

**Etude autoradiographique de l'incorporation du radiosulfate dans la préhyppophyse, *in vitro*, chez la Souris,**

par M. DEMINATTI.

En des recherches antérieures nous avons montré, par la technique autoradiographique, que chez la Souris *in vivo*, l'injection de radiosulfate était suivie d'une importante fixation de  $^{35}\text{S}$  dans des cellules bleu Alcian positives (BA +) et acide periodique Schiff positives (PAS +) (1, 2).

L'analyse chimique de préhyppophyses entières de Souris ainsi traitées a montré que le  $^{35}\text{S}$  décelé se trouve en grande partie sous forme de groupements  $\text{SO}_4$  non libres, mais peut aussi, en beaucoup plus faible quantité être sous forme de  $^{35}\text{S}$  organique (2).

Les tissus de Mammifères ne pouvant métaboliser le soufre minéral ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) en soufre organique, on admet que cette transformation a lieu au niveau du tube digestif grâce aux bactéries intestinales : le  $^{35}\text{S}$  organique formé à partir du  $^{35}\text{SO}_4$  puis réabsorbé, suivra dès lors le métabolisme du S organique (3). C'est pourquoi afin d'éliminer cette cause d'erreur en vue de l'identification de la forme chimique du  $^{35}\text{S}$  fixé dans ces cellules préhyppophysaires BA +, nous avons étudié l'incorporation du  $^{35}\text{SO}_4$  dans la préhyppophyse de Souris placée dans les conditions de la culture organotypique.

De plus étant donné la certitude quant à la nature chimique du  $^{35}\text{S}$  décelé sur les autoradiographies et la constance de l'apport en groupements  $^{35}\text{SO}_4$  dans les explants, il est possible de rechercher les modifications éventuelles, en fonction de la durée de la culture, de l'intensité de l'incorporation du  $^{35}\text{SO}_4$  dans ces cellules qui avec des degrés variables de chromophilie, sont décelables même après plusieurs semaines de culture (4, 5).

*Matériel et Méthode.* — Nous avons utilisé la technique de culture organotypique sur gélose de Wolff et Haffen (6) ou en tubes tournants, dans les deux cas, en milieu semi-synthétique à 37° selon Petrovic (4) additionné de 20 microcuries de radiosulfate par ml.

Pour les cultures à court terme, les fragments de *pars distalis* provenant de la même préhyppophyse sont placés d'emblée en présence

(1) M. Deminatti, *Path. Biol.*, 1962, t. 10, p. 425.

(2) M. Deminatti, *C. R. Ass. Anat.*, 50<sup>e</sup> Réunion (Lausanne, Avril 1965), 1965, p. 379.

(3) P. B. Pearson, *in* : Colloque sur la Biochimie du soufre, Editions du C.N.R.S., Paris, pp. 153-167.

(4) A. Petrovic, *Arch. Anat. Histol. Embryol.*, 1963, t. 47, p. 121.

(5) P. N. Martinovitch, *in* : La culture organotypique, 1961, Editions du C.N.R.S., Paris, pp. 45-60.

(6) E. Wolff et K. Haffen, *Texas Reports on Biology and Medicine*, 1952, t. 10, p. 463.

du milieu additionné de radiosulfate et après des délais de 24, 48 heures ou 3 jours, les fragments sont fixés soit au formol à 10 % soit au Bouin-Hollande modifié selon Herlant (7).

Dans les cas de culture à long terme, nous n'avons utilisé que la technique sur gélose. Après des délais de 24 à 27 jours, les explants sont placés pendant 3 jours sur des milieux additionnés de 20 microcuries de radiosulfate par ml, puis fixés comme ci-dessus. Seuls les explants fixés au formol ont été soumis à l'étude autoradiographique (AR 10 Kodak). Sur les fragments fixés au Bouin-Herlant nous avons pratiqué les colorations au PAS, BA et tétrachrome d'Herlant (8).

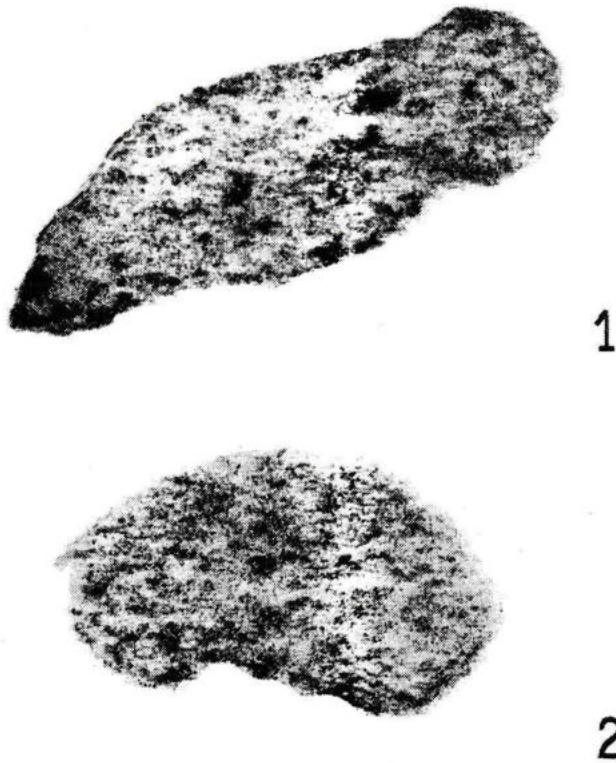


Fig. 1. — Autoradiographie d'un explant préhypophysaire de Souris après 3 jours de culture sur gélose en présence de  $^{35}\text{SO}_4\text{Na}_2$ .

Fig. 2. — Autoradiographie d'un explant préhypophysaire de Souris après 27 jours de culture sur gélose dont les trois derniers jours en présence de  $^{35}\text{SO}_4\text{Na}_2$ .

*Résultats.* — A. ÉTUDE HISTOLOGIQUE DES EXPLANTS. — Dans les cas de culture à court terme sur gélose ou en tubes tournants, l'application des techniques de coloration tétrachromique d'Herlant, PAS, BA, montre la conservation de toutes les variétés cellulaires chromophiles.

Dans les cas de culture sur gélose à long terme les colorations utilisées nous permettent de constater que les explants sont formés de

(7) M. Herlant, *Ann. Endocrinol.*, 1950, p. 11, p. 644.

(8) M. Herlant, *Bull. Microsc. appl.*, 1960, t. 10, p. 37.



nombreuses cellules dépourvues de granulations chromophiles, de cellules chromophiles orangéophiles et de quelques cellules PAS +, BA + isolées ou groupées et plus ou moins abondantes suivant les explants.

Les explants sont toujours délimités par une « membrane » formée d'une couche de cellules de nature glandulaire. Le vieillissement des explants est caractérisé par une réduction du volume des explants et histologiquement on note l'abondance, dans certains explants, des noyaux pycnotiques associée à une diminution du volume des cellules.

Aussi après plusieurs semaines de culture, les explants préhypophysaires de Souris contiennent, comme la préhypophyse *in situ*, des cellules colorables en bleu par la tétrachrome d'Herlant, PAS positives et BA positives.

B. ETUDE AUTORADIOGRAPHIQUE. — 1. *Cultures à court terme.* — Quel que soit le procédé de culture utilisé, sur gélose ou en tubes tournants, l'examen des autoradiographies montre la présence, au niveau de presque tous les explants, des zones intensément radioactives dont le nombre varie d'un explant à l'autre. Ces zones intensément radioactives sont en rapport avec des cellules PAS +, BA +.

Comme *in vivo*, ces zones ne présentent pas toutes la même intensité de radioactivité et toutes les cellules PAS +, BA + ne sont pas le lieu d'une intense fixation de  $^{35}\text{S}$ .

De plus l'intensité de la radioactivité ne varie pas d'une façon significative en fonction de la durée de la culture (24 heures - 3 jours). Mais on observe que l'incorporation du radiosulfate est plus intense dans les cultures en tubes tournants, ceci est sans doute dû à un apport plus abondant de radiosulfate en rapport avec sa diffusion plus rapide dans l'explant avec cette technique de culture.

2. *Cultures à long terme.* — Comme dans les cas précédents à court terme, certains explants ne présentent pas de zones intensément radioactives. Au niveau d'autres explants on observe des zones plus radioactives qui correspondent à des cellules chromophiles BA +, PAS +. De plus il apparaît que le noircissement de ces zones est moins intense qu'au niveau d'explants provenant de culture à court terme. Dans la mesure où la culture prolongée n'a pas entraîné une disparition des cellules riches en groupements  $\text{SO}_4^{2-}$ , ceci peut s'interpréter comme étant dû à une participation plus faible des groupements  $\text{SO}_4$  au métabolisme de ces cellules BA + en rapport soit avec un ralentissement global du métabolisme cellulaire, soit avec une diminution spécifique de la synthèse des molécules dont font partie les groupements  $\text{SO}_4$ .

*Conclusions.* — Ces expériences nous permettent donc d'affirmer la participation intense de groupements  $\text{SO}_4$  au métabolisme de certaines cellules BA + de la préhypophyse de Souris, *in vivo*, et *in vitro*.

La diminution de l'incorporation du radiosulfate dans les cultures à long terme nous autorise à admettre que le taux de fixation des groupements sulfates suit le degré d'activité glandulaire de ces cellules BA +. En effet les auteurs (5, 9, 10) sont d'accord pour admettre qu'il

(9) A. Petrovic, *in* : Cytologie de l'adénohypophyse, 1963, Editions du C.N.R.S., Paris, pp. 121-135.

(10) A. Schaberg, *in* : La culture organotypique, 1961, Editions du C.N.R.S., Paris, pp. 33-44.

Il y a une diminution de la sécrétion hormonale par les explants en fonction de la durée de la culture.

La présence de groupements  $\text{SO}_4$  dans les molécules des différentes hormones préhypophysaires glycoprotéiques n'ayant pas été reconnue, nous pensons toutefois que le taux d'incorporation du radiosulfate dans ces cellules BA + indique indirectement le degré d'activité hormonale sécrétrice de ces cellules.

*(Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, Lille et Département des Applications Biologiques, Centre de Recherches Nucléaires, Strasbourg).*

---