

En comparant les cultures au glycocolle où le glycogène est mis en évidence et celles, du même âge, où le chondriome est coloré, on constate que les éléments de ce chondriome gardent leur forme granuleuse, même sur les cultures de 48 et 72 h, alors que, sur des cultures témoins, la grande majorité des chondriosomes se présentent sous la forme de courts batonnets ou de mitochondries ovoïdes ou renflées.

Dans les cultures où le chondriome est coloré, les plages occupées par le glycogène apparaissent en clair et, de ce fait, le chondriome est moins abondant, comme dans les figures décrites par NOËL. Nous avons, assez rarement, observé quelques aspects de mitochondries ovoïdes.

De cette étude, il ressort donc que, dans les hépatocytes maintenus dans un état d'activité représenté par le processus de la néoglucogénèse, les éléments du chondriome conservent la forme granuleuse. Il est difficile d'apprécier si le chondriome participe à l'élaboration du glycogène, contrairement à l'opinion de NOËL, ou s'il est seulement en jeu dans les processus biochimiques qui se déroulent aux dépens du glycocolle.

Nous avons, parallèlement, recherché l'activité de la glucose-6-phosphatase dans des cultures témoins et dans des cultures en présence de glycocolle. La réaction, selon Chiquoine, est effectuée sur des cultures non fixées. Ces cultures sont mises en présence du substrat (solution de glucose-6-phosphate de sodium et solution de nitrate de plomb) pendant 20 h à pH 6,4. Nous avons reconnu la nécessité absolue de maintenir les cultures à basse température pendant l'incubation, dans un cristallisoir contenant de la glace. Si cette précaution n'est pas prise, le substrat ne pénètre pas dans le cytoplasme des hépatocytes. La réaction apparaît alors seulement à leur surface, en dessinant leurs contours. Les cultures sont ensuite rincées. La réaction est visualisée par l'action d'une solution très diluée de sulfure d'ammonium. Elle se manifeste sous forme de granulations brun-noir éparses dans tout

le cytoplasme. Sur les cultures témoins, la réaction est positive dans les hépatocytes. Elle est faible ou négative dans les hépatocytes des cultures en présence de glycocolle. Nous pensons que la réaction positive dans les cultures témoins est en rapport avec les processus de glycogénolyse. Au contraire, la réaction est faible ou nulle dans les hépatocytes qui sont le siège de la néoglucogénèse.

Conclusions. La forme granuleuse des mitochondries dans les hépatocytes correspond à un état d'activité. Ces éléments prennent la forme de batonnets, correspondant à un état de repos, dans un milieu de culture appauvri. Dans un milieu enrichi en glycocolle, les hépatocytes sont le siège d'un processus de néoglucogénèse. Leur chondriome demeure de ce fait actif et conserve l'aspect granuleux. Parallèlement, la réaction de la glucose-6-phosphatase, très forte dans les cultures témoins où se produit une glycogénolyse, devient faible ou disparaît dans les hépatocytes, où se déroule la néoglucogénèse.

Summary. In tissue culture, mitochondria have a round shape during the activity of liver cells. They become elongated in a resting state, with a poor medium. When glycocolle is added to the medium, neoglycogenesis is observed and mitochondria keep the round shape. Glucose-6-phosphatase reaction is very strong when glycogenolysis develops in liver cells. This reaction disappears or becomes weak during neoglycogenesis.

S. HÉBERT et J. VERNE
avec la collaboration de
N. MARCHI

Laboratoire de Cultures de Tissus, Institut d'Histo chimie Médicale, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Faculté de Médecine, 45 rue des Saints Pères, Paris 6^e (France), 21 novembre 1966.

Modification de métabolisme des ARN induites par l'adrénaline dans les cellules animales

On sait que simultanément à ses effets physiologiques, l'adrénaline induit de nombreuses transformations chimiques, plus spécialement une activation rapide de la glycolyse. Cependant plusieurs auteurs tels que KARLSON¹ et STENT² ont émis l'hypothèse que cette hormone pourrait intervenir comme inducteur dans un schéma de régulation tel que ceux proposés par JACOB et MONOD³. Puisque l'adrénaline entraîne une utilisation accélérée des réserves de glycogène, on peut supposer qu'elle augmente la vitesse de synthèse des protéines enzymatiques concernées, donc également la vitesse de transcription des ARN messagers correspondants.

Pour vérifier ce dernier point on a utilisé des foies de souris mâles adultes d'un poids moyen de 25 g. Les animaux sont tués par rupture des vertèbres cervicales; les foies sont prélevés immédiatement après, lavés au tampon Tris HCl 7,4 et mis en suspension dans une solution Tris HCl 7,4, MgCl₂, KCl (0,005 M; 0,0001 M; 0,1 M).

On ajoute du sodium dodécyl sulfate (S.D.S.) jusqu'à 0,01% comme inhibiteur de RNase⁴. Sauf indication

contraire, toutes les opérations sont réalisées à un maximum de 4°C. Une solution radioactive d'orthophosphate (activité spécifique: 5mc/ml) ³²P a été employée comme précurseur de mARN. Chaque animal a reçu en injection i.p. 1,5 mc de ³²P. L'adrénaline a été solubilisée dans une solution à 96%.

Dans un premier essai, on a laissé agir l'hormone 60 min à différentes doses, les animaux recevant une injection de ³²P 10 min avant d'être tués. Les foies sont homogénéisés par un mixer Virtis Hi-Speed 45 model 10200 durant 10 min et à basse vitesse. La suspension est alors centrifugée 20 min à 20 000 g de façon à obtenir un surnageant post-mitochondrial; les structures polysomiales de ce dernier sont dissociées du reticulum endoplasmique par un traitement au déoxycholate de potassium. D'après

¹ P. KARLSON, in *Mechanisms of Hormone Action* (Ed. P. KARLSON; Academic Press, London 1965), p. 139.

² G. S. STENT, *Science* 144, 816 (1964).

³ F. JACOB et J. MONOD, in *Cytodifferentiation and Macromolecular Synthesis* (Ed. M. LOCKE; Academic Press, London 1963), p. 30.

⁴ C. COCITO (communication personnelle).

les essais de STAHELIN⁵ le détergent est ajouté jusqu'à une concentration comprise entre 1,2 et 1,3%. Le réticulum endoplasmique est alors éliminé par centrifugation à travers deux couches de sucre selon un procédé préconisé par WETTSTEIN⁶. Les pellicules ribosomiales sont récupérées et pesées; elles sont ensuite traitées par une solution de S.D.S. jusqu'à obtenir une concentration finale de 0,5% par rapport au poids des ribosomes. La dissociation de ces derniers est achevée en chauffant au bain-marie la solution à 37°C durant 3 min.

La séparation des différents types d'ARN est obtenue par centrifugation dans un gradient linéaire en sucre Tris HCl 7,4 (5–20%) durant 10 h à 90137 g et à 4°C.

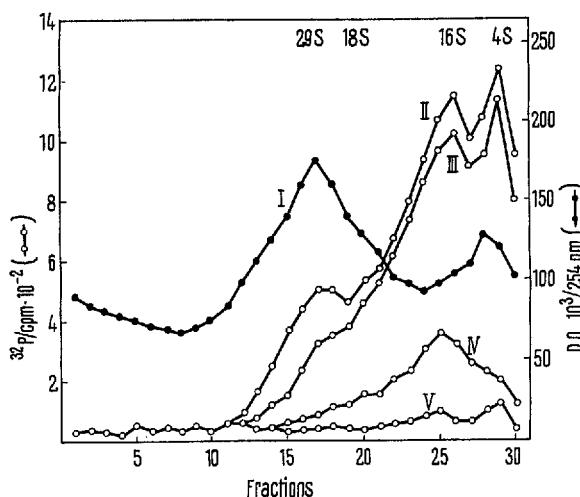


Fig. 1. Influence de la concentration d'adrénaline: les courbes II, III, IV et V correspondant respectivement à des injections de 0 (contrôle), 20, 80 et 200 µg d'hormone/100 g de poids animal. La courbe I de densité optique (D.O.) n'ayant subi aucune variation sensible n'a été indiquée qu'une seule fois, elle correspond aux ARN ribosomiaux 29 et 18 S.

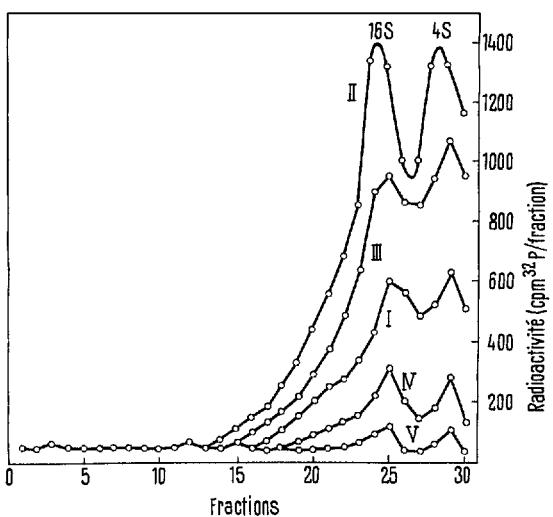


Fig. 2. Seules les courbes d'incorporation de radioactivité correspondant aux ARN instables 16 S et 4 S ont été indiquées; on a, en effet, constaté que l'adrénaline n'induisait aucune transformation des ARN ribosomiaux 29 S et 18 S. Les courbes de I à V correspondent respectivement à des temps d'action de l'hormone de 0 (contrôle), 13, 33, 60 et 71 min.

Sur chaque gradient de 5,8 ml, on a placé 10 mg de ribosomes dissous dans 0,2 ml de Tris HCl 7,4. En fin de centrifugation, le fond de chaque tube est percé avec une aiguille hypodermique et une moyenne de 30 fractions est recueillie. La densité optique à 254 nm et la radioactivité de chaque échantillon sont alors mesurées. En employant des doses croissantes d'adrénaline les résultats suivants ont été obtenus (Figure 1).

On constate que l'adrénaline provoque une inhibition progressive des vitesses de marquage du mARN (16 S) et du tARN (4S) du moins pour un temps d'action de 60 min.

Ceci semblant contredire l'hypothèse sur le rôle de l'adrénaline comme activateur de la vitesse de synthèse des protéines, donc de l'ARN messager on a, dans une nouvelle série d'essais, utilisé une dose constante d'hormone (80 µg/100 g poids-animal). Afin de vérifier si celle-ci produisait des inhibitions également proportionnelles à son temps d'action, on a laissé agir durant des périodes progressivement prolongées. Toutes les autres conditions expérimentales sont les mêmes que dans le premier essai. On constate les résultats indiqués ci-après (Figure 2).

On voit dans les premières minutes qui suivent l'inoculation, l'adrénaline provoque une augmentation importante dans la vitesse d'incorporation du précurseur radio-actif.

Mais par après, l'activation diminue en fonction du temps pour finalement s'inverser en une inhibition.

D'autres essais, actuellement en cours, semblent montrer que l'inhibition est maximale pour un temps d'action de 70 min environ; si on prolonge celui-ci on peut voir que la vitesse d'incorporation remonte progressivement jusqu'à sa valeur normale; le rétablissement de l'équilibre, donc le temps d'action maximum de l'hormone ne dépassant pas 7–8 h.

En conséquence, on peut donc dire d'une part que pour un même laps de temps, l'effet de l'hormone est directement proportionnel à la dose utilisée et que d'autre part à dose égale la première conséquence observée est une activation rapide, s'inversant progressivement en une inhibition qui s'atténue ensuite jusqu'à revenir à une position d'équilibre.

Bien que la preuve définitive reste à faire, dans le cas où l'hypothèse de KARLSON¹ serait applicable au système utilisé, elle ne semble valable que dans les premières minutes qui suivent l'injection de l'adrénaline⁷.

Summary. The effects of adrenalin were studied on mice liver RNA, with different concentrations and action times. It was found that, after the incorporation of the radioactive precursor, the activity increased rapidly, followed almost immediately by an inhibition, which itself decreased progressively.

J. R. DECALLONNE, M. V. BRIQUET,
R. R. LAMBERT et A. L. WIAUX

Faculté des Sciences Agronomiques, Université de Louvain (Belgique), 4 Novembre 1966.

⁵ T. STAHELIN, F. O. WETTSTEIN et H. NOLL, Science 140, 180 (1963).

⁶ F. O. WETTSTEIN, T. STAHELIN et H. NOLL, Nature 197, 430 (1963).

⁷ Nous remercions le Prof. J. HEUTS, le Dr. C. COCITO et E. CREVECEUR pour leur aide et leurs conseils. Ce travail a été rendu possible grâce au Fonds National de la Recherche Scientifique (Belgique).