

## Physiologie cellulaire

M. François MOREL, professeur

Le cours de Physiologie cellulaire a porté, cette année, sur le mécanisme de transport actif des sucres à travers les membranes biologiques. Le choix de ce sujet a été motivé par les considérations générales suivantes : les hydrates de carbone, on le sait, représentent un substrat métabolique indispensable et universel pour pratiquement toutes les cellules animales ; mais, dans le cas des procaryotes, la nature des sucres disponibles dans le milieu externe est souvent variable en fonction des conditions, et leur concentration y est parfois très basse ; aussi des microorganismes, telles les bactéries ou les levures, doivent-ils être capables, d'une part d'accumuler ces substrats dans le milieu intracellulaire pour y réaliser les concentrations requises par les réactions enzymatiques commandant leur utilisation, d'autre part d'adapter leur capacité d'accumulation et de métabolisme à la nature des sucres présents dans le milieu externe. Au contraire, les cellules des organismes les plus évolués, comme les mammifères, sont placées au contact d'un milieu, le milieu intérieur, dans lequel la concentration du glucose est élevée et maintenue constante par des mécanismes homéostatiques précis. Pour ces cellules donc, l'approvisionnement en substrats hydrocarbonés n'implique *a priori* ni la présence de mécanisme d'accumulation intracellulaire contre un gradient chimique, ni la nécessité d'adaptation aux espèces chimiques disponibles que l'on rencontre chez les bactéries ; deux types cellulaires, cependant, possèdent chez les mammifères des propriétés particulières à cet égard, qui sont liées à leur fonction physiologique propre : les cellules épithéliales du tube digestif, d'abord, qui absorbent spécifiquement les mono- et disaccharides libérés dans l'intestin par l'hydrolyse enzymatique de l'amidon et du glycogène ; les cellules épithéliales du tubule rénal ensuite, qui récupèrent dans l'urine primitive les substrats organiques riches en énergie qui ont passivement traversé le filtre glomérulaire. Les cellules de ces deux organes ont une polarité fonctionnelle qui leur permet de réaliser un transport transépithélial de glucose intense, et non pas seulement d'assurer leurs propres besoins métaboliques ; à cette différenciation particulière correspond la présence d'une membrane cellulaire apicale extraordinairement digitée (bordure en brosse).

D'un point de vue physico-chimique, la pénétration des sucres à travers les membranes cellulaires ne saurait se produire par diffusion simple, même lorsqu'elle s'effectue dans le sens du gradient de concentration chimique : en effet, dans son ensemble, la phase membranaire est hydrophobe, tandis que les sucres sont des composés essentiellement polaires et hydrophiles en raison du nombre élevé de groupes hydroxyles de leur molécule. On admet donc que la perméation des sucres à travers la membrane se produit en des sites particuliers, en nombre limité, et comporte une interaction spécifique avec des protéines membranaires ; ceci est d'ailleurs attesté par l'observation amplement confirmée sur tous les systèmes étudiés que le flux de transport est non pas proportionnel mais saturable en fonction de la concentration du substrat, et aussi que certains sucres analogues, mais non d'autres, se comportent comme des inhibiteurs compétitifs. Enfin, on admet généralement que le transport est passif et s'effectue par un processus de « diffusion facilitée » lorsque le système ne possède pas la capacité de réaliser un gradient de concentration ; au contraire, un « transport actif » est nécessairement en cause chaque fois que le flux net se produit contre le gradient chimique. Dans ce dernier cas, bien entendu, l'étude de la nature du couplage énergétique impliqué constitue un problème d'un grand intérêt biologique.

\*\*

En fonction de ces données générales, le cours a ensuite plus particulièrement porté sur la discussion critique des problèmes suivants, posés par les mécanismes de transport actif des sucres : a) structure stéréochimique des sucres en rapport avec leur affinité pour les systèmes de transport ; b) nature possible du couplage énergétique impliqué dans le transport actif ; et c) aspects moléculaires des systèmes de transport (pour autant qu'ils commencent à être connus). Deux types de systèmes, particulièrement étudiés, ont été pris comme exemples : les bactéries, d'une part, les cellules intestinales des mammifères d'autre part.

Chez les bactéries, on sait que plusieurs systèmes de transport des sucres ont été mis en évidence, dont l'étude est aujourd'hui très avancée grâce aux extraordinaires possibilités expérimentales que procure, chez ces organismes, l'association de méthodes biochimiques et de méthodes génétiques. Un premier système de transport des sucres est celui dit de la « phosphorylation vectorielle » ; les substrats de ce système sont, pour les hexoses, des pyranosides ayant une configuration D. La translocation du sucre à travers la membrane est associée à sa phosphorylation sur le carbone 6 ; le système comporte plusieurs protéines spécifiques et deux réactions séquentielles, l'une cytoplasmique, l'autre membranaire ; dans un premier temps, une protéine soluble transporteuse de  $P_i$  (la protéine  $HP_1$ ) est phosphorylée en présence d'un enzyme  $E_1$ .

Dans un deuxième temps, la protéine  $HP_1$  phosphoryle à son tour le sucre transporté, et cette réaction est catalysée par un deuxième enzyme,  $E_2$ , qui, lui, est membranaire et spécifique du sucre ;  $E_2$  comporte des sous-unités dont les propriétés ont été précisées. Ce système est d'ailleurs dans son ensemble bien connu, tant sur le plan biochimique que génétique. Sur le plan de son fonctionnement, par contre, certains problèmes restent à résoudre, notamment celui du mécanisme moléculaire de translocation du sucre ; quels sont, dans la membrane, les facteurs d'asymétrie qui permettent, d'une part la phosphorylation préférentielle des molécules de substrat en provenance du milieu externe, ou encore la libération du sucre phosphorylé vers l'intérieur ? Il faut, de plus, souligner que ce système réalise une réaction covalente couplée à un transport et non un transport actif du type habituel, dans lequel le substrat se retrouve non modifié ; mais, comme certains l'ont proposé, n'existait-il pas dans la nature des cas où un transport actif de sucre puisse résulter d'une phosphorylation vectorielle suivie de déphosphorylation du substrat ? Il est remarquable, en tout cas, qu'un mode de pénétration des sucres comportant leur phosphorylation dans la membrane ait été découvert chez les bactéries alors que la possibilité de ce type de réaction dans les membranes des cellules de mammifères n'est plus guère envisagée aujourd'hui.

\*\*

Le deuxième système de transport des sucres chez les bactéries qui fut ensuite rapidement considéré est celui de la perméase au lactose et aux  $\beta$ -galactosides. On sait que ce système présente les caractéristiques d'un transport actif dans les conditions normales chez la bactérie induite, et les caractéristiques d'une diffusion facilitées en l'absence d'énergie métabolique disponible. On sait aussi qu'une protéine membranaire a pu être extraite et caractérisée à partir de *Coli* dont la lactose perméase avait été induite ; que cette protéine  $M$  soit en rapport avec le système de transport est suggéré par les conditions-mêmes utilisées pour sa mise en évidence, à savoir, la protection par les substrats transportés (ou au moins certains d'entre eux) de groupes  $SH$  sinon accessibles à des agents blocants spécifiques. Mais, dans ce système de transport, le rôle exact de la protéine  $M$ , de même que le mécanisme de translocation du substrat à travers la membrane et le mode de couplage énergétique, restent à préciser.

\*\*

Enfin, la présence dans l'espace périmembranaire de diverses bactéries, de protéines liantes spécifiques a été évoquée en raison du rôle possible de certaines d'entre elles dans le transport des sucres. C'est ainsi qu'une protéine

périmembranaire soluble liant spécifiquement, et avec une très haute efficacité, le galactose (et le glucose) à l'exclusion des autres sucres, a été isolée et caractérisée chez *E. Coli*. Divers arguments d'ordre génétique indiquent que cette protéine pourrait être impliquée dans le transport du galactose, mais selon des mécanismes qui restent à comprendre ; il est également établi qu'elle joue un rôle déterminant dans l'initiation du comportement chimiotactique des bactéries en présence, dans le milieu, d'un gradient de concentration de galactose agissant comme attractant spécifique. Les propriétés de cette protéine et surtout son affinité remarquable pour le galactose suggèrent qu'elle pourrait contribuer au transport en facilitant l'accès du substrat aux sites membranaires responsables de la translocation active.

Il ressort de cette analyse que les mécanismes de transport des sucres chez les bactéries doivent être envisagés comme des systèmes complexes, mettant en jeu de façon complémentaire et coordonnée plusieurs protéines spécifiques différentes, et non comme un simple transporteur liant spécifiquement le substrat et mobile dans la phase de la membrane.

\*\*

Le reste du cours a été consacré à la discussion des mécanismes de transport des sucres par les cellules intestinales des mammifères. Plusieurs aspects ont été développés. Il a d'abord été rappelé que la spécificité de structure requise pour le transport (spécificité de Crane) comporte, avant tout : la structure pyranoside ; un hydroxyle en  $C_2$  dans la configuration du D-Glucose, et la présence d'au moins deux Hydroxyles supplémentaires dans les positions  $C_1$ ,  $C_3$ ,  $C_4$  ou  $C_6$  ; cette spécificité est donc différente de celle de l'hexokinase, de sorte que des sucres comme le galactose ou le 3-0-méthylglucose sont transportés et non métabolisés par les cellules intestinales, alors que le mannose, au contraire, y est métabolisé mais non transporté ; ce type de dissociation a été mis à profit sur le plan expérimental. Signalons qu'il a été plus récemment mis en évidence que le L-glucose est également un sucre transporté, bien qu'avec une faible affinité ; ceci confirme d'ailleurs le modèle, puisque les deux isomères optiques du glucose, dans leur conformation « chaire », possèdent tout deux un  $-OH$  pointant dans la même direction sur le carbone qui correspond au  $C_2$  du D-glucose. Signalons aussi que le 6-Deoxy-L-galactose, bien que non transporté, se comporte comme un inhibiteur compétitif des sucres transportés, ce qui indique que le processus de transport comporte au moins deux étapes qui peuvent être dissociées : une interaction stéréospécifique avec une ou des protéines de la membrane d'une part, le processus de translocation proprement dit d'autre part ; de plus, les exigences stériques pour ces deux étapes ne sont pas les mêmes. Il est en

général admis que l'interaction entre le substrat et son transporteur implique la formation de plusieurs liaisons hydrogènes intéressant les hydroxyles de la molécule du sucre. Il a même été envisagé que l'hydroxyle en position C<sub>2</sub>, et dont la présence est particulièrement critique, pourrait contracter une liaison covalente avec la molécule du transporteur (formation d'une liaison ester avec un carboxyle esterifié du transporteur, activée en présence d'ions Na<sup>+</sup> et requise pour le transport). Il faut bien préciser que les exigences stéréochimiques qui précèdent concernent la pénétration active des sucres dans les cellules intestinales à travers leur face apicale (à travers la bordure en brosse) à partir du milieu intestinal. Il est probable que la spécificité est différente pour l'autre face cellulaire, comme elle l'est aussi, d'ailleurs, pour la face apicale des cellules tubulaires du rein où la spécificité de Crane n'a pas été retrouvée.



La pénétration des sucres par la face apicale des cellules intestinales s'effectue nécessairement grâce à un mécanisme de transport actif, puisque certains sucres non métabolisables peuvent être concentrés plus de dix fois dans le milieu intracellulaire. Le problème du couplage énergétique responsable de cette composante active a fait l'objet d'un grand nombre de spéculations et d'hypothèses qui ont été discutées au cours, et dont nous ne résumerons que la plus séduisante, qui est d'ailleurs également la mieux étayée expérimentalement. C'est la théorie dite du « gradient de sodium ». Elle repose sur les observations suivantes : 1) le transport de sodium est aboli, ou tout au moins sa composante active supprimée, lorsque le milieu extracellulaire ne contient pas de sodium ; 2) l'adjonction de sodium en concentrations variées stimule le transport de sucre soit en augmentant l'affinité apparente du sucre pour le transporteur, soit en augmentant le V<sub>max</sub> du transport, selon les systèmes biologiques étudiés ; 3) l'influx entrant de sucre, sur certains systèmes au moins, inhibe le flux sortant de sucre ; dans ces cas, l'augmentation de la concentration du sodium intracellulaire entraîne une transinhibition du flux entrant ; 4) réciproquement, l'augmentation de la concentration du substrat organique entraîne une augmentation du flux de sodium ; une stoechiométrie de 1 pour 1 entre sucre et sodium a pu être mesurée dans quelques cas ; 5) d'une façon générale, la membrane se comporte de manière entièrement symétrique et réversible vis-à-vis du transport de sucre et du flux de sodium qui lui est associé ; enfin 6) les inhibiteurs métaboliques qui bloquent le transport actif de sodium (directement ou indirectement) font perdre aux cellules leur capacité d'accumuler les sucres transportés. Tous ces faits deviennent explicables si l'on admet deux hypothèses essentielles. D'abord, que le transport est assuré par un « transporteur mobile » de la membrane, c'est-à-dire par un complexe moléculaire susceptible de lier spécifiquement le

sucre par un ou des sites mis alternativement en contact avec les milieux intra- et extracellulaires. Ensuite, que le transporteur est également capable de lier des ions sodium, cette interaction entraînant soit une augmentation d'affinité pour le sucre, soit une augmentation de mobilité du transporteur (soit l'un et l'autre). L'étude théorique d'un tel modèle montre que ses propriétés cinétiques doivent être très différentes selon que la fixation du sodium au transporteur accroît son affinité pour le sucre ou augmente sa mobilité ; dans le premier cas, bien évidemment, le  $V_{\max}$  du transport n'est pas affecté mais son affinité pour le sucre est accrue ; dans le deuxième cas, au contraire, le  $V_{\max}$ , qui a le processus de translocation comme facteur limitant, est augmenté par la présence du sodium ; en outre, dans ce cas, la répartition du transporteur de part et d'autre de la membrane doit dépendre des concentrations respectives de sodium (et de sucre) dans ces deux milieux, et des effets de transinhibition (ou de transstimulation, selon les conditions) directe et croisée des flux des deux espèces chimiques sont prévisibles. Dans la situation physiologique où se trouve placée la membrane apicale des cellules épithéliales intestinales, une asymétrie fonctionnelle existe, en ce sens que le milieu intracellulaire contient beaucoup moins de sodium que le milieu externe. Ce gradient de concentration est assuré et maintenu par le mécanisme de transport actif de sodium qui existe sur les faces latérales et basales des cellules ; c'est ce gradient qui fournirait le potentiel électrochimique nécessaire au transport actif du sucre via le mécanisme moléculaire (hypothétique) décrit ci-dessus. L'hypothèse est séduisante non seulement parce qu'elle rend compte de façon simple de nombreux faits expérimentaux, mais aussi parce qu'elle confère au transport actif de sodium (pourtant localisé, ici, dans une autre membrane que celle qui transporte le glucose) un rôle déterminant. Il reste que ce schéma appartiendra au domaine, malheureusement bien vaste, des hypothèses, tant qu'il n'aura pas été possible de vérifier, à l'aide de preuves biochimiques contraignantes, l'existence dans la membrane des bordures en brosse d'une protéine (ou de protéines) transporteuse possédant tout à la fois les affinités escomptées pour les molécules de sucre et les ions Na. Jusqu'ici, les tentatives faites pour mettre en évidence directement une telle molécule, bien qu'encourageantes, ne sont cependant pas suffisamment formelles pour constituer ces preuves.

#### SÉMINAIRES

1. M. Cl. GARY-BOBO, sous-directeur de laboratoire au Collège de France, *Diffusion des non électrolytes dans des systèmes lécithine-eau* ;
2. M. Cl. GARY-BOBO, sous-directeur de laboratoire au Collège de France, *Perméabilité de la vessie des amphibiens pour l'eau* ;

3. M<sup>lle</sup> F. BASTIDE, chargée de recherche au C.N.R.S., *Conceptions actuelles sur le mode de fonctionnement de l'ATPase Na-K dépendante* ;
4. M. G. LEBLANC, ingénieur au C.E.A., *Perméabilité de la face apicale des cellules épithéliales des amphibiens pour les cations alcalins* ;
5. M. Ph. MEYER, maître de recherche à l'I.N.S.E.R.M., *Interaction de l'angiotensine et du calcium avec les fractions membranaires du muscle lisse aortique de lapin* ;
6. M. A. KEPES, directeur de recherche au C.N.R.S., *Transport des sucres et protéines liantes chez les bactéries* ;
7. M. R. MOTAIS, professeur à la Faculté des Sciences de Nice, *Perméabilité cationique de la membrane des hématies de bœuf* ;
- 8) M. A. RAMBOURG, ingénieur au C.E.A., *Renouvellement des glycoprotéines membranaires*.

#### TRAVAUX DU LABORATOIRE

Au cours du mois de mars 1972, l'équipe de recherche animée par M. M. JUTISZ, directeur de recherches au C.N.R.S., a quitté le Laboratoire de Physiologie cellulaire qui l'hébergeait, pour s'implanter dans des locaux mis à sa disposition par le C.N.R.S. à Gif-sur-Yvette. Ceci a permis d'installer au Collège de France un petit groupe de Physiologie rénale, dont l'activité de recherche démarre. D'autre part, le laboratoire héberge toujours deux anciens collaborateurs du professeur COURRIER, MM. ASCHHEIM et CEHOVIC, maîtres de recherche au C.N.R.S.

Les travaux poursuivis par les chercheurs du Laboratoire de Physiologie cellulaire proprement dit ont porté sur les aspects physicochimiques, biochimiques et physiologiques touchant des systèmes cellulaires complets *in vitro*, ou des fractions membranaires isolées.

\*\*

#### *Physiologie cellulaire*

Les recherches physicochimiques sur les processus de diffusion dans les systèmes phospholipides-eau mesomorphes, modèles de membranes biologiques, se sont poursuivies. On a ainsi pu montrer que la diffusion de l'eau et des non électrolytes hydrophiles dans les phases lamellaires lécithine-eau et lécithine-cholestérol-eau dépend à la fois de l'épaisseur des couches d'eau dans la phase et de l'état d'organisation de cette eau autour des têtes polaires. L'étude

de la diffusion du benzène dans les feuilletts lipidiques a permis de confirmer et de préciser les études faites par spectroscopie. Des recherches conjointes sur ces phases par spectroscopie de résonnance de spin, effectuées en collaboration avec M. SAMSON et M. ПТАК du Laboratoire de Biophysique moléculaire d'Orléans-la-Source, ont permis de préciser les mécanismes de diffusion dans les feuilletts lipidiques et de laisser prévoir l'anisotropie de ces systèmes au point de vue diffusional.

En outre, la collaboration entre M. Cl. GARY-BOBO et le professeur A. K. SOLOMON sur l'étude de la perméabilité de la membrane des globules rouges (Biophysical Laboratory de l'Université Harvard de Boston) s'est poursuivie. Le D<sup>r</sup> Y. LANGE, du Biophysical Laboratory, a passé deux mois au laboratoire pour y mettre au point de nouvelles techniques de mesure de diffusion dans les phases lipides-eau, pour les rendre applicables à l'étude des lipides globulaires et tenter de relier la perméabilité globulaire pour les solutés liposolubles aux propriétés structurales de cette membrane.

\*

Les recherches de Physiologie cellulaire ont permis la mise en évidence de deux types de récepteurs adrénérgiques dans l'épithélium isolé de la peau des amphibiens : les récepteurs  $\beta$ , exerçant les mêmes actions que les peptides neurohypophysaires (augmentation de perméabilité à l'eau et stimulation du transport actif de sodium) ; les récepteurs  $\alpha$ , dont la stimulation produit une inhibition des effets biologiques des peptides neurohypophysaires.

La concentration intracellulaire d'AMP cyclique dans les cellules épithéliales de la peau a été mesurée. Les peptides neuro-hypophysaires et les catécholamines (effet  $\beta$ ) augmentent le contenu intracellulaire en AMP cyclique. Cette augmentation précède la réponse biologique ; elle est suivie d'un retour progressif vers la concentration de repos, alors que l'action biologique se maintient. L'inhibition observée pourrait traduire une régulation par *feed back* négatif de la production d'AMP cyclique ayant pour point de départ l'effet biologique terminal (stimulation du transport actif de  $\text{Na}^+$ ) ; en effet lorsque le transport actif de sodium est aboli par suppression des ions  $\text{Na}^+$  du milieu d'incubation, l'augmentation du contenu intracellulaire en AMPc provoquée par l'hormone est plus ample et surtout durable.

La stimulation adrénérgique  $\alpha$  ne produit aucune modification du contenu en AMPc intracellulaire, mais bloque l'augmentation induite par les peptides neurohypophysaires.

Un rôle de l'AMPc dans la réabsorption tubulaire rénale des ions phosphates a été mis en évidence. De très faibles augmentations de la concentration plas-

matique en AMPc (comparables à celles obtenues après injection de glucagon - ou produisant une charge tubulaire semblable à celle obtenue par injection de PTH) augmentent l'excrétion rénale de phosphates chez le rat thyro-parathyroïdectomisé. De tels résultats suggèrent la possibilité d'une régulation de la réabsorption tubulaire des phosphates par la concentration en AMPc du fluide intratubulaire.

\*

\*\*

Les études biochimiques du mécanisme d'action des hormones neurohypophysaires ont progressé. A l'aide d'ocytocine tritiée de haute radioactivité spécifique, il a été possible de mettre en évidence deux catégories de sites récepteurs des peptides neurohypophysaires sur l'épithélium de la peau de grenouille : 1) des sites de haute affinité pour l'ocytocine, présentant les caractères attendus de sites récepteurs impliqués dans l'initiation de la réponse biologique ; 2) des sites d'affinité plus faible et de capacité plus élevée, dont le rôle physiologique reste à définir.

Les principales propriétés du système adénylcyclasique des cellules épithéliales de la vessie et de la médullaire rénale du rein des mammifères ont été précisées.

Il a été possible de mettre en évidence une corrélation étroite entre la fixation d'ocytocine tritiée sur les fractions particulières d'homogenats de cellules épithéliales de vessie et l'activation de l'adénylcyclase.

Une étude du métabolisme de l'AMPc dans les cellules gliales en culture a été entreprise par M. S. JARD en collaboration avec M. P. BENDA du Laboratoire de Biologie moléculaire.

### *Endocrinologie*

L'étude des relations entre la structure chimique et l'activité biologique de la LH d'origine ovine et bovine a été poursuivie par M. JUTISZ et ses collaborateurs. La fraction glycopeptidique de la sous-unité LH- $\beta$  de ces deux origines a été isolée et purifiée et la séquence en aminoacides autour du point d'attache de la partie glucidique a été déterminée. Elle est analogue dans les deux hormones. Le problème de la séquence des constituants glucidiques de LH- $\beta$  ovine a été également abordé au moyen de l'oxydation périodique, et partiellement résolu.

Afin d'étudier l'importance de certains enchaînements peptidiques pour l'activité biologique, les deux sous-unités de LH ovine ont été traitées par le bromure de cyanogène. Ce traitement permet de couper la chaîne peptidique à l'endroit des résidus de méthionine. Ainsi un dodécapeptide interne a été supprimé dans le cas de LH- $\beta$  (LH- $\beta$ I) et un octapeptide N-terminal dans le

cas de LH- $\alpha$  (LH- $\alpha$ I). Après réassociation d'une sous-unité ainsi « mutilée » avec la sous-unité correspondante intacte, l'activité du dimère « mutilé » a été étudiée par le test de PARLOW et par le test utilisant le corps jaune de la ratte. Les « mutilations » du type cité ci-dessus ont peu ou pas d'influence sur l'activité biologique de ces dérivés de LH.

D'autre part, la cinétique de la synthèse de progestérone par le corps jaune de la ratte a été étudiée en présence de chacune des sous-unités intactes LH- $\alpha$  et LH- $\beta$ . Utilisées séparément, ces sous-unités stimulent la synthèse de la progestérone, mais leur action se manifeste beaucoup plus tardivement que celle de la LH native.

L'étude de la stéroïdogenèse dans le corps jaune a été entreprise sur le tissu humain. Il a été montré que l'HCG stimulait la synthèse de la progestérone dans le corps jaune humain par le même mécanisme que la LH ovine dans le corps jaune de la ratte.

Dans un autre domaine, un dosage radioimmunologique spécifique de FSH ovine dans le plasma a été mis au point et appliqué à la détermination de cette hormone chez la brebis au cours du cycle. D'autre part, en utilisant comme antigène l'hormone hypothalamique LH/FSH-RH (décapeptide) obtenue par synthèse, des immunsérums ont été obtenus chez le cobaye et utilisés pour le développement du dosage radioimmunologique de cette hormone, spécifique et sensible. Cette méthode a permis de suivre l'évolution de l'hormone hypothalamique dans le sang de la femme et de la brebis au cours du cycle.

En collaboration avec l'équipe de M<sup>me</sup> TIXIER-VIDAL, des sites cellulaires et subcellulaires responsables de la synthèse et du stockage de LH et FSH ont été identifiés dans l'hypophyse de rat au moyen de méthodes cytoimmunoenzymologiques.

\*\*

M. CEHOVIC est rentré d'un séjour prolongé aux Etats-Unis. Il a repris ses études pharmacologiques sur l'action relative de l'AMP cyclique et de certains de ses analogues de structure. Ceux-ci, synthétisés par T. H. POSTERNAK à Genève, ont été dosés en mesurant les stimulines libérées par l'hypophyse en survie *in vitro*.

\*\*

M. ASCHHEIM a poursuivi ses recherches sur le vieillissement de la fonction ovarienne chez la ratte sénile et son déterminisme neurohormonal.

### PROMOTIONS ET DIPLÔMES

M<sup>lle</sup> Martine IMBERT a été nommée maître-assistante au Collège de France et M<sup>lle</sup> Danielle CHABARDES a été recrutée au C.N.R.S. comme attachée de recherche ; M<sup>me</sup> Jacqueline PENIT a soutenu sa thèse de Médecine, M. Jean-Louis RIGAUD a soutenu sa thèse de doctorat de 3<sup>e</sup> Cycle et M<sup>lle</sup> Danielle ROCHE a passé un D.E.A.

### MISSIONS ET CONGRÈS

M. François MOREL a participé à la « International Conference on Biological Membranes » (Gargnano) en juin 1971 ; il a également participé, en juillet 1971, au XXV<sup>e</sup> Congrès international de Physiologie (Munich), ainsi qu'aux symposiums satellites sur l'aldostérone (Bâle) et la fonction rénale (Brestenberg). M. JARD et M<sup>me</sup> PENIT ont assisté au Symposium satellite sur l'AMP cyclique (Milan). En août 1971, M. JUTISZ et deux collaborateurs ont participé au VI<sup>e</sup> Congrès européen d'Endocrinologie comparée (Montpellier) ; de nombreux membres du laboratoire ont assisté au Symposium international sur les Hormones protéïques et polypeptidiques (Liège, septembre 1971). En octobre 1971, M. JUTISZ a présenté un rapport au VII<sup>e</sup> Congrès mondial de la Fertilité et la Stérilité (Tokyo).

M<sup>lle</sup> BASTIDE a passé une grande partie de l'année à l'Université de Vanderbilt à Nashville, U.S.A. ; M. GARY-BOBO a effectué un séjour à l'Université de Harvard et a participé en février 1972 à la XVI<sup>e</sup> réunion de la « Biophysical Society » (Toronto). M. MOREL a assisté à une réunion de travail sur « Recent Developments in Renal Micropuncture Techniques » à l'Université de Yale (novembre 1971) ; il a effectué une mission scientifique à l'Université de Rabat au titre de la coopération franco-marocaine (avril 1972) ; lui-même, ainsi que MM. JARD et GARY-BOBO, ont chacun présenté un rapport à la XI<sup>e</sup> réunion de la Société française de Microscopie électronique (Nantes, mai 1972). Enfin, plusieurs collaborateurs du laboratoire ont contribué à organiser ou ont participé aux colloques satellites du Symposium sur les Techniques radioimmunologiques tenu en mai 1972 à l'Hôpital Saint-Antoine à Paris. Une ou plusieurs communications sur les travaux du laboratoire ont en général été présentées à toutes ces diverses réunions.

### PUBLICATIONS

#### 1) *Physiologie cellulaire et rénale*

F. MOREL, *Cyclic AMP as a regulatory agent in transport systems (Fogarty International Center Proc., n° 4, 1971, p. 165-179).*

C. LE GRIMELLEC, N. ROINEL and F. MOREL, *Micropuncture study of magnesium tubular reabsorption in rats* (Proc. 25th Int. Cong. Physiol. Sci., Munich, 1971, Abstracts 9, p. 340).

F. MOREL, C. LE GRIMELLEC and N. ROINEL, *The correlation between the tubular transport of sodium and the transport of other ions* (Internat. Symp. on the Renal Handling of Sodium, Brestenberg, 1971, S. KARGER ed.).

J. BOCKAERT, M. IMBERT, S. JARD and F. MOREL, *Relation between binding to receptor sites and biological response, studied on frog skin epithelial cells using highly-labelled  $^3\text{H}$ -oxytocin* (2nd Internat. Symp. on Protein and Polypeptide Hormones, Liège, 1971).

N. CARASSO, P. FAVARD, S. JARD and R. RAJERISON, *The isolated frog skin epithelium. I. Preparation and general structure in different physiological states* (J. Microscopie, 10, p. 315-330, 1971).

F. MOREL and S. JARD, *Cyclic AMP and sodium transport in frog skin* (Annals New York Acad. Sci., 185, 1971, p. 351-363).

D. BUTLEN and S. JARD, *Renal handling of 3'-5'-cyclic AMP in the Rat : the possible role of luminal 3'-5'-cyclic AMP in the tubular reabsorption of phosphate* (Pflügers Arch., 331, p. 172-190, 1972).

R. RAJERISON, M. MONTEGUT, S. JARD and F. MOREL, *The isolated frog skin epithelium : permeability characteristics and responsiveness to oxytocin, cyclic AMP and theophylline* (Pflügers Arch., 332, p. 302-312, 1972).

— *The isolated frog skin epithelium : presence of  $\alpha$  and  $\beta$  adrenergic receptors regulating active sodium transport and water permeability* (Pflügers Arch., 332, p. 313-331, 1972).

Y. MURAYAMA, F. MOREL and C. LE GRIMELLEC, *Phosphate, calcium and magnesium transfers in proximal tubules and loops of Henle, as measured by single nephron microperfusion experiments in the Rat* (Pflügers Arch., 333, p. 1-16, 1972).

J. BOCKAERT, M. IMBERT, S. JARD and F. MOREL,  *$^3\text{H}$ -oxytocin binding sites in the isolated frog skin epithelium : relation to the physiological response* (Molecular Pharmacol., 8, p. 230-240, 1972).

S. JARD, J. BOCKAERT, M. BERNARD et F. MOREL, *Etude des récepteurs de l'ocytocine et de leurs relations avec l'adénylcyclase dans les cellules épithéliales d'amphibiens* (Symp. sur les Techniques radioimmunologiques, Paris, 1972).

R. I. SHA'AFI, C. M. GARY-BOBO and A. K. SOLOMON, *Permeability of red cell membranes to small hydrophilic solutes* (J. Gen. Physiol., 58, p. 238-258, 1971).

A. K. SOLOMON and C. M. GARY-BOBO, *Aqueous pores in lipid bilayers and red cell membranes* (*Biochim. Biophys. Acta*, 255, p. 1019-1021, 1971).

J.-L. RIGAUD, C. M. GARY-BOBO and Y. LANGE, *Diffusion processes in lipid-water lamellar phases* (*Biochim. Biophys. Acta*, 266, p. 72-84, 1972).

J.-L. RIGAUD, Y. LANGE, A. GOTTLIEB and C. M. GARY-BOBO, *Water diffusion in structured lipid-water systems* (*Comm. 16th Ann. Meeting Biophys. Sty.*, *Biophys. J.*, 12, p. 184a, 1972).

Y. LANGE, C. M. GARY-BOBO, J.-L. RIGAUD and A. K. SOLOMON, *Non-electrolyte diffusion in lecithin-water lamellar systems* (*Comm. 16th Ann. Meeting Biophys. Sty.*, *Biophys. J.*, 12, p. 184a, 1972).

C. M. GARY-BOBO, *Problèmes d'ultrafiltration macromoléculaire (Actualités néphrologiques de l'hôpital Necker*, Flammarion Edit., 1972, p. 109-111).

G. VASSENT, *Un modèle cinétique pour l'interprétation des interactions d'un récepteur avec plusieurs « ligands »* (*C. R. Acad. Sc. Paris*, t. 273, p. 113-116, 1971).

— *Un modèle cinétique pour l'interprétation des interactions d'un « ligand » avec une molécule cible « multi-sites »* (*C. R. Acad. Sc. Paris*, t. 273, p. 2161-2164, 1971).

## 2) Endocrinologie

B. KERDELHUE, M. BAILLY DU BOIS and M. JUTISZ, *A radioimmunoassay for ovine FSH* (in *Radioimmunoassay Methods. European Workshop*, K. E. Kirkham and W. M. Hunter, Ed. Churchill-Livingstone, Edinburgh 1970, p. 222-227).

M. THEOLEYRE and M. JUTISZ, *Studies on the state of human urinary FSH in a crude extract and on its purification* (in *Gonadotrophins and Ovarian Development*, W. R. Butt, A. C. Crocke and M. Ryle, Ed., Livingstone, Edinburgh and London, 1970, p. 57-69).

B. KERDELHUE, S. PITOULIS et M. JUTISZ, *Etude par radioimmunologie de la spécificité des immunsérums de l'hormone lutéinisante (LH) ovine et de ses sous-unités* (*C. R. Acad. Sc.*, 1971, 273, p. 511-514).

C. HERMIER, C. TERTRIN-CLARY, P. DE LA LLOSA et M. JUTISZ, *Action comparée de l'hormone lutéinisante (LH) ovine et de ses sous-unités sur la biosynthèse de la progestérone in vitro* (*C. R. Acad. Sc.*, 1971, 273, p. 966-969).

C. HERMIER, Y. COMBARNOUS and M. JUTISZ, *Role of a regulating protein and molecular oxygen in the mechanism of action of luteinizing hormone* (*Biochim. Biophys. Acta*, 1971, 244, p. 625-633).

C. TOUGARD, B. KERDELHUE, A. TIXIER-VIDAL et M. JUTISZ, *Localisation par cyto-immunoenzymologie de la LH, de ses sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ , et de la FSH dans l'hypophyse de la ratte castrée* (*C. R. Acad. Sc.*, 1971, 273, p. 897-900).

M. JUTISZ, B. KERDELHUE, A. BERAULT, J. PELLETIER et A. TIXIER-VIDAL, *Action in vitro du facteur hypothalamique de libération de l'hormone lutéinisante (LRF) sur l'antéhypophyse d'agnelle. I. Cinétique de l'excrétion de l'hormone lutéinisante LH* (*Gen. Comp. Endocrinol.*, 1971, 17, p. 22-32).

A. TIXIER-VIDAL, B. KERDELHUE, A. BERAULT, R. PICART et M. JUTISZ, *Action in vitro du facteur hypothalamique de libération de l'hormone lutéinisante (LRF) sur l'antéhypophyse d'agnelle. II. Etude ultrastructurale des tissus incubés* (*Gen. Comp. Endocrinol.*, 1971, 17, 33-59).

C. TERTRIN-CLARY, P. DE LA LLOSA, M. HURAUULT, C. COURTE et M. JUTISZ, *Quelques points de structure de l'hormone lutéinisante bovine. Comparaison avec l'hormone lutéinisante ovine* (*Biochim. Biophys. Acta*, 1972, 263, p. 115-124).

B. KERDELHUE, *Méthodes immunologiques de dosages hormonaux* (*Sciences*, Paris, 1970, 68, p. 68-69).

M. JUTISZ, *Les hormones hypothalamiques LRF et FRF contrôlant la sécrétion des gonadotropines adénohypophysaires* (*Compte rendu des Journées Gynécoendocrinologiques de l'Hôpital Necker*, A. Netter, 1971, p. 145-150).

M. ARIAS et P. ASCHHEIM, *Réponse à l'hormone gonadotrope chorionique (HCG) des cellules de déficience de l'interstitielle ovarienne chez la ratte impubère hypophysectomisée* (A paraître dans *Gen. and Comp. Endocrinol.*, 1972).

P. ASCHHEIM, *Un test biologique de vieillissement du contrôle du cycle oestral de la ratte* (A paraître dans *Gen. and Comp. Endocrinol.*, 1972).

— *Les effets de l'hémicastration en fonction du temps et de l'âge : contribution à l'étude de la régulation hypothalamique du cycle œstral chez la ratte vieillissante* (Réunions Neuro-Endocrinologues de Langue française, Strasbourg, 1971. Dans *Ann. d'Endocrinol.*, 32, 264, 1971).

— *Ageing in the hypothalamic-hypophyseal ovarian axis in the rat* (in *The Pituitary Gland in Relation to Ageing and the Diseases of old Age*, ed. par A. V. Everitt et J. A. Burgess chez C. Thomas, Springfield, U.S.A., sous presse).

— *La rétroaction ovarienne dans la régulation hypothalamique de la fonction gonadotrope LH de la ratte sénile* (*Colloques nationaux du C.N.R.S.*, n° 927 : *Neuroendocrinol.*, 363-376, 1970).