

### Action de la ribonucléase sur les cellules du carcinome d'Ehrlich

On sait que, d'après l'hypothèse de BRACHET<sup>1</sup>, les acides ribonucléiques joueraient un rôle important dans la synthèse des protéines, la division cellulaire et le développement embryonnaire. Cette hypothèse nous a conduit à rechercher si la ribonucléase - enzyme spécifique de ces acides nucléiques - exerce une action sur la division des cellules. Au cours d'une série d'expériences portant sur des œufs d'Amphibiens en voie de segmentation, nous avons montré<sup>2</sup> que la ribonucléase réduite<sup>3</sup> est seule active sur l'embryogénèse; la ribonucléase oxydée<sup>4</sup> au contraire est absolument sans action. Rappelons que, dans ces expériences, des solutions extrêmement diluées de ribonucléase réduite arrêtent la segmentation, tout en modifiant profondément les phosphorylations oxydatives des organismes traités<sup>5</sup>. L'enzyme se révèle donc être un agent antimitotique extrêmement puissant.

Des résultats obtenus depuis, à l'aide de préparations de ribonucléase marquée par de l'iode 131<sup>6</sup>, démontrent que les deux formes (oxydée ou réduite) de l'enzyme diffusent aisément à travers les membranes cellulaires des œufs de Batraciens.

<sup>1</sup> J. BRACHET, *Enzymologia* 10, 87 (1941); *L'embryologie chimique* (Masson, Paris 1945).

<sup>2</sup> L. LEDOUX, J. LE CLERC et F. VANDERHAEGHE, *Arch. intern. Physiol.* 62, 303 (1954); *Biochim. biophys. Acta* (sous presse).

<sup>3</sup> L. LEDOUX, *Biochim. biophys. Acta* 13, 121 (1954).

<sup>4</sup> L. LEDOUX, *Biochim. biophys. Acta* 13, 121 (1954); 14, 267 (1954).

<sup>5</sup> L. LEDOUX, J. LE CLERC et F. VANDERHAEGHE, *Arch. intern. Physiol.* 62, 303 (1954); *Biochim. biophys. Acta* (sous presse).

<sup>6</sup> L. LEDOUX, J. LE CLERC et F. VANDERHAEGHE, *Biochim. biophys. Acta* (sous presse).

Ces résultats permettaient d'espérer que l'on puisse, à l'aide de ribonucléase réduite, atteindre efficacement le métabolisme des cellules cancéreuses et agir sur leur multiplication.

Dans une première série d'expériences, nous avons étudié l'action de la ribonucléase sur des cellules carcinomateuses<sup>1</sup> maintenues *in vitro*. L'action de l'enzyme sur le métabolisme de ces cellules a été suivie. Il ressort clairement de ces expériences que la ribonucléase pénètre dans les cellules et qu'elle agit rapidement sur l'acide ribonucléique qu'elles contiennent.

Les résultats obtenus montrent que le traitement des cellules par la ribonucléase ne modifie pas leur teneur en protéines; mais qu'elle abaisse considérablement leur respiration.

En ce qui concerne l'acide ribonucléique intra- et extra-cellulaire, on observe les phénomènes suivants en présence de ribonucléase réduite par rapport à des témoins traités par de la ribonucléase oxydée:

1° Au cours d'une première phase de l'action, il se produit une *synthèse importante* d'A.R.N. intracellulaire et une augmentation de la teneur en nucléotides libres. Parallèlement, la teneur en nucléotides libres du milieu extracellulaire (liquide d'ascite) diminue rapidement et dans les mêmes proportions.

2° La seconde phase consiste en une *dégradation rapide* de l'acide ribonucléique intracellulaire tandis que la teneur en nucléotides libres reste très élevée. Dans le milieu extracellulaire, on voit réapparaître des nucléotides libres; leur concentration augmente au cours du temps.

On peut conclure de ces faits que la ribonucléase réduite agit en provoquant, dans la cellule vivante, une synthèse importante d'acide ribonucléique et une augmentation de la teneur en nucléotides libres aux dépens du milieu extérieur. Il est vraisemblable que cette synthèse d'A.R.N. et cette accumulation de nucléotides déséquilibrent considérablement l'ensemble des métabolismes cellulaires (cette action semble d'ailleurs être irréversible). La dégradation ultérieure de l'A.R.N. intracellulaire peut s'interpréter comme une action nucléasique banale dans un organisme mort.

<sup>1</sup> Ces cellules ont été obtenues en greffant un carcinome d'EHR-lich dans le péritoine de souris.

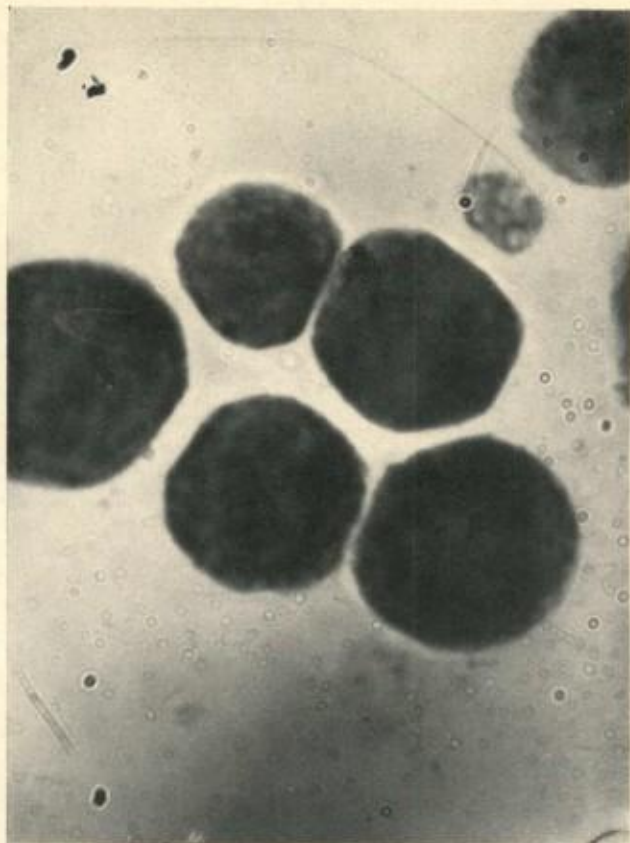


Fig. 1. Ribonucléase oxydée.

Action de la ribonucléase sur les cellules du carcinome d'EHRLICH (coloration d'UNNA).  
Durée d'incubation: 20 min.

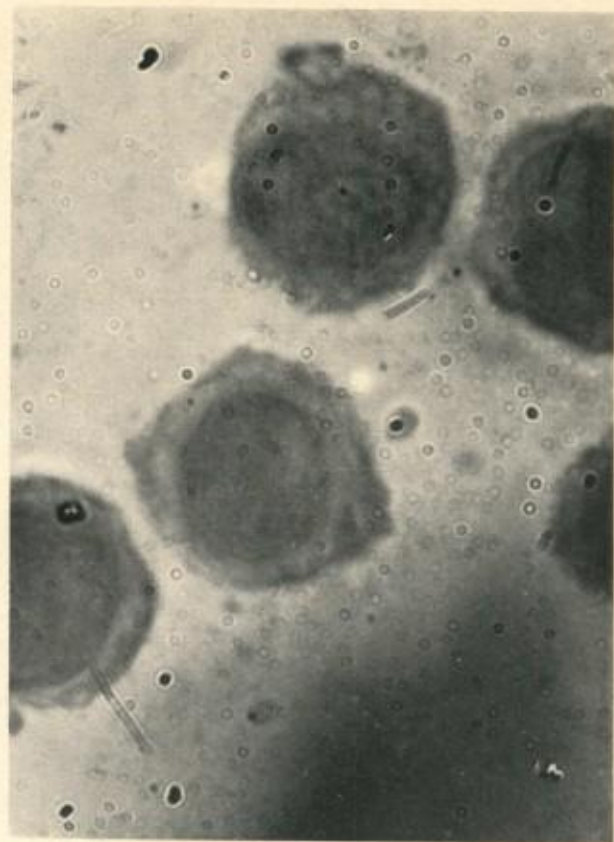


Fig. 2. Ribonucléase réduite.

Rappelons que l'action de la ribonucléase comme catalyseur de la synthèse de l'A.R.N. vient d'être démontrée par HEPPEL et WHITFIELD<sup>1</sup>: ils ont observé une synthèse *in vitro* de polynucléotides à partir de nucléotides cycliques, en présence de ribonucléase.

Les frottis des cellules prélevées à des temps d'incubation différents permettent, eux aussi, de retrouver l'évolution des phénomènes qui viennent d'être décrits: après coloration à l'UNNA, on voit que la basophilie est fortement altérée et qu'après un temps de latence, elle disparaît presque entièrement du cytoplasme. Les microphotos 1 et 2 donnent un exemple des résultats obtenus.

Soulignons que ces phénomènes s'observent pour des doses de ribonucléase réduite excessivement faibles tandis que, même à concentration élevée, la ribonucléase oxydée est sans effet sur les cellules étudiées ici.

L. LEDOUX<sup>2</sup> et E. BALTUS

*Laboratoire de morphologie animale, Université libre de Bruxelles, le 2 juillet 1954.*

#### *Summary*

The reduced form of ribonuclease acts on the cells of EHRLICH's carcinoma by producing important changes in the RNA content of cells:

- (1) First, there is an important synthesis of intracellular RNA and an accumulation of free nucleotides (from the external medium). This phenomenon accompanies the necrosis of the cells.
- (2) After this first stage begins a rapid degradation of intracellular RNA.

Simultaneously, the respiration of cells decreases whilst protein content remains unchanged.

The oxidized form of ribonuclease has no action on the cells.

<sup>1</sup> L. A. HEPPEL et P. R. WHITFIELD, *Biochem. J.* 56, 11 (1954).

<sup>2</sup> Aspirant du Fonds national belge de la Recherche scientifique.