbée par le liquide dans lequel baignent les cellules)

o moelle osseuse de grenouille x moelle osseuse de souris

Conclusions

L'affinité pour le vert de méthyle des noyaux des cellules de la moelle osseuse irradiées diminue, alors que la quantité totale d'acide désoxyribonucléique (Feulgen) n'est pas modifiée. Ceci peut signifier que la structure macromoléculaire de cet acide, ou l'état de ses groupements phosphoriques libres (responsables de l'affinité pour les colorants basiques) sont modifiés sous l'effet de l'irradiation. Si on s'arrête à la première éventualité, on peut imaginer une dégradation de l'acide désoxyribonucléique semblable à celle décrite *in vitro*⁸. On peut ensuite, connaissant la quantité d'acide désoxyribonucléique par noyaux (déterminé par KURNICK dans le foie de Souris⁶), et la densité optique du noyau (Fig. 1), comparer la quantité d'énergie nécessaire pour dégrader une même quantité d'acide désoxyribonucléique *in vivo* et *in vitro*; dans le dernier cas il faut une irradiation 10 à 50 fois plus intense que dans le premier.

Rien ne justifie évidemment la comparaison d'acide désoxyribonucléique de noyaux de tissus de mammifères différents, de sorte qu'un choix entre les deux éventualités proposées est prématuré. Cependant, des remaniements du complexe désoxyribonucléique résultant d'une altération des groupements phosphorés libres (combinaison à des groupements basiques de protéines, p. ex.) pourraient très bien expliquer aussi les faits expérimentaux. Une troisième explication possible serait l'existence d'un mécanisme d'action des U.V. différent *in vivo* et *in vitro*. Remarquons enfin que l'effet décrit est obtenu après des irradiations dont l'intensité est d'un ordre de grandeur comparable à celles utilisées pour obtenir des effets biologiques.

Nous tenons à remercier vivement M. J. JEENER qui a réalisé le montage électrique du microspectrophotomètre. Des détails expérimentaux et la discussion des implications biologiques des résultats feront l'objet d'une autre publication.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ J. BRADFIELD ET M. ERRERA, *Nature*, 164 (1949) 532.
- ² S. DEVREUX, M. JOHANNSSON ET M. ERRERA, *Bull. Soc. Chim. biol.* (sous presse) 1951.
- ³ M. ERRERA, *Biochim. Biophys. Acta* (Manuscrit reçu le 9 février 1951 (Réd.)).
- ⁴ A. C. GIESE, *Physiol. Rev.*, 30 (1950) 431.
- ⁵ R. W. KAPLAN, *Nature*, 163 (1949) 373.
- ⁶ N. B. KURNICK, *Exptl Cell Research*, 1 (1950) 151.
- ⁷ L. LISON, *Ann. Soc. roy. Sc. méd. et nat.*, Bruxelles, 1950 (sous presse).
- ⁸ G. OSTER ET A. D. McLAREN, *J. gen. Physiol.*, 33 (1950) 215.

Reçu le 15 septembre 1951