

Bases ultrastructurales de la synthèse de l'ARN ribosomal dans les noyaux de la glande parotide. Rôle des corps intranucleaires.

DUQUENE, L., DOUROV, N.

Laboratoire d'Anatomie Pathologique et de Microscopie Electronique. Faculté de Médecine. Université Libre de Bruxelles. Belgique.

RÉSUMÉ

Notre étude ultrastructurale de la glande parotide du rat nous a révélé une fréquence élevée de corps intranucléaires aussi bien dans les cellules des acini que dans celles des canaux striés.

Leur présence est habituellement mise en rapport avec l'activité métabolique de la cellule, et plus particulièrement avec une maturation de l'ARN ribosomal.

Leur nombre important dans les noyaux des cellules des canaux striés met l'accent sur le dynamisme de ces dernières.

SUMMARY

Identification and numerations on electron microscopic samples of rat parotid glands revealed an unexpected high frequency of nuclear bodies in acini and in striated ducts.

Three different morphological types of nuclear bodies were identified: type I corresponded to a circular outline of finely fibrillar or granular bodies. Type II exhibited an outer fibrillar cortex surrounding a central lucent core. Type III possessed a thick granular or fibrillar cortex surrounding dense granules. Type IV nuclear bodies appeared to be circumscribed by a thick lamellar cortex and contained dense and heavy stained granules.

The biochemical content of the nuclear bodies mostly corresponds to proteins and it was possible to demonstrate slight quantities of RNA.

Recent studies seem to confer to some of those nuclear bodies a possible role in RNA processing or transport.

It is however peculiar to find nuclear bodies in striated ducts which are not involved in active protein synthesis as the acini.

INTRODUCTION

Les corps intranucléaires ont été décrits pour la première fois par de Thé et coll. en 1960 dans une tumeur VX₂ dérivée du papillome de Shope.

Depuis lors, les corps intranucléaires ont été observés dans des cellules normales au repos (Bouteille et coll., 1967; Le Goascogne et Baulieu, 1977; Doyle, 1980; Ghadially, 1982) et ont été signalés en grand nombre dans des cellules activées d'une manière physiologique ou pathologique. Ils ont été ainsi décrits dans des tumeurs (Hinglais-Guillaud et coll., 1961; Bouteille et

coll., 1967; Krishan et coll., 1967), dans des tissus infestés par des virus (Patrizi et Middelkamp, 1969; Soares et Moura, 1975) et dans des cellules soumises à des stimulations immunologiques (Simar, 1969; Valkov et Moyne, 1974; Chaly et coll., 1983), pharmacologiques (Seite, 1970; Levine et coll., 1975) et endocriniennes (Weber et coll., 1964; Vagner-Capodano et coll., 1980; Padykula et coll., 1981; Fitzgerald et Padykula, 1983).

Les corps intranucléaires peuvent être classés en 4 types selon Bouteille et coll. (1967). Les corps intranucléaires fibrillaires homogènes de type I sont de nature protéique. Les corps intranucléaires de type II possèdent

une capsule microfibrillaire circonscrivant un centre clair. Les corps intranucléaires de type III contiennent en leur centre quelques grains denses qui correspondent à des ribonucléoprotéines. Ces corps intranucléaires simples ont une taille comprise entre 0,2 et 0,5 μm . Les corps intranucléaires de type IV sont plus volumineux et complexes. Ils sont constitués en leur centre d'une masse de grains denses plus ou moins agglomérés correspondant également à des ribonucléoprotéines (Dupuy-Coin et coll., 1972; Yasuzumi et coll., 1981). Le diamètre de ces corps intranucléaires complexes est de l'ordre de 1,5 μm .

REFLET MORPHOLOGIQUE AU NIVEAU DU NUCLEOLE DE LA SYNTHÈSE DE L'ARN RIBOSOMAL

Le nucléole est une structure dynamique: il est responsable de la production continue de l'ARN pré-ribosomal et en assure la maturation. En effet, dans le nucléole a lieu l'assemblage de l'ARN pré-ribosomal avec l'ARN 5S et des protéines en provenance du nucléoplasme en vue de l'exportation dans le cytoplasme (Darnell et coll., 1988).

Du point de vue ultrastructural, il convient de distinguer dans le nucléole des régions fibrillaires claires, des régions fibrillaires denses, ainsi que des régions d'allure granulaire. Selon la nouvelle terminologie proposée récemment, ces régions correspondent respectivement aux centres fibrillaires, aux composants fibrillaires denses et aux composants granuleux.

Les centres fibrillaires, considérés comme les équivalents interphasiques des régions organisatrices du nucléole (Vagner-Capodano et coll. 1982), contiennent de l'ADN ribosomal sous sa forme non nucléosomale (Busch et Smetana, 1970, Hernandez-Verdun et Derenzini, 1983) ainsi que des protéines.

Dans le composant fibrillaire dense situé en périphérie des centres fibrillaires, l'ADN ribosomal est moins lâche et détient les sites actifs pour la transcription de l'ARN ribosomal (Mirre et Stahl, 1978; Goessens et Lepoint, 1979).

Le composant granuleux correspond au compartiment de stockage des ribonucléoprotéines en phase de maturation.

Du point de vue morphologique, ces différents composants s'organisent pour former des nucléoles de type compact, réticulé ou annulaire.

RELATION ENTRE LA MORPHOLOGIE DU NUCLEOLE ET L'ACTIVITÉ MÉTABOLIQUE DE LA CELLULE

Toute modification survenant à un stade quelconque de la synthèse ou de la maturation des préribosomes

est susceptible de modifier l'ultrastructure du nucléole (De la Torre et Gimenez-Martin, 1979).

Un nucléole compact et volumineux avec un composant granuleux abondant reflète une synthèse d'ARN ribosomale active. Cependant, des nucléoles réticulés et vacuolisés ont également été observés dans des états d'activité nucléolaire accrue (Moreno-Diaz et coll., 1980; Jordan et Mc Govern, 1981; Altman et Leblond, 1982; Arnold et coll., 1983), ainsi que dans des conditions de stimulation expérimentale ou dans des états pathologiques (Bouteille et coll., 1982; Goessens 1984; Fakan et Hernandez-Verdun, 1986; Hernandez-Verdun, 1986).

Par ailleurs, des études morphométriques ont permis de constater que des nucléoles de cellules stimulées ou des nucléoles présents dans des cellules tumorales possèdent des centres fibrillaires nombreux et de petite taille (Jordan et Mc Govern, 1981; Altman et Leblond, 1982; Arnold et al., 1983; Medina et coll., 1983; Cidadao et David-Ferreira, 1984; Derenzini et al., 1986).

La ségrégation nucléolaire peut être observée lors de l'altération de la synthèse de l'ARN ribosomal. Ce phénomène est caractérisé par la séparation des composants fibrillaires et granuleux, leur dispersion ou leur désintégration (Ghadially, 1982). La ségrégation nucléolaire a cependant été également observée dans des conditions normales (Devictor et coll., 1984; Ploton et coll., 1985).

LES CORPS INTRANUCLEAIRES DANS LA PAROTIDE DU RAT

Au cours de notre étude sur les corps intranucléaires dans la parotide du rat, nous avons été frappés par leur fréquence étonnamment élevée. Notre matériel a comporté 20 rats (10 mâles et 10 femelles), dont les âges se sont échelonnés de 7 à 750 jours.

Nous avons constaté que des corps intranucléaires simples (types I, II et III) (figure 1) apparaissent au 21^e jour dans les acini, et dès le 14^e jour dans les canaux striés où ils atteignent des valeurs de l'ordre de 60 à 80%. Les corps intranucléaires complexes (type IV) (figure 2) n'ont été vus que dans les canaux striés (Duquene et coll., 1988; Duquene et coll., 1989).

Nous avons décrit des images de bourgeonnements à la périphérie de certains nucléoles suggérant la possibilité que des corps intranucléaires de type IV proviennent d'une ségrégation nucléolaire (Duquene et coll., 1989).

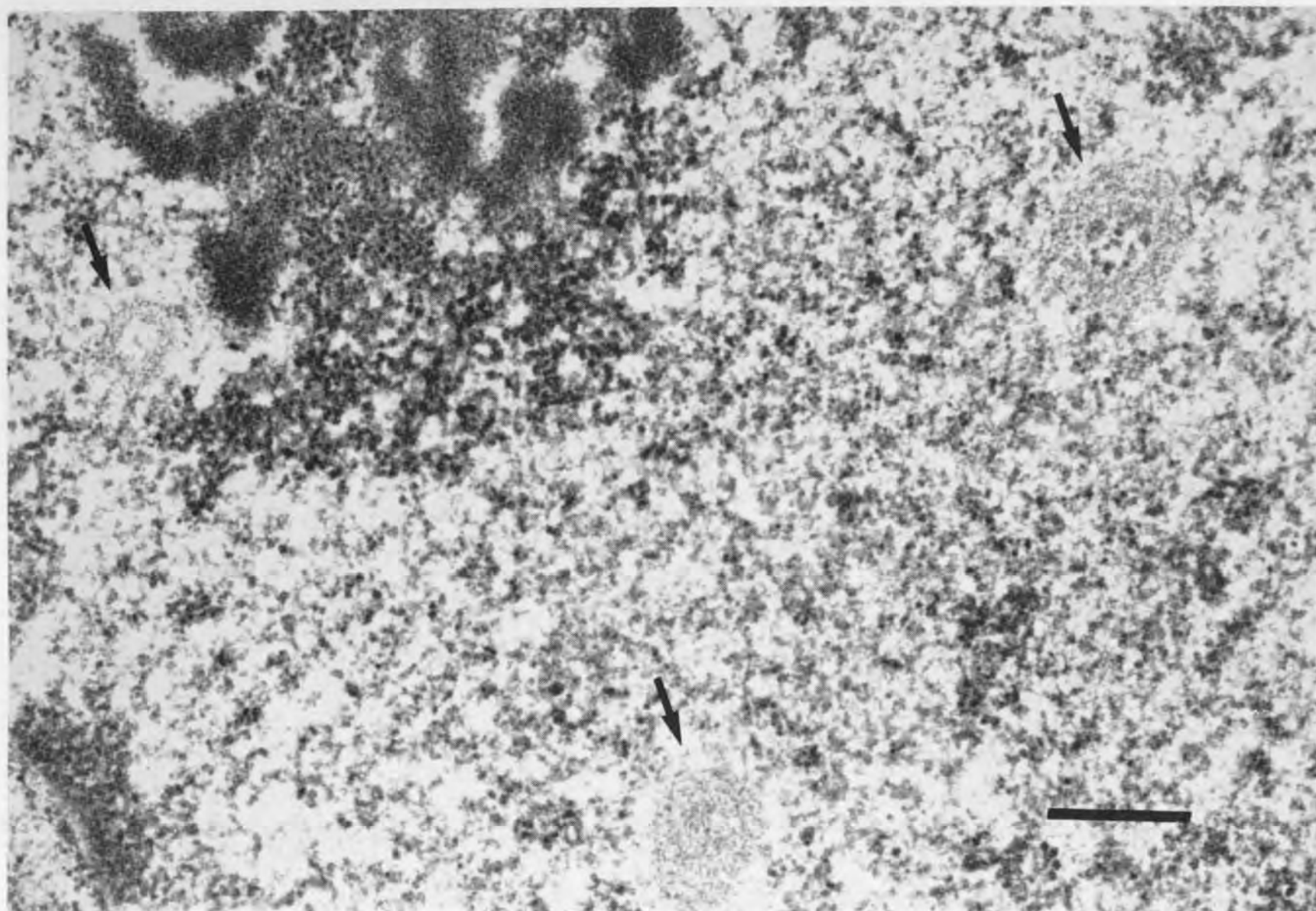


Fig. 1: Noyau d'une cellule d'acini de parotide de rat. Notez la présence de 3 corps intranucléaires (flèches) correspondant respectivement de gauche à droite à un type II, à un type I et à un type III.

Acétate d'uranyle - citrate de plomb. Barre = 0,5 μ m.

Fig. 1: Acinar cell nucleus of a rat parotid gland. 3 nuclear bodies (arrows) corresponding, from left to right, to a type II, a type I and a type III. Uranyl acetate - lead citrate. Bar = 0.5 μ m.

RÔLE DES CORPS INTRANUCLÉAIRES DANS LE MÉTABOLISME DE L'ARN RIBOSOMAL.

Origine des corps intranucléaires:

L'observation d'images de bourgeonnements, de hernies et de ségrégations nucléolaires associées à des corps intranucléaires juxtanucléolaires a suggéré l'origine nucléolaire des corps intranucléaires (Kierszenbaum, 1969; Dupuy-Coin et coll., 1972; Yasuzumi et coll., 1981; Vagner-Capodano et coll., 1980, 1982). Les corps intranucléaires possèdent quelquefois une configuration analogue à celle du nucléole. Comme le nucléole, ils sont constitués d'un centre fibrillaire, d'un composant fibrillaire dense, et d'un composant granulaire. Ils est donc vraisemblable que les corps intranucléaires complexes puissent provenir de la ségrégation ou de la fragmentation du nucléole (Schulze, 1979; Radoux et coll., 1984).

Composition biochimique:

Des études cytochimiques ont révélé que les microfibrilles des corps intranucléaires simples et de la capsule des corps intranucléaires complexes sont de nature protéique (Dupuy-Coin et coll., 1972; Vagner-Capodano et coll., 1980), tandis que les granules denses des corps intranucléaires complexes correspondent à des ribonucléoprotéines (Dupuy-Coin et coll., 1972; Le Goascogne et Baulieu, 1977; Vagner-Capodano et coll., 1980; Yasuzumi et coll., 1981).

Signification biologique:

Nous avons signalé plus haut une relation possible entre la fréquence des corps intranucléaires et l'importance des processus de synthèse cellulaire.

Simar (1969) a suggéré que les corps intranucléaires pourraient être mis en relation avec la synthèse des

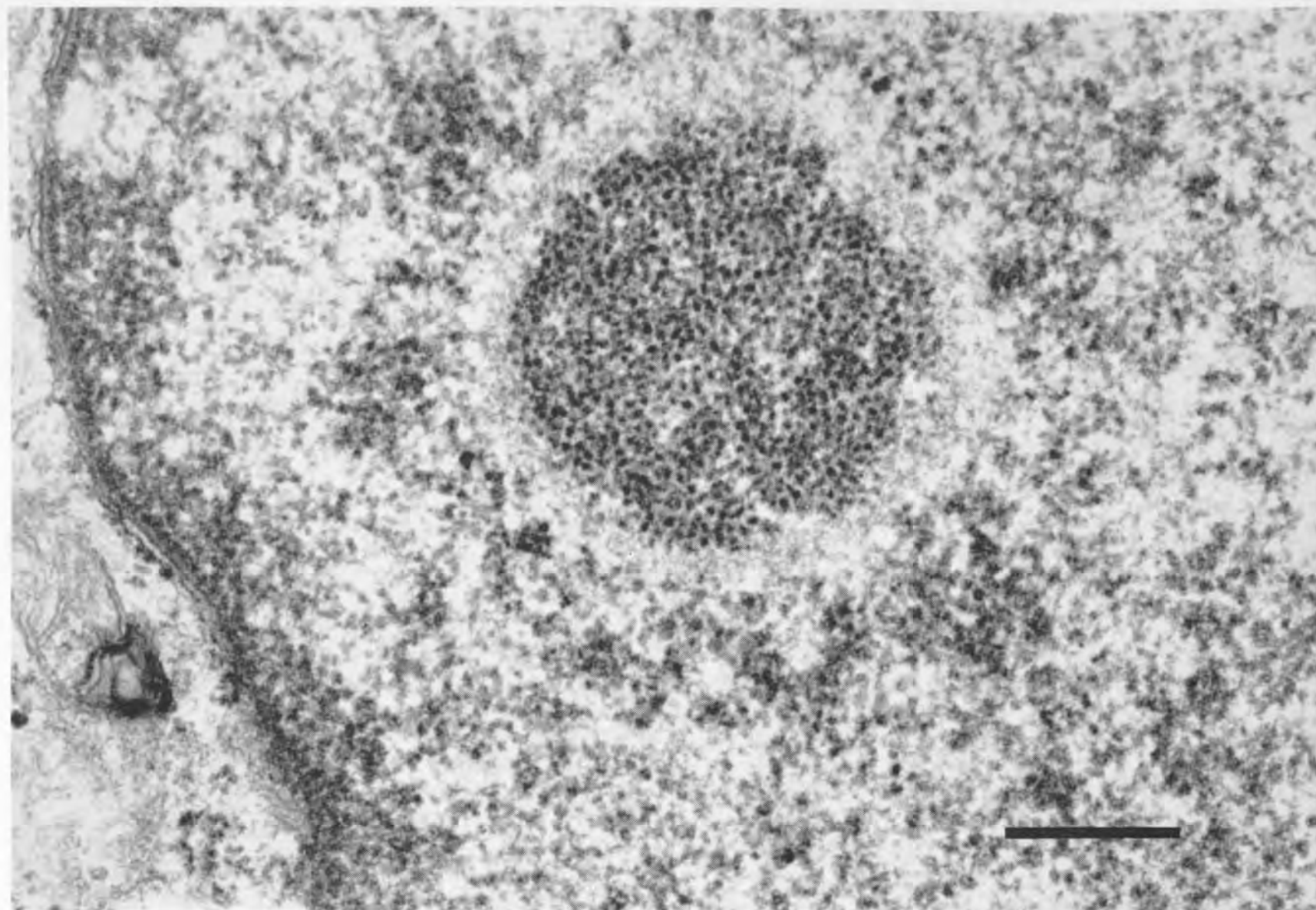


Fig. 2: Noyau d'une cellule de canal strié de parotide de rat. Un volumineux corps intranucléaire de type IV est caractérisé par un centre granuleux et une enveloppe finement fibrillaire. Acétate d'uranyle - citrate de plomb. Barre = 0,5 μm .

Fig. 2: Striated cell nucleus of a rat parotid gland. Voluminous type IV intranuclear body characterised by a granular core and a microfibrillar cortex. Uranyl acetate - lead citrate. Bar = 0.5 μm .

protéines puisque leur nombre semble varier parallèlement à la synthèse protéique. Cette hypothèse est renforcée par la mise en évidence de protéines dans les corps intranucléaires de type I (Dupuy-Coin et coll., 1972).

La fonction des corps intranucléaires pourrait être mise en relation avec l'augmentation de la synthèse de l'ARN ribosomal (Bouteille et coll., 1974; Clark et coll., 1978; Puvion et Moyne, 1981; Yasuzumi et coll., 1981; Bouteille et coll., 1982; Rué et Bierne, 1988).

D'autre part, l'examen ultrastructural de tissus et de cultures infectés par des virus a permis d'établir une relation de cause à effet entre l'infection virale et l'augmentation du nombre de corps intranucléaires (Patrizi et Middelkamp, 1969; Kistler, 1975; Fournier et Bouteille, 1979; Puvion-Dutilleul et coll., 1982).

Fournier et Bouteille (1979) pensent qu'au cours de la phase de latence de certaines encéphalites, probablement induites par le virus de la rougeole, la présence de corps intranucléaires serait liée à la morphogénèse virale dans le noyau. Cette relation renforcerait l'hypothèse d'une ségrégation possible du virus par la cellule sous une forme figurée dans les corps intranucléaires.

Vagner-Capodano et coll., (1982) ont émis 4 hypothèses concernant la signification biologique des corps intranucléaires. Ceux-ci pourraient correspondre à des sites de dégradation d'ARN, à de l'ARN immature, à des sites de stockage de l'ARN ribosomal ou à des formes de transport de l'ARN ribosomal vers la membrane nucléaire. Cette dernière suggestion est retenue par Radoux et coll. en 1984.

Les résultats de notre étude soulèvent le problème encore mal compris de la signification biologique des corps intranucléaires.

En effet, si les acini de type séreux sont bien représentatifs d'une activité métabolique de synthèse protéique, les cellules des canaux striés, en revanche, ne sont impliquées que dans des processus d'échanges ioniques. Or c'est à leur niveau que nous avons trouvé les fréquences les plus élevées de corps intranucléaires.

Il convient de relever ici que la littérature rapporte des observations selon lesquelles la présence de corps intranucléaires est parfois indépendante de l'activité de synthèse de la cellule. Dans une publication assez ancienne, Dixon (1970) signale une fréquence de 90% dans des neurones du ganglion cervical supérieur chez le lapin. Cet auteur démontre que la section de l'axone n'a aucun effet sur le nombre de corps intranucléaires.

Dans un autre travail publié en 1973, Reid constate que la glande mammaire de bovin physiologiquement active ne compte que 14% de corps intranucléaires.

CONCLUSION

La fréquence particulièrement élevée des corps intranucléaires dans les cellules de la parotide de rat soulève la question de leur signification.

Si l'on admet que leur présence est liée à une importante activité de synthèse protéique, il convient de s'interroger sur leur rôle dans les canaux excréteurs qui sont impliqués dans des phénomènes d'échanges ioniques. Il est vraisemblable toutefois qu'une synthèse protéique existe dans les cellules des canaux striés afin d'assurer le bagage enzymatique de celles-ci.

Enfin, il nous est impossible de mettre ces organites intranucléaires sur le compte d'une quelconque manifestation virale, étant donné que les animaux de notre matériel n'ont présenté aucune manifestation pathologique. Ajoutons par ailleurs que nous n'y avons identifié aucune particule virale indiscutable.

RÉFÉRENCES

Altman, G.G., Leblond, C.P. — Changes in the size and structure of the nucleolus of columnar cells during their migration from crypt base to villus top in rat jejunum. *J. Cell Sci.*, 56: 83-99, 1982.

Arnold, C., Gulbekiann, S., Carmo-Fonesca, M., David-Ferreira, J.F. — Androgen-dependent changes in nuclear ultrastructure. Astereological study on rat ventral prostate and seminal vesicle. *Biol. Cell.*, 47: 161-170, 1983.

Bouteille, M., Kalifat, S.R., Delarue, J. — Ultrastructural variations of nuclear bodies in human diseases. *J. Ultrastruct. Res.*, 19: 474-486, 1967.

Bouteille, M., Laval, M., Dupuy-Coin, A.M. — Localisation of nuclear function as revealed by ultrastructural autoradiography and cytochemistry. In: Busch, H.: *The Cell Nucleus*. New York, Acad. Press, 1974, 5-64.

Bouteille, M., Hernandez-Verdun, D., Dupuy-Coin, A.M., Bourgeois, C.A. — Nucleoli and nucleolar-related structures in normal, infected and drug-treated cells. In: Jordan, E.G., Cullis, C.A.: *The Nucleolus*. London, Cambridge Univ. Press, 1982, pp. 179-211.

Busch, H., Smetana, K. — Nucleolar DNA. In: Busch, H., Smetana, K.: *The Nucleolus*. New York-London, Acad. Press, 1970, 161-207.

Chaly, N., Setterfield, G., Kaplan, J.G., Brown, D.L. — Nuclear bodies in mouse splenic lymphocytes: I. Ultrastructural changes during stimulation by Concanavalin A. *Biol. Cell.*, 47: 275-284, 1983.

Cidadao, A.J., David-Ferreira, J.F. — Testosterone-induced nuclear changes in the rat uterine luminal epithelium. A stereological study. *Biol. Cell.*, 52: 109-118, 1984.

Clark, J.H., Hardin, J.W., Padykula, H.A., Cardasis, C.A. — Role of estrogen receptor binding and transcriptional activity in stimulation of hyperestrogenism and nuclear bodies. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75: 2781-2784, 1978.

Darnell, J., Jodish, H., Baltimore, D. — *La Cellule. Biologie Moléculaire*. Paris, Vigot Ed., 1988.

De La Torre, C., Gimenez-Martin, G. — The nucleolar cycle. In: Busch H., Smetana: *The Nucleolus*. New York, Acad. Press, 1979, 173-177.

Derenzini, M., Betts, C.M., Ceccarelli, C., Euseb, V. Ultrastructural organization of nucleoli in benign naevi and malignant melanomas. *Virchows Arch.*, 52: 343-352, 1986.

Devictor, M., Hartung, M., Stahl, A. — Distribution of fibrillar centres and silver-stained components in the nucleolus of human Sertoli cells. *Biol. Cell.*, 56: 189-206, 1984.

Dixon, J.S. — Nuclear bodies in normal and chromatolytic sympathetic neurons. *Anat. Res.*, 168: 179-185, 1970.

Doyle, D.G. — The origin of nuclear bodies of the undifferentiated epithelial cells of the equine small intestine. *Am. J. Anat.*, 157: 61-70, 1980.

Dupuy-Coin, A.M., Kalifat, S.R., Bouteille, M. — Nuclear bodies as proteinaceous structure containing ribonucleoproteins. *J. Ultrastruct. Res.*, 38: 174-187, 1972.

Duquene, L., Soukias, Y., Dehaye, J.P., Dourov, N. — Etude ultrastructurale des noyaux de la parotide du rat. *Bull. Group. Int. Rech. Sci. Odontol.*, 31: 219, 1988.

- Duquene, L., Soukias, Y., Dourov, N.** — Ultrastructural study of the nuclear bodies in striated ducts of rat parotid gland. *J. of Dent. Res.*, 68: 629, 1989.
- Fakan, D., Hernandez-Verdun, D.** — The nucleolus and the nucleolar organizer regions. *Biol. of the Cell.*, 56: 189-206, 1986.
- Fitzgerald, M., Padykula, H.A.** — Differing functional responses of simple and complex nuclear bodies in uterine luminal epithelial cells following estrogenic stimuli. *Anat. Rec.*, 205: 131-141, 1983.
- Fournier, J.G., Bouteille, M.** — Sur un modèle expérimental d'étude des encéphalites virales. *Arch. Anat. Cytol. Pathol.*, 27: 148-152, 1979.
- Ghadially, F.N.** — Ultrastructural Pathology of the Cell and Matrix, 2^e ed. London Butterworths, 1982.
- Goessens, G., Lepoint, A.** — The nucleolus-organizer regions (NOR's): recent data and hypotheses. *Biol. Cell.*, 35: 211-220, 1979.
- Goessens, G.** — Nucleolar structure. *Int. Rev. Cytol.*, 87: 107-158, 1984.
- Hernandez-Verdun, D., Derenzini, M.** — Non-nucleosomal configuration of chromatin in nucleolar organizer region of chromatin in metaphase chromosomes in situ. *Eur. J. Cell Biol.*, 31: 360-365, 1983.
- Hernandez-Verdun, D.** — Structural organization of the nucleolus in mammalian cells. *Meth. Arch. Exp. Pathol.*, 12: 26-62, 1986.
- Hinglais-Guillaud, N., Moricard R., Bernhard, W.** — Ultrastructure des cancers pavimenteux invasifs du col utérin chez la femme. *Bull. Canc.*, 48: 283-316, 1961.
- Jordan, E.G., Mc Govern, J.H.** — The quantitative relationship of the fibrillar centers and other nucleolar component to changes in growth conditions, serum deprivation and low doses of actinomycin D in cultured human fibroblasts (strain MRC-5). *J. Cell Sci.*, 52: 373-389, 1981.
- Kierszenbaum, A.L.** — Relationship between nucleolus and nucleolar bodies in human mixed salivary tumors. *J. Ultrastruct.*, 29: 459-464, 1969.
- Kistler, G.S.** — Cytoplasmic tubuloreticular complexes and nuclear bodies in cells of rubella-infected human embryos and fetuses (author's transl.). *Beitr. Pathol.*, 155: 101-138, 1975.
- Krishan, A., Uzman, B.G., Hedley-Whyte, E.T.** — Nuclear bodies: a component of cell nuclei in hamster tissues and human tumors. *J. Ultrastruct. Res.*, 19: 563-572, 1967.
- Le Goascogne, C., Baulieu, E.E.** — Hormonally controlled «nuclear bodies» during the development of the prepuberal rat uterus. *Biol. Cell*, 30: 195-206, 1977.
- Levine, S., Sowinski, R., Hoenig, E.M.** — Nuclear bodies produced in astrocytes by tilorone. *Am. J. Pathol.*, 78: 319-332, 1975.
- Medina, F.S., Risueno, M.C., Sanchez-Pina, M.A., Fernandez-Gomez, M.E.** — A study on nucleolar silver staining in plant cells. The role of argyrophilic proteins in nucleolar physiology. *Chromosoma*, 88: 149-155, 1983.
- Mirre, C., Stahl, A.** — Peripheral RNA synthesis of fibrillar center in nucleoli of Japanese quail oocytes and somatic cells. *J. Ultrastruct. Res.*, 64: 377-387, 1978.
- Moreno Diaz de la Espina, S., Medina, F.J., Risueno, M.C.** — Correlation of nucleolar vacuolation in plant cells. *Eur. J. Cell Biol.*, 22: 724-729, 1980.
- Padykula, H.A., Fitzgerald, M., Clark, J.H., Hardin, J.W.** — Nuclear bodies as structural indicators of estrogenic stimulation in uterine luminal epithelial cells. *Anat. Rec.*, 201: 679-696, 1981.
- Patrizi, G., Middelkamp, J.N.** — In vivo and in vitro demonstration of nuclear bodies in vaccinia infected cells. *J. Ultrastruct. Res.*, 28: 275-287, 1969.
- Ploton, D., Menager, M., Adnet, J.S.** — Simultaneous ultrastructural localization of Ag-NOR (Nucleolar Organizer Region) proteins and ribonucleoproteins during mitosis in human breast cancerous tissues. *J. Cell Sci.*, 74: 239-256, 1985.
- Puvion, E., Moyne, G.** — In situ localization of RNA structures. In: Busch, H.: *The Cell Nucleus*. London, Acad. Press, 8: 55-109, 1981.
- Puvion-Dutilleul, F., Pedrom, J., Laithier, M., Sheldrick, P.** — Ultrastructural studies on the nucleus of herpes simplex virus type I-infected cells. *Biol. Cell*, 44: 249-260, 1982.
- Radoux, D., Goessens, G., Simar, L.J.** — Nuclear bodies in mouse lymphoid cells stimulated by lipopolysaccharides. *Eur. J. Cell Biol.*, 34: 193-205, 1984.
- Reid, I.M.** — Nuclear bodies in bovine mammary gland in different physiological states. *Exp. Cell Res.*, 78: 25-30, 1973.
- Rué, G., Bierne, J.** — Structural and functional relationship between nuclear bodies and the nucleolus-DNA body complex in the oocyte of amphiporus lactiploreus. *Cell Differentiation and Development*, 25: 11, 1988.
- Schulze, C.** — Giant nuclear bodies (spheridia) in Sertoli cells of patients with testicular tumors. *J. Ultrastruct. Res.*, 67: 267-275, 1979.
- Seite, R.** — Etude ultrastructurale de divers types d'inclusions nucléaires dans les neurones sympathiques du chat. *J. Ultrastruct. Res.*, 30: 152-165, 1970.