

EFFETS DE L'IRRADIATION GAMMA SUR LES CELLULES MESENCEPHALIQUES ET STRIATALES EN CULTURE

H. COFFIGNY*, M. BEAUVALLET*, L. COURT **

* Commissariat à l'Energie Atomique DSV/ DPTE/ STCE/ LRT
BP n°12 91680 Bruyères le Châtel France

** Centre de Recherche du Service de Santé des Armées, BP 87
F37702 La Tronche France

GAMMA IRRADIATION EFFECTS ON MESENCEPHALIC AND STRIATAL NERVE CELLS IN CULTURE

ABSTRACT

Isolated rat mesencephalic and striatal nerve cells were gamma irradiated and cultured during 3 days. Significant increase mortality and neurite length reduction were observed with as little as 0.5 and 0.25 Gy respectively. The dopamine up-take in mesencephalic cells and the GABA up-take in cells of both structures were significantly decreased with 0.25 Gy and more deeply with higher doses. This study gave a threshold value with functions of living cells as target and established dose-effect relationships.

INTRODUCTION

Des embryons et des fœtus humains âgés de 8 à 15 semaines exposés aux radiations émises lors des explosions d'Hiroshima et de Nagasaki présentaient une microcéphalie et des retards mentaux dans l'enfance et leur nombre augmentait avec les doses croissantes reçues (Otake and Schull, 1984). Pour les faibles doses (inférieures à 0,5 Gy), le problème de l'existence d'un seuil est posé.

Pour aborder ce point, nous avons utilisé un modèle de cellules nerveuses de rat en culture. Plus particulièrement, nous avons étudié les effets de l'irradiation sur les cellules mésencéphaliques, principalement les cellules de la substance noire, ainsi que sur les cellules du striatum (Coffigny and al., 1990). Ces deux structures sont en relation étroite sur le plan fonctionnel.

Trois paramètres sont étudiés sur ces cellules en culture:

- la mort des cellules nerveuses
- la croissance des neurites
- la capture de dopamine (DA) et d'acide gamma-amino-butérique (GABA).

MATERIEL ET METHODES

La substance noire et le striatum sont prélevés sur des fœtus de rat à 14 jours de gestation. Les cellules nerveuses sont isolées mécaniquement par passages répétés dans une pipette Pasteur à bout rodé à la flamme. Dans une étude préparatoire, nous avons déterminé la concentration cellulaire à ensemercer. Elle est de $4 \cdot 10^4$ cellules/cm² pour mesurer la létalité cellulaire et la croissance des neurites et de $2 \cdot 10^5$ cellules/cm²

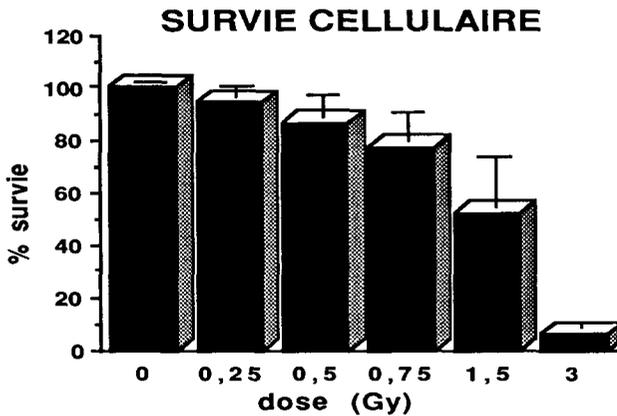
pour mesurer la capture de neurotransmetteurs.

Juste après la séparation, les cellules sont soit pseudo-irradiées soit irradiées avec une source de ^{60}Co aux doses de 0,25; 0,50; 0,75; 1,5 et 3 Gy. Elles sont alors mise en culture dans un milieu sans serum pendant trois jours. A ce stade, la survie des cellules nerveuses est estimée par l'exclusion du bleu trypan; le plus long prolongement "axonal" est mesuré sur des microphotographies des cultures cellulaires de striatum; la capture de DA est déterminée sur des cellules mésencéphaliques et celle du GABA sur les deux types cellulaires.

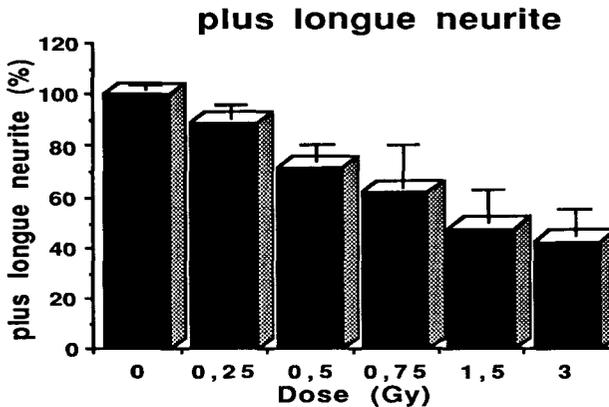
Tous les résultats sont exprimés en pourcentage de la valeur témoin.

RESULTATS

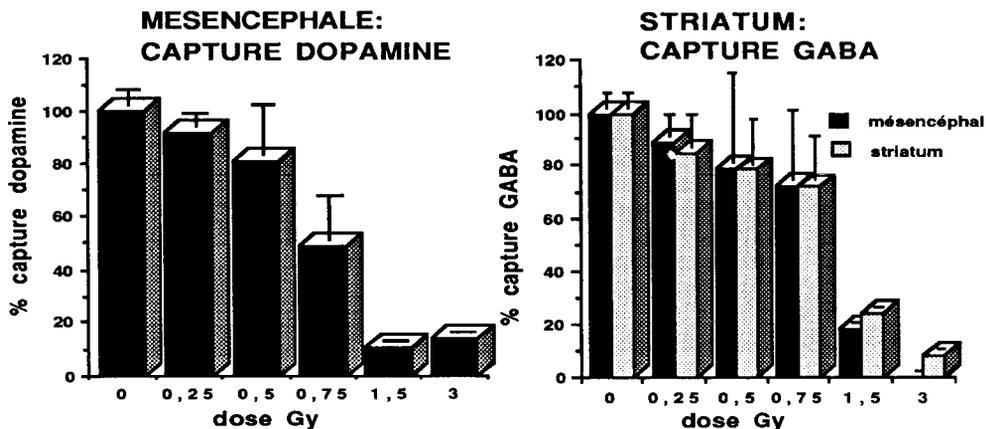
Le pourcentage de cellules vivantes décroît significativement après une exposition de 0,5 Gy et au-delà (figure 1).



Le plus long prolongement des cellules nerveuses est réduit dès la dose de 0,25 Gy (figure 2).



La capture de dopamine par les cellules mésencéphaliques et la capture de GABA par les cellules des 2 structures décroissent significativement avec 0,25 Gy et plus (figure 3 et 3').



Pour tous les paramètres, l'effet est dépendant de la dose.

DISCUSSION

Chez les fœtus de souris, dès 0,1 Gy des perturbations de la migration neuronale (Kamayema, 1986) et des modifications de l'alignement des dendrites dans le cortex (Konermann, 1986) sont observés chez l'animal devenu adulte. Cependant, ces effets ne sont bien établis qu'avec 0,2 Gy. Nos résultats semblent donc confirmer qu'il y a un seuil aux environs de 0,2 Gy pour provoquer un effet mesurable après irradiation. Dans l'étude de la survie cellulaire, les cellules striatales sont un peu plus radiorésistantes que les cellules mésencéphaliques. Par contre, lorsque la capture de GABA est le paramètre étudié, les cellules des deux structures ont la même radiosensibilité.

Cette étude associant le test classique de la survie cellulaire à des phénomènes de croissance et de fonction des cellules nerveuses permet d'apprécier la radiosensibilité cellulaire sur différents aspects. Ce type de travail est également développé par l'équipe suédoise de Walinder (Int. J. Radiat. Biol. sous presse) avec des cellules nerveuses cultivées sous forme de sphéroïdes. Cependant, aucun travail sur les effets de l'irradiation sur des cellules nerveuses en culture n'a encore été publié.

Conclusion

La mise au point de ce modèle d'étude in vitro des cellules nerveuses a permis de déterminer un seuil d'effet de l'irradiation gamma à moins de 0,25 Gy. Ce seuil est déterminé à l'aide de paramètres morphologiques et fonctionnels complétant ainsi les études histologiques classiques des autres auteurs. Pour des doses d'irradiation plus fortes l'effet sur ces paramètres est dépendant de la dose reçue.

Cette étude se prolongera par la mesure de la survie

cellulaire et de la croissance des neurites des cellules dopaminergiques et gabaergiques identifiées par immunohistochimie. Ceci permettra de définir si ces deux populations cellulaires sont plus ou moins sensibles à l'irradiation que l'ensemble des cellules nerveuses et donc de savoir si la réduction de la capture est liée à une réduction du nombre des cellules spécifiques ou à une modification de l'affinité des récepteurs et/ou de leur nombre.

REFERENCES

1- Coffigny H., Beauvallet M. and Court L. 1990, Irradiation effects on mesencephalic and striatal nerve cells in culture. 23rd Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology. Dublin, Ireland, september 24-26.

2- Kameyama y. and Hoshino K. 1986, Sensitive Phases of CNS Development. p.75-92 In "Radiation Risks to the Developing Nervous System", (H. Kriegel et al., eds.). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.

3- Konermann G. 1986, Brain Development in Mice After Prenatal Irradiation: Modes of Effect Manifestation; Dose-Response-Relationships and the RBE of Neutrons. p.93-116 In "Radiation Risks to the Developing Nervous System", (H. Kriegel et al., eds.). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.

4- Otake M. and Schull W. 1984, *In utero* exposure to A-bomb radiation and mental retardation: a reassessment. Br. J. Radiol., 57, 409-414.