

Physiologie du développement

M. Alfred JOST, professeur

Le cours a été consacré aux « étapes de la sexualisation de l'organisme », en songeant surtout aux Mammifères et à l'Homme. Comme l'indique le titre même de cet enseignement, la sexualisation de l'organisme — qu'il s'agisse de caractéristiques anatomiques, physiologiques ou psychiques — se réalise progressivement et au cours de phases successives. Le sexe de l'état civil, reconnu à chaque individu à sa naissance d'après la conformation de ses organes génitaux externes, se présente comme un tout, implicitement tenu pour garant du passé et de l'avenir. En principe ce sexe est celui du sujet pour la vie, quelle que soit la constitution des autres organes non immédiatement apparents, la nature de ses chromosomes, ou quoi qu'il en pense. On a beaucoup parlé dans la presse, récemment, de ces sujets normalement conformés, qui n'acceptent pas leur identité sexuelle et opposent un refus psychologique à leur sexe organique. Ils vont parfois jusqu'à faire appel à la chirurgie correctrice et aux traitements hormonaux pour mimer l'anatomie et adopter le comportement du sexe opposé (transsexualisme). Cette transformation est considérée comme une mutilation et non comme un changement de sexe. L'instruction générale relative à l'état civil d'août 1970 prévoit qu'il peut y avoir des cas d'ambiguïté sexuelle au moment de la naissance, et même des cas exceptionnels où provisoirement le « sexe » du nouveau-né ne peut pas être reconnu du tout. Le texte ne définit pas ce qu'est le sexe d'un sujet, et tout en admettant qu'il peut y avoir des erreurs dans son diagnostic, il ne met pas en question la notion même du sexe, sous-entendant qu'il est nécessairement masculin ou féminin.

Pour le biologiste la définition du sexe d'un sujet n'est pas simple et comporte plusieurs éléments.

Le sexe est d'abord un caractère génétique fixé dès la fécondation, c'est-à-dire qu'il dépend de la transmission de certains gènes des parents au descendant (sexe génétique). Au cours de l'organogenèse, le sexe génétique se manifeste pour la première fois lorsque les glandes génitales peuvent être reconnues comme de futurs testicules ou de futurs ovaires (sexe gonadique). Ensuite le

testicule jouera le rôle essentiel dans la différenciation des diverses caractéristiques sexuelles (sexe corporel) ; il imposera à des étapes successives du développement la conformation et le mode de fonctionnement masculin sur des structures qui, sans cette action, se développeraient selon un programme féminin, indépendamment du sexe génétique. Le sexe d'un sujet normal résulte de l'accord et, en fait, de l'enchaînement causal du sexe génétique, du sexe gonadique et des nombreuses variables du sexe corporel.

En schématisant à l'extrême le développement sexuel, on peut le ramener à un petit nombre de problèmes : 1) comment l'information génétique est-elle transmise par les chromosomes, de combien de gènes relève-t-elle et quelles sont les possibilités de mutation ou d'erreur chromosomique ? 2) Comment se différencient les testicules, dont dépend l'existence même des mâles, et comment les ovaires se forment-ils chez les femelles ? Enfin 3) quelles sont les hormones testiculaires nécessaires à la réalisation des mâles et quand les hormones ovariennes interviennent-elles ; par suite de quel processus un tissu ou un organe devient-il, à son heure, un tissu sensible à ces hormones, un organe effecteur ?

*
**

On trouve l'histoire des premières hypothèses relatives à l'intervention des hétérochromosomes dans le déterminisme du sexe, et de la conception de Bridges sur le rôle de la balance entre le nombre des autosomes et des chromosomes X chez la *Drosophile* dans plusieurs ouvrages, par exemple dans le livre récent d'U. Mittwoch (*Genetics of Sex Differentiation*, 1973). Il faut rappeler que la théorie chromosomique de la détermination du sexe a été vérifiée de manière très claire chez des Batraciens en croisant des sujets dont le sexe avait été inversé (phénotype opposé au génotype) avec des sujets normaux, donc de même génotype, et en étudiant la descendance (Humphrey, Gallien, Witschi). Mais ces observations ne suffisent pas pour établir le rôle respectif des chromosomes X et Y. Les recherches faites simultanément sur l'homme et sur la souris, à partir de 1959, ont démontré le rôle particulier du chromosome Y dans la détermination du sexe masculin. On ne sait pas si le chromosome X porte un ou des gènes importants pour la réalisation du sexe féminin, ou si la seule absence de l'Y dans l'ensemble chromosomique mammalien suffit à permettre le développement féminin.

Pour ceux qui ont à étudier les données de la littérature relatives aux anomalies de l'appareil sexuel humain et à son contrôle génétique, il est bon de rappeler trois périodes : avant 1953, on ne savait pas reconnaître le sexe génétique ou chromosomique d'un sujet. En 1953, Moore, Graham et Barr

introduisent le test de la « chromatine sexuelle » en clinique et jusqu'en 1959-1960 beaucoup d'auteurs ont assimilé le résultat de ce test au sexe chromosomique ou au sexe génétique ; certains ont éventuellement et abusivement parlé « d'inversion du sexe ». En 1959 l'étude des chromosomes humains était devenue possible et on a décrit les chromosomes XXY d'un cas de syndrome de Klinefelter et les chromosomes XO dans un cas de syndrome de Turner. L'hypothèse que le chromosome Y doit jouer un rôle prédominant dans le déterminisme du sexe humain était présentée par Ford, Polani, Briggs et Bishop.

Chez la Souris, depuis la publication initiale de Welshons et Russel (1959), les études n'ont cessé de progresser. A l'aide de gènes « marqueurs » portés par les chromosomes X (par exemple le gène « tabby ») on a suivi ces chromosomes à travers les générations. Cette méthode a permis d'isoler les premières femelles XO et les premiers mâles XXY.

C'est aussi l'étude des souris femelles hétérozygotes pour des gènes de coloration liées au chromosome X qui devait conduire à la théorie de l'inactivation d'un chromosome X dans les cellules somatiques (Lyon, Russell, 1961) parce que ces animaux montraient des zones ou des taches dans lesquelles le gène s'exprime, à côté de zones où il est inexprimé. Cette conception a été vérifiée pour diverses lignées cellulaires et on a pu établir à quel moment du développement l'inactivation intervient (revue de Lyon, 1972). L'organisme mammalien vit en somme avec un seul X génétiquement actif dans la plupart de ses cellules, quel que soit son sexe.

Le sexe génétique peut être anormal, par suite soit de variations dans le nombre des hétérochromosomes, soit de variations géniques. En ce qui concerne le développement génital, des études portant sur des sujets XO ont été spécialement intéressantes. Dans l'espèce humaine la majorité des sujets présentant cette anomalie ont des gonades stériles et atrophiques. Mais il existe des cas intermédiaires entre la stérilité absolue, la persistance de quelques cellules germinales et la fécondité à l'état adulte. Chez l'embryon les ébauches des gonades contiennent des cellules germinales et ne montrent aucune tendance à se différencier en testicules, à l'âge où la différenciation testiculaire a lieu chez le mâle (cela résulte de l'absence d'Y). Ultérieurement les cellules germinales dégèrent avant que ne se différencient des follicules ovariens ; des follicules n'existeront dans les gonades que dans la mesure où subsistent des cellules germinales. (On verra plus loin le rôle des cellules germinales dans la différenciation de l'ovaire). Les souris XO se présentent comme des femelles fécondes, mais Lyon et Hawker ont montré récemment que leur période de fécondité est plus courte et le nombre de petits plus faible que chez les souris XX isogéniques. Cattanach suggérait, il y a quelques

mois, que la différence entre sujets XO dans l'espèce humaine et chez la souris est surtout une différence dans la date à laquelle disparaissent les cellules germinales.

Des sujets dont le caryotype comprend deux chromosomes X et qui présentent un phénotype masculin sont connus dans trois espèces : l'espèce humaine, la chèvre et la souris. Dans les trois cas les « mâles XX » ont des testicules qui sont stériles chez l'adulte parce que les cellules germinales présentes durant la vie prénatale, dégèrent précocement. Chez la chèvre l'anomalie est transmise par un gène autosomique récessif lié à un gène dominant pour l'absence de corne ; les animaux XX homozygotes aussi pour ce gène, ont des gonades intersexuées ou de structure testiculaire. Chez la souris, le gène autosomique Sxr d'inversion sexuelle découvert par Cattanach et ses collaborateurs est tel que les sujets XX, Sxr/+ se développent phénotypiquement comme des mâles dont les cellules germinales dégèrent en général rapidement après la naissance. Le gène Sxr peut être introduit dans le génome de souris XO, qui acquièrent alors un phénotype masculin ; dans leurs testicules les cellules germinales persistent et subissent la spermatogénèse.

Ces diverses observations suggèrent que les cellules germinales XX ne peuvent survivre dans un environnement testiculaire ; celles pourvues d'un seul X peuvent, chez la souris, évoluer en spermatozoïdes (mâles XO, Sxr/+) ou en ovocytes (femelles XO).

Enfin, durant ces dernières années, on a isolé des rats et des souris pourvus de chromosomes XY et différenciant des testicules, mais dont la morphologie externe est féminine. Ces animaux reproduisent le syndrome humain dit de « féminisation testiculaire ». Les souris Tfm/Y portant le gène de féminisation testiculaire sur le chromosome X ne répondent pas normalement aux androgènes et viennent de faire l'objet d'intéressantes études (voir plus loin).

Dans les conditions normales, le contrôle génétique du sexe des Mammifères s'opère par la répartition inégale des chromosomes X et Y. Cette différence qui marque toutes les cellules de l'organisme est souvent visible au microscope. Elle a aussi des conséquences immunologiques.

En pratiquant le test de la chromatine sexuelle sur quelques cellules prises sur des blastocystes de lapin, Gardner et Edwards (1968) ont réussi à reconnaître leur sexe nucléaire sur le vivant, avant l'implantation. En introduisant les blastocystes triés selon leur sexe dans des lapines différentes ils ont pu ainsi choisir le sexe de la descendance de chaque lapine. L'idée de choisir le sexe de l'enfant ou des petits chez les animaux domestiques a fait

rêver depuis longtemps. Parmi les raisons diverses invoquées pour justifier un tel désir, l'une est médicalement fondée, l'élimination de maladies liées au sexe.

Puisque les spermatozoïdes sont de deux types, selon qu'ils contiennent l'X ou l'Y, et puisque ces deux chromosomes sont souvent de taille très inégale, les deux sortes de spermatozoïdes devraient pouvoir être distingués et séparés. En fait les différences entre les deux types de spermatozoïdes sont faibles et ont été estimées à 3 ou 4 % en ce qui concerne le contenu en ADN, ou à 1 % pour le rayon de la tête ; ces différences peuvent entraîner une très faible inégalité dans la vitesse de nage ou de sédimentation. Sur le plan morphologique de telles différences disparaissent devant la variabilité individuelle de ces cellules. Dans l'espèce humaine le bras le plus long du chromosome Y devient fluorescent après traitement par la quinacrine et les cellules contenant un Y peuvent ainsi être reconnues même durant l'interphase. Malheureusement, il n'en est pas de même dans la plupart des autres espèces.

On ne voit pas immédiatement pourquoi les deux sortes de spermatozoïdes montreraient une sensibilité différente au pH du milieu vaginal (Shettles) ou porteraient des charges ioniques superficielles opposées assurant leur déplacement en sens inverse dans un champ électrique. Pourtant, depuis les essais de V. Schröder commencés il y a plus de quarante ans, de nombreux auteurs ont pratiqué cette « électrophorèse » du sperme et réalisé des fécondations avec le sperme « anodique » ou « cathodique ». Bien que les déviations par rapport à une sex ratio normale soient bien faibles, et que les résultats soient jusqu'ici contradictoires et non reproductibles, certains Instituts mettent encore de grands espoirs en cette méthode. D'autres tentatives de séparation des spermatozoïdes X et Y ont été fondées sur la sédimentation par gravitation dans diverses conditions, sans que les résultats des inséminations paraissent bien convaincants jusqu'ici. Erickson et ses collaborateurs (1973) viennent de concentrer les spermatozoïdes Y humains (reconnus par la fluorescence après quinacrine), en les faisant migrer grâce à leur motilité plus grande que celle des spermatozoïdes X dans le serum albumine bovine. Ces données demandent à être confirmées.

L'aspect immunologique de la présence du chromosome Y dans les cellules du mâle est intéressant. Il y a vingt ans Eichwald et Silmsner montraient que dans certaines lignées de souris, les femelles rejettent des isogreffes de peau prises sur les mâles. Les cellules mâles portent un antigène d'histocompatibilité lié à la présence de l'Y. Bennett et Boyse ont récemment essayé de modifier la sex ratio de souris inséminées avec du sperme traité par un antiserum H-Y, qui devrait éliminer les spermatozoïdes portant un Y. Le succès a été faible. Quoi qu'il en soit, l'existence d'un antigène d'histo-

compatibilité lié à l'Y, met en évidence une sorte de sexualisation tissulaire. On vient de suggérer que diverses espèces de Mammifères pourraient avoir en commun un même antigène H-Y.

*

**

Dans la chronologie du développement sexuel de l'organisme, le sexe génétique une fois établi, l'étape suivante est la différenciation des glandes génitales. Il peut paraître curieux qu'en 1975 il ait semblé nécessaire de consacrer plusieurs heures de discussion à un sujet qui, dans les traités, fait l'objet de descriptions classiques. Mais, dans ce domaine, la littérature présente un tel mélange de conceptions théoriques, d'idées reçues ou d'observations peu critiques et un tel désordre dans la terminologie, qu'un examen attentif est indispensable pour séparer le bon grain de l'ivraie. Schématiquement on admet que l'ébauche de la gonade, qui se forme sur le mésonephros, est tout d'abord identique dans les deux sexes, ou sexuellement indifférenciée. Puis, à partir d'une date précise du développement, on réussit à distinguer dans les coupes histologiques les gonades en voie d'organisation testiculaire de celles qui ultérieurement deviendront des ovaires. On fait communément remonter à cette date la « différenciation sexuelle des gonades ». En fait, au moment où les premières structures testiculaires s'individualisent chez les mâles (futurs tubes séminifères), les futurs ovaires restent indifférenciés. On les appelle souvent ovaires, non parce qu'ils ont une structure ovarienne, mais parce que ce ne sont pas des testicules. L'organogenèse ovarienne a lieu bien plus tard.

Pour clarifier l'examen de la différenciation des gonades, il convient de se rappeler leur structure, ainsi que la fonction des divers tissus ou types cellulaires qui les constituent, de manière à pouvoir préciser ensuite exactement de quel constituant on étudie la mise en place. La structure et certaines fonctions du tube séminifère ont été bien analysées dans les années récentes. Les jonctions spécialisées unissant les cellules de Sertoli entre elles établissent une sorte de barrière sang-testicule dont l'importance physiologique est seulement pressentie. Il en est de même de l'activité sécrétrice des cellules de Sertoli, en particulier de celle dirigée vers la lumière des tubes séminifères et vers les conduits, ou de la structure complexe de la paroi de ces tubes.

La structure, la biochimie et la physiologie de l'autre constituant fondamental du testicule, les cellules interstitielles de Leydig, constituent l'autre volet de l'étude. Au cours du développement, tubes séminifères et cellules interstitielles apparaissent successivement, au cours de deux phases distinctes, et quand on parle d'« inducteur testiculaire » comme on l'a fait parfois, on oublie de dire à quel constituant de l'organe on se réfère.

Dans la structure et dans la physiologie de l'ovaire, les follicules jouent un rôle si crucial qu'il est justifié de considérer l'organe en formation comme un ovaire seulement une fois qu'il contient (ou a contenu) des follicules. La différenciation endocrinienne suit. Les cellules folliculaires maintiennent bloquée la méiose des cellules germinales et participent à leur longue survie. Au cours du développement la structure ovarienne se différencie tardivement et lentement.

*
**

Dans l'analyse du développement des gonades la question se pose tout d'abord de savoir s'il existe véritablement un stade où la gonade est indifférenciée, c'est-à-dire identique dans les deux sexes. On sait que les cellules germinales ont une origine extragonadique. Or chez l'embryon de canard, de poulet et de rat on a rapporté des différences précoces dans le peuplement de la gonade en cellules germinales, selon le sexe génétique. Cette différence sexuelle n'est pas immédiatement visible ; elle ne peut être reconnue que grâce à des numérations assez ardues ; mais elle semble indiquer qu'il y existe des différences précoces dans les ébauches des deux sexes.

La différenciation dans le sens testiculaire ou ovarien de la gonade « indifférenciée » a fait l'objet de descriptions variées, souvent théoriques ou inexactes parce que l'on a parfois confondu des stades différents. Il est sûr que le développement testiculaire a une orientation centripète, vers les voies évacuatrices, alors que l'ovaire suit un développement superficiel, centrifuge, sous l'épithélium de surface ; c'est d'ailleurs là que seront émises les cellules femelles. On comprend comment a pu naître, au siècle dernier, l'idée que la gonade est d'abord hermaphrodite, et constituée par une partie médullaire de signification masculine et une partie corticale de valeur féminine. Ultérieurement on a fait provenir ces deux constituants de deux générations de cordons sexuels (« médullaires » et « corticaux ») bourgeonnés à partir du même « épithélium germinatif ». Witschi a utilisé les termes de cortex et de médulla dans un sens très différent, pour désigner des systèmes inducteurs antagonistes qui participent ultérieurement tous deux à la formation de la gonade.

Ces interprétations complexes et souvent contradictoires ont été récusées par bien des auteurs depuis longtemps. Des études récentes, faites au Laboratoire, sur le rat, ont montré comment la formation du testicule de cet animal débute par la différenciation d'un type cellulaire nouveau, celui de la lignée de Sertoli. Ces cellules se reconnaissent, adhèrent les unes aux autres pour constituer les futurs tubes séminifères avec les cellules germinales

qu'elles englobent. Ce processus de différenciation cellulaire débute au voisinage du mésonephros et précède de deux jours l'apparition des cellules interstitielles.

Dans l'ébauche qui, plus tard, donnera un ovaire, les cellulaires somatiques restent longtemps indifférenciées. Les cellules germinales se multiplient ; la cytodière est parfois incomplète et il se forme alors des groupes de cellules synchronisées. Ce sont sans doute ces masses de cellules germinales s'accumulant les unes à côté des autres qui ont été considérées comme des « cordons sexuels secondaires ». A une date fixe dans chaque espèce, lorsque le nombre des cellules germinales a atteint son maximum, les cellules germinales les plus profondes entrent en méiose. A cette époque aussi, des relations s'établissent entre ces amas superficiels et des cellules plus centrales, en particulier celles du rete (cordons médullaires de certains auteurs) sans qu'il soit encore possible de préciser si le rete induit la méiose comme le pense Byskov (1974) ou quelles cellules exactement participent à la formation des follicules. De toute manière les cellules germinales ne survivront (méiose arrêtée au stade diplotène) que si elles sont encloses dans des follicules. Réciproquement des follicules ne se formeront que si l'ébauche contient des cellules germinales en début de méiose et en bon état. Dans les cas où les cellules germinales dégèrent avant ou vers l'époque où devraient se différencier les follicules, ceux-ci ne se constituent pas : c'est ce qu'on voit chez le fœtus humain XO, chez les fœtus de souris WW ou chez les embryons de poulets génétiquement mâles et dont les gonades sont « féminisées » sous l'action des œstrogènes. Dans ces dernières, certaines cellules germinales entrent en méiose, vers l'âge où elles le font chez les femelles, puis dégèrent peu après l'éclosion, au moment où chez les femelles se développent les follicules ovariens. Il ne se formera pas de follicules et on peut donc estimer que ces poulets ne différencient jamais d'ovaires au sens défini plus haut ; sur le tard, leurs gonades se différencieront éventuellement en testicules.

La recherche des facteurs qui orientent l'organogenèse des gonades dans le sens testiculaire ou ovarien, a fait l'objet de nombreux travaux. Ainsi on a conclu d'une série d'expériences faites sur les Oiseaux ou sur les Batraciens que ni le mésonephros ni les cellules germinales ne jouent de rôle essentiel dans l'orientation sexuelle des glandes génitales. En fait, l'expérimentation est difficile et les résultats pas toujours concluants pour diverses raisons, par exemple si l'expérience a été interrompue à un stade trop précoce pour permettre l'interprétation.

Par ailleurs, à la suite des études de Lillie sur les freemartins des bovidés et des expériences déjà anciennes de parabiose ou de greffes orthotopiques chez les Batraciens, beaucoup d'auteurs ont admis que la différenciation initiale du sexe de la gonade est imposée par des hormones ou des inducteurs

sécrétés par certaines cellules (non identifiées) de l'ébauche et qui modifient le sort des cellules voisines. Mais dans les deux cas (freemartins des bovidés ou des Batraciens) l'inversion sexuelle de la gonade est tardive et survient après une longue phase d'inhibition ; elle pourrait résulter d'une séquence d'influences intra-gonadiques plus compliquées que la seule « masculinisation » par l'hormone testiculaire.

Sous l'influence d'hormones sexuelles données aux larves ou aux embryons, on a obtenu une inversion assez durable et fonctionnelle du sexe de la gonade chez certains Batraciens et Poissons, et des modifications profondes des gonades chez les Oiseaux et chez l'Opossum. Ces résultats, ainsi que la mise en évidence précoce de stéroïdes ou d'enzymes de la stéroïdogenèse dans les ébauches gonadiques, ont justifié, pour certains, la théorie selon laquelle les hormones sexuelles servent de relais entre les gènes de la détermination du sexe et son expression phénotypique au niveau de la gonade. Il faut bien dire que de nombreuses autres observations dans plusieurs classes de Vertébrés ne rendent pas cette interprétation évidente. En ce qui concerne les Mammifères et l'Homme, on retiendra par exemple que la différenciation testiculaire peut avoir lieu malgré le défaut de synthèse d'androgènes par déficit enzymatique ou malgré le manque de sensibilité des tissus aux androgènes.

Dans un contexte plus général, il faut retenir que certains Crustacés, Insectes et Mollusques fournissent des modèles dans lesquels un tissu extragonique (éventuellement nerveux) impose la masculinisation des gonades, et l'orientation de la gamétogenèse.

*
**

La différenciation sexuelle des gonades représente une étape fondamentale de la sexualisation de l'organisme, parce qu'elle a pour conséquence la différenciation sexuelle des autres parties du corps, à commencer par celle de l'appareil génital lui-même. Mais les modalités de l'orientation soit masculine soit féminine des diverses caractéristiques sexuelles ne sont pas symétriques dans les deux sexes. Des expériences faites autrefois sur le lapin par Jost et confirmées soit *in vivo*, soit *in vitro*, ont montré que chez les Mammifères la différenciation corporelle est soumise à une programmation féminine fondamentale qui, chez les mâles, est empêchée de se réaliser par les testicules. Une hormone inhibitrice ou antiféminine fait disparaître les canaux de Müller et une hormone masculinisante impose la masculinité. Les diverses parties de l'appareil génital et d'autres caractères sexuels, comme les centres nerveux de l'hypothalamus réglant la fonction gonadostimulante de l'hypophyse ou les centres intervenant dans le comportement sexuel de divers animaux, sont masculinisées au cours de « phases critiques » successives dont chacune est

une étape de la sexualisation de l'organisme. Il n'a pas été possible dans le cours de cette année d'analyser ces diverses étapes en détail, mais certains aspects généraux ont été soulevés, relatifs à la sensibilité aux androgènes : fixation des androgènes par les ébauches embryonnaires, rôle de l'androgénisation précoce dans la sensibilité ultérieure aux androgènes et analyse des anomalies des souris Tfm, des rats Ps ou dans la féminisation testiculaire humaine. La découverte du défaut de récepteur cytosolique aux androgènes, dans ces cas, a une bonne valeur explicative.

L'analyse critique de cette année, qui a porté surtout sur les premières étapes de la différenciation sexuelle, fait apparaître combien de notions demandent à être réexaminées avec un esprit ouvert.

SÉMINAIRES

Pierre MAULEON (Directeur de recherches à l'I.N.R.A., Nouzilly) : *Facteurs contrôlant la méiose dans l'ovaire fœtal.*

Maurice P. DUBOIS (Maître de recherches à l'I.N.R.A., Nouzilly) : *Les gonadostimulines dans l'hypophyse fœtale.*

Nathalie JOSSE (Maître de recherches à l'I.N.S.E.R.M., Paris) : *Données récentes concernant l'hormone anti-Müllerienne sécrétée par le testicule fœtal.*

Edwin MILGROM (Maître de conférences agrégé, C.H.U., Bicêtre) : *Régulation des récepteurs des hormones sexuelles stéroïdes.*

Claude DELOUIS (Chargé de recherches à l'I.N.R.A., Jouy-en-Josas) : *Facteurs hormonaux de la différenciation fonctionnelle de la glande mammaire in vitro.*

Jean-Pierre WENIGER (Maître de recherches au C.N.R.S., Université Louis-Pasteur, Strasbourg) : *Comparaison de la sécrétion hormonale du testicule embryonnaire d'Oiseau et de Mammifère.*

Maguelone FOREST (Chargée de recherches à l'I.N.S.E.R.M., U 34, Lyon) : *Activation hypothalamo-hypophysaire et testiculaire durant la période périnatale dans l'espèce humaine et chez les animaux.*

Régis DUBOIS (Sous-directeur de Laboratoire au Collège de France) : *Glycoprotéines et migration chimiotactique des cellules germinales dans l'embryon de poulet.*

TRAVAUX DU LABORATOIRE

Pendant l'année écoulée l'activité de recherche du Professeur Alfred Jost et de ses collaborateurs a été poursuivie dans les locaux et dans le cadre de l'ex-Chaire de Physiologie comparée de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), partagés avec M. Philippe Hémon, nommé Professeur de Physiologie comparée, et avec ses collaborateurs.

Les principaux résultats seront résumés en les groupant par thème de recherche et par équipes.

DIFFERENCIATION SEXUELLE DES MAMMIFERES (A. JOST, S. MARGRE, J. PREPIN, B. VIGIER, M.-G. STINNAKRE, avec la collaboration technique de M. BACONAT, S. PERLMAN et O. VALENTINO)

Une série de recherches a porté sur le développement de la gonade, soit dans les conditions normales, soit chez les freemartins. Il avait été constaté antérieurement (Jost, 1972) que la différenciation initiale du testicule débute chez le fœtus de rat à 13 jours par la différenciation des cellules de Sertoli qui, en adhérant les unes aux autres et en englobant les cellules germinales, constituent l'ébauche des futurs tubes séminifères. Ces données ont été confirmées en microscopie électronique dans un travail encore inédit, qui a permis de préciser le détail de certains aspects. D'autre part, on a entrepris avec la participation du D^r C. Rivelis, de l'Université de Rosario (Argentine), des recherches *in vitro* sur le mode de différenciation de la gonade du fœtus de rat en centrant l'attention d'une part sur l'organogenèse testiculaire et d'autre part sur l'apparition de la méiose dans les ovaires présomptifs. Les deux processus se déroulent *in vitro* dans des milieux synthétiques et l'étude expérimentale projetée devrait être possible.

Des progrès ont été faits aussi dans l'analyse des freemartins chez les bovidés. On a pu vérifier et préciser que l'effet freemartin apparaît au cours du développement en deux phases successives et distinctes : une première période pendant laquelle les ébauches ovariennes et les canaux de Müller du freemartin sont inhibés sans que se manifeste la moindre masculinisation ; il est possible que durant cette phase le freemartin soit soumis surtout à l'hormone inhibitrice et antiféminine du testicule du jumeau ; durant une deuxième phase (après 90 jours) peuvent apparaître des tubes séminifères et éventuel-

lement des cellules interstitielles dans les gonades des freemartins. C'est aussi pendant cette deuxième phase qu'apparaissent des signes de masculinisation au niveau de l'épididyme, des vésicules séminales et éventuellement des canaux de Wolff (qui peuvent persister). Les freemartins qui ont les gonades les plus « masculinisées » (présence de cordons ressemblant à des tubes séminifères embryonnaires) sont aussi ceux dont les autres caractéristiques sexuelles sont les plus masculinisées. Mais la relation n'est pas évidente dans tous les cas.

Une autre série d'expériences réalisée en collaboration avec les chercheurs du Département de Physiologie de l'I.N.R.A. devrait permettre d'explorer plusieurs problèmes : dans quelle mesure la théorie cellulaire du freemartinisme est-elle fondée (certains auteurs ont en effet attribué le freemartinisme au passage de cellules XY du mâle vers la femelle plutôt qu'au passage d'hormones) ? Quelle est la chronologie de l'influence du fœtus mâle sur le fœtus femelle ? La gonade modifiée du freemartin lui-même a-t-elle une action endocrine ? Des vaches sont injectées de gonadostimulines avant l'insémination, pour obtenir la superovulation ; les connexions vasculaires entre fœtus sont coupées chirurgicalement, une fois que les échanges cellulaires entre jumeaux ont eu lieu, et avant les premières manifestations de l'effet freemartin ou avant les phases ultérieures d'apparition des anomalies. Le premier résultat obtenu est déjà fort intéressant puisque malgré les échanges cellulaires les premiers signes de freemartinisme n'apparaissent pas. La théorie dite « cellulaire » du freemartin ne semble donc pas se vérifier, mais cette première observation demande à être confirmée.

Publications

A. JOST, S. MAGRE et M. CRESSENT, *Sertoli cells and early testicular differentiation* (In *Male Fertility and Sterility* (R. E. Mancini and L. Martini, eds), *Proceeding of the Sero Symposium*, vol. 5, Academic Press, London, 1974, p. 1-12).

A. JOST, J.-P. PERCELLET, J. PREPIN et B. VIGIER, *The prenatal development of bovine freemartins* (In *Intersexuality in the Animal Kingdom* (R. Reinboth, ed.), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1975, p. 392-406).

M.-G. STINNAKRE, *Période de sensibilité aux androgènes du canal de Wolff de fœtus de rat* (*Arch. Anat. micro. et Morphol. expér.*, sous presse).

METABOLISME GLUCIDIQUE ET ENERGETIQUE PENDANT LA PERIODE PERINATALE (D. BAL, J. GIRARD, M. GILBERT, A. KERVRAN, M. RIEUTORT, I. GUILLET ; collaboration extérieure : R. ASSAN, Paris ; E. B. MARLISS, Toronto).

A) *Facteurs de la gluconéogenèse néonatale*

Immédiatement après la naissance du rat, survient une phase d'hypoglycémie transitoire accompagnée par une chute de la concentration plasmatique des acides aminés glucoformateurs (alanine, sérine, glutamine, etc.) et du lactate et par une augmentation de l'accumulation hépatique des acides aminés. La diminution de la concentration plasmatique des substrats glucoformateurs précède l'apparition de la gluconéogenèse. La gluconéogenèse a été mesurée *in vivo* ou *in vitro* (production de glucose à partir d'alanine ou de lactate, captation hépatique d'acide amino-isobutyrique, activité de l'enzyme PEPCCK dans le foie, etc.). La gluconéogenèse augmente entre 2 et 6 heures après la naissance, ainsi que le « turnover » du glucose. A la gluconéogenèse est associée une remontée de la glycémie, dont la valeur redevient normale 3 h après la naissance, puis reste constante jusqu'à 6 heures. Chez le nouveau-né maintenu à jeûn plus longuement, la concentration plasmatique en substrats glucoformateurs reste très basse ; puis survient une forte hypoglycémie, 16 heures après la naissance, lorsque le glycogène hépatique a été entièrement utilisé. A ce moment l'activité de la gluconéogenèse mesurée *in vivo* en donnant des substrats marqués traceurs et le « turnover » du glucose diminuent brutalement ; pourtant la captation hépatique des acides aminés, l'activité des enzymes hépatiques régulateurs de la gluconéogenèse et l'activité de la gluconéogenèse mesurée *in vitro* en présence de concentrations saturantes de substrats exogènes sont très élevées. Ces faits suggèrent que la gluconéogenèse est incapable de maintenir la glycémie au cours du jeûne chez le rat nouveau-né, car elle est limitée par le manque de substrats (acides aminés glucoformateurs, lactate). Mais cette explication n'est pas suffisante : si l'on administre des substrats exogènes aux nouveau-nés à jeûn, leur glycémie augmente faiblement et d'une manière transitoire. D'autres facteurs que l'apport de substrats sont donc également nécessaires au fonctionnement normal de la gluconéogenèse au cours du jeûne. Si les nouveau-nés ont été nourris 2 à 4 h après la naissance, ils montrent à 16 h, une activité gluconéogénétique et un « turnover » du glucose comparable à ceux des nouveau-nés maintenus à jeûn, âgés de 6 h. La principale différence entre les animaux nourris et à jeûn réside dans la concentration circulante en acides gras libres et en corps cétoniques. Il semble donc que l'absence de tissu adipeux blanc chez le Rat nouveau-né pourrait être à l'origine de son incapacité de résister efficacement au jeûne. Le manque d'un apport

suffisant en acides gras libres au niveau du foie ne permettrait pas d'assurer une production normale d'ATP et de nucléotides réduits (NADH) nécessaires au maintien d'une activité normale de la gluconéogenèse hépatique au cours du jeûne.

Les hormones pancréatiques agissent sur le métabolisme et la captation des acides aminés chez le fœtus de rat et le rat nouveau-né. Ainsi l'injection de glucagon au fœtus à terme produit une diminution de la concentration des acides aminés plasmatiques, une augmentation de la captation hépatique d'acide amino-isobutyrique et de cyclo-leucine et une stimulation de la gluconéogenèse hépatique. Au contraire, l'injection d'insuline à la naissance inhibe le développement normal de la gluconéogenèse hépatique.

B) *Sécrétion d'insuline et de glucagon par le pancréas fœtal*

Chez le rat, les variations aiguës de la glycémie modifient la teneur du plasma fœtal en insuline mais non celle en glucagon. Les cellules A du pancréas ne sont donc pas sensibles aux variations glycémiques agissant sur les cellules B. Mais l'injection au fœtus de noradrénaline ou d'acétylcholine stimule la sécrétion de glucagon par le pancréas. L'atropine et la phentolamine inhibent, au moins partiellement, l'augmentation du glucagon plasmatique qui survient normalement chez le rat nouveau-né. Ces données suggèrent que le système nerveux autonome joue un rôle plus important que les signaux métaboliques, dans la régulation de la sécrétion de glucagon pendant la période périnatale.

Au contraire, la sécrétion d'insuline par le pancréas du fœtus ou du nouveau-né répond à une stimulation par le glucose. Ainsi, une hyperglycémie maternelle de 1 h augmente la concentration plasmatique en insuline des fœtus ; cette réponse, décelable dès le stade de 19 jours de gestation, devient plus intense ensuite. De même, des rats nouveau-nés de 1 h sécrètent de l'insuline en réponse à une charge en glucose.

C) *Métabolisme du glycogène*

D'autres recherches ont porté sur l'activité de la glycogène synthétase hépatique (forme active et inactive) dans le foie fœtal du lapin et du rat. Au cours du développement normal, il y a un parallélisme entre l'augmentation de l'activité de la forme active et la mise en charge du glycogène dans le foie. L'accord n'est pas aussi bon lorsqu'on étudie la synthèse de glycogène provoquée expérimentalement par des corticostéroïdes chez le rat ; l'explication de ce fait n'est pas encore bien apparente (Gilbert).

Chez le rat nouveau-né (1 h après la naissance), l'activité glycogène synthétasique est très diminuée ; cette modification semble précéder l'augmentation d'activité de la phosphorylase dans le foie. Cette situation est favorable à la glycogénolyse. On augmente l'activité de la glycogène synthétase à ce stade en administrant du glucose au nouveau-né. L'activité de l'enzyme paraît ainsi modulée par le glucose ou par le glucose et par l'insuline (puisque l'augmentation de la glycémie s'accompagne d'une sécrétion d'insuline).

D'autre part, il y a une relation entre l'activité des lysosomes et la glycogénolyse hépatique chez le rat. Après la naissance, la glycogénolyse est associée à une augmentation de l'activité de l' α -glucosidase acide et à une augmentation de l'activité des lysosomes (mesurée par l'activité de la phosphatase acide libérée après un choc thermique). L'augmentation d'activité des lysosomes est inhibée par l'injection d'insuline ou de glucose aux rats nouveau-nés (Bal).

Publications

J. R. GIRARD, E. B. MARLISS et R. ASSAN, *Glucagon and perinatal metabolism in the rat* (*Adv. Biosciences*, 13, p. 5-16, 1974).

E. B. MARLISS et J. R. GIRARD, *Glucagon regulation of metabolic fuel supply* (In *Diabetes* (W. J. Malaisse et J. Pirart, eds), 1974, p. 241-255, Excerpta Medica Foundation, Amsterdam).

J. R. GIRARD, A. KERVRAN, E. SOUFFLET et R. ASSAN, *Factors affecting the secretion of insulin and glucagon by the rat fetus* (*Diabetes*, 23, p. 310-317, 1974).

A. KERVRAN et J. R. GIRARD, *Glucose-induced increase of plasma insulin in the rat fetus in utero* (*J. Endocrinol.*, 62, p. 545-551, 1974).

J. R. GIRARD, D. BAL, R. ASSAN et A. JOST, *Hormones and glycemia during the perinatal period in the rat* (In *Hormonal Factors of Individual Development* (B. L. Astaurov, ed.), 1974, p. 213-219, Publishing House, Nauka, Moscow).

J. R. GIRARD, *Métabolisme maternel et fœtal pendant la gestation* (*Gazette Médicale de France*, 81, p. 5067-5073, 1974).

J. R. GIRARD, *La gluconéogenèse : régulations biochimiques et physiologiques* (*Journées annuelles de Diabétologie de l'Hôtel Dieu*, 15, p. 11-25, 1974, Flammarion, Paris).

J. R. GIRARD et I. GUILLET, *Glucose turnover rate in newborn rats* (*Biochem. J.*, 148, p. 345-347, 1975).

J. R. GIRARD, *Rôle des catécholamines circulantes dans la régulation du métabolisme glucidique* (*Journées annuelles de Diabétologie de l'Hôtel Dieu*, 16, p. 35-41, 1975, Flammarion, Paris).

J. R. GIRARD et N. ZEGHAL, *Adrenal catecholamines content in fetal and newborn rats. Effects of birth by caesarian section, cold exposure, hypoxia, hypoglycemia and 2-deoxy glucose* (*Biol. Neonate*, 26, p. 205-213, 1975).

J. R. GIRARD, *Metabolic fuels of the fetus* (*Israel J. Med. Sci.*, 11, p. 591-600).

J. R. GIRARD, A. KERVRAN et R. ASSAN, *Functional maturation of A cell in the rat* (In *Early Diabetes in Early Life* (A. Camerini-Davalos, S. Fajans, N. Freinkel et J. J. Hoet, eds), Academic Press, N. Y., sous presse).

J. R. GIRARD et E. B. MARLISS, *Circulating fuels in late fetal and early neonatal life* (In *Early Diabetes in Early Life* (A. Camerini-Davalos, S. Fajans, N. Freinkel et J. J. Hoet, eds), Academic Press, N. Y., sous presse).

J. R. GIRARD, I. GUILLET, J. MARTY et E. B. MARLISS, *Plasma amino acid levels and development of gluconeogenesis in newborn rats* (*Amer. J. Physiol.*, sous presse).

R. ASSAN et J. GIRARD, *Glucagon in the human fetal pancreas* (In *Early Diabetes in Early Life* (A. Camerini-Davalos, S. Fajans, N. Freinkel et J. J. Hoet, eds), Academic Press, N. Y., sous presse).

R. ASSAN, P.-F. PLOUIN, J.-R. GIRARD, G. SLAMA, M. HAUTECOUVERTURE et J. J. BUNEAUX, *Study of glucagon secretion using in vitro perfusion of rat pancreas pieces* (*Diabète et Métabolisme*, sous presse).

M. GILBERT et R. VAILLANT, *Contrôle de la synthèse du glycogène dans le foie fœtal de rat* (*Biochimie*, 57, p. 597-602).

A. JOST, M. GILBERT et A. KERVRAN, *Plasma insulin and liver glycogen storage in rabbit and rat fetuses* (*Pediat. Res.*, abst., sous presse).

M. GILBERT, A. KERVRAN et A. JOST, *Insuline plasmatique et glycogène hépatique chez le fœtus de rat et de lapin* (*J. Physiol.*, Paris, abst., sous presse).

PHYSIOLOGIE DE LA CALCITONINE ET DE LA PARATHORMONE
(J. M. GAREL, H. SAVAJOL, en collaboration avec J. P. BARLET et
A. D. CARE)

La mise au point au laboratoire, successivement, d'un dosage radioimmunologique de la calcitonine (CT) utilisant un système porcin mais permettant, grâce à des réactions croisées, d'effectuer des recherches sur le mouton, la vache et le cheval, puis d'un dosage radioimmunologique de la parathormone (PTH) bovine, a beaucoup élargi les possibilités expérimentales (J. M. Garel en collaboration avec J. P. Barlet (I.N.R.A., Theix) et avec A. D. Care de l'Université de Leeds).

Le fœtus de mouton est relativement autonome par rapport à sa mère aussi bien en ce qui concerne la calcitonine ou la parathormone (dosées dans le sang veineux de la thyroïde fœtale), que pour ce qui est de la calcémie : par exemple, une hypercalcémie maternelle, réalisée 10 jours avant le terme, et assez forte pour multiplier par 7 la concentration plasmatique de la mère en CT, ne modifie ni la calcémie, ni la calcitoninémie fœtales. Au contraire, la perfusion intra-veineuse de CaCl_2 au fœtus lui-même augmente son taux de sécrétion de CT. Il y a une relation linéaire entre la calcémie et le taux de sécrétion de CT chez le fœtus de mouton.

Chez l'agneau nouveau-né la teneur plasmatique en CT est élevée ; mais les stimuli responsables de cette forte sécrétion de CT ne sont pas encore connus : contrairement à ce qui se passe chez l'adulte, l'injection de gastrine ou de glucagon n'élève pas la sécrétion de CT, et pourtant une administration orale de calcium, qui ne modifie pas la calcémie, augmente la concentration plasmatique de CT.

Des recherches antérieures avaient montré que l'injection de CT de saumon au rat nouveau-né entraîne un éclaircissement du plasma, dû à une diminution de sa teneur en lipides, notamment en triglycérides. La CT inhibe l'absorption digestive de trioléine- ^{14}C introduite dans l'estomac, principalement par inhibition de la vidange gastrique. Elle provoque aussi une diminution de l'azote α -aminé plasmatique, une augmentation de la glucagonémie et de la RGH et une diminution de l'insulinémie. Ces modifications hormonales ne sont pas sans rappeler celles qui surviennent au moment de la naissance, chez le rat, quand l'apport de substrats par la voie placentaire cesse brutalement. Chez l'agneau nouveau-né à jeûn l'injection d'une dose physiologique de CT inhibe l'élévation de la glycémie, de l'acidoémie et de la lipémie consécutive aux premières tétées, sans qu'il y ait, pour autant, de variation de la calcémie. Ainsi un rôle physiologique nouveau de la CT a pu être proposé chez le nouveau-né, celui d'une modulation de l'absorption des nutriments pendant la période post-natale.

D'autre part, pendant la gestation et la lactation de la brebis, la concentration plasmatique en CT est plus élevée qu'en dehors de la grossesse. On a pu montrer chez la chèvre gestante ou allaitante que la CT protège le squelette maternel contre une déminéralisation excessive.

Enfin, durant la parturition, chez la vache, les concentrations plasmatiques en CT et en PTH sont élevées, alors que la calcémie et la phosphatémie sont diminuées. Au moment de la parturition la sécrétion de CT échappe donc à son contrôle par la calcémie. Des faits similaires ont été observés durant les dernières semaines de la gestation et la parturition de la jument.

En conclusion, l'étude de la physiologie de la calcitonine et de la parathormone au cours du développement ou de la gestation fait apparaître de nouvelles fonctions pour ces hormones, non observées chez l'adulte en état d'équilibre.

Publications

J. M. GAREL et J. P. BARLET, *The effects of calcitonin and parathormone on plasma magnesium levels before and after birth in the rat* (*J. Endocrinol.*, 61, p. 1-13, 1974).

J. M. CAREL, A. D. CARE et J. P. BARLET, *A radio-immunoassay for ovine calcitonin : an evaluation of calcitonin secretion during gestation, lactation and fetal life* (*J. Endocrinol.*, 62, p. 497-509, 1974).

J. P. BARLET, M. C. MICHEL, M. THERIEZ, H. SAVAJOL et J. M. GAREL, *Calcitoninémie et effets métaboliques de la calcitonine chez l'agneau nouveau-né* (*J. Physiol.*, Paris, 68, p. 519-529, 1974).

A. D. CARE, D. W. PICKARD, J. M. GAREL, J. P. BARLET, S. TOMLINSON et J. L. H. O'RIORDAN, *Autonomy of calcium homeostasis in the sheep fetus* (*Horm. Metab. Res.*, 7, p. 103, 1975).

J. P. BARLET et J. M. GAREL, *Physiological role of calcitonin in pregnant goats and ewes* (*Proc. 5th Parathyroid Conference*, Oxford, 1974, Excerpta Medica Foundation, p. 119-121).

J. M. GAREL, H. SAVAJOL et J. P. BARLET, *Plasma immunoreactive calcitonin levels in pregnant ewes and their lambs* (*Biol. Neonate*, sous presse).

J. M. GAREL et J. P. BARLET, *Plasma immunoreactive calcitonin and parathyroid hormone levels in parturient cows* (*J. Endocrinol.*, sous presse).

J. M. GAREL, *Assessment of fetal rat parathyroid gland activity during hypocalcemia induced by EDTA* (*Biol. Neonate*, 27, p. 115-120).

J. M. GAREL, J. P. BARLET et A. KERVAN, *Metabolic effects of calcitonin in the newborn* (*Amer. J. Physiol.*, sous presse).

REGULATIONS HYPOTHALAMO-HYPOPHYSAIRES FŒTALES (A. COHEN, J. P. DUPOUY, A. JOST, D. PECHINOT, M. RIEUTORT)

1) *Fonction corticosurrénaliennne*

Les recherches antérieures sur la régulation hypothalamo-hypophysaire du fonctionnement cortico-surrénalien ont été poursuivies cette année en étudiant le système à ses différents niveaux. Ainsi, on peut soumettre le fœtus de rat à une sorte d'agression en faisant inhaler à la ratte pleine de l'éther qui parvient au fœtus (la mère a été surrénalectomisée quelques jours auparavant pour éliminer la réaction de ses propres surrénales). En 40 minutes la teneur des surrénales et du plasma fœtal en corticostérone a fortement augmenté : la réaction des surrénales fœtales est supprimée si on prive le fœtus de son hypothalamus en laissant l'hypophyse en place (encéphalectomie du fœtus) ou si on enlève à la fois l'hypothalamus et l'hypophyse par décapitation. La réponse à l'agression passe par l'hypothalamus et par l'hypophyse du fœtus (Cohen et Negellen-Perchellet). La présence d'ACTH ainsi que de α MSH et de β MSH peut être mise en évidence dans l'hypophyse fœtale du rat par la méthode histo-immunologique (J. P. Dupouy et M. P. Dubois). Enfin le passage transplacentaire de la corticostérone sécrétée par les surrénales des fœtus a été étudié sur des rattes surrénalectomisées. Comme l'avaient déjà indiqué d'autres auteurs, ce transfert est aisément mis en évidence après le stade de 18 jours, date à partir de laquelle les surrénales fœtales sécrètent de la corticostérone. Le passage en sens inverse (mère \rightarrow fœtus) est bien connu aussi. Il est d'autant plus intéressant d'observer que le rythme nyctéméral de la concentration plasmatique en corticostérone, si net chez la mère, est absent chez le fœtus (Dupouy et Cohen). Il faut tenir compte de la liaison de la corticostérone à la transcortine chez la mère et chez le fœtus ; des expériences ont été faites à ce sujet en collaboration avec M. P. Robin.

2) *Sécrétion de l'hormone somatotrope*

L'expérimentation a été réalisée en utilisant une méthode de dosage radio-immunologique de l'hormone somatotrope de rat (RGH) (Rieutort, 1972). Une première série d'expériences a eu pour objet de vérifier si chez le fœtus de rat de 21,5 jours, la sécrétion d'hormone somatotrope est modulée par les substrats. Les fœtus *in utero* répondent à une injection d'arginine par une diminution du taux plasmatique de RGH ; une variation semblable survient chez des petits extraits de l'utérus par césarienne et injectés de glucose. Ces réponses sont similaires à celles du rat adulte. Au contraire l'injection d'adrénaline ou de noradrénaline provoque une augmentation du

taux de RGH. Dans ce cas la réponse est inverse de celle de l'adulte. Ces observations permettent d'envisager l'existence de mécanismes de régulation de la sécrétion de l'hormone somatotrope chez le fœtus en fin de gestation. On a étudié le rôle de l'hypothalamus en privant les fœtus d'hypothalamus à 19 jours (encéphalectomie) et en dosant l'hormone somatotrope dans l'hypophyse ou dans le plasma à 21 jours. Une telle expérimentation sur le fœtus fait évidemment appel à des anesthésiques dont l'action sur la sécrétion peut n'être pas négligeable. Après des essais préliminaires, on a utilisé le pentobarbital au moment du prélèvement du sang fœtal.

Chez les fœtus sans hypothalamus la teneur hypophysaire en RGH est comparable à celle des témoins, alors que le taux plasmatique est très diminué. En l'absence d'hypothalamus, le contenu hypophysaire est normal, mais la sécrétion d'hormone est fortement diminuée. Chez des fœtus opérés en enlevant seulement un peu du cortex cérébral (témoins opérés) le contenu hypophysaire est normal, mais la teneur plasmatique en RGH est un peu réduite par rapport aux témoins non touchés. Il s'agit peut-être d'un effet de l'agression subie (Rieutort et Jost).

Publications

J. P. DUPOUY, H. COFFIGNY et S. MAGRE, *Transfert de corticostérone des fœtus à la mère au cours de la gestation chez le rat (J. Physiol., Paris, 69, p. 245 A-246 A, 1974).*

J. P. DUPOUY, H. COFFIGNY et S. MAGRE, *Maternal and fetal corticosterone levels late pregnancy in rats (J. Endocrinol., 65, p. 347-352).*

A. COHEN et S. BRAULT, *Modifications de la concentration en corticostérone des surrénales et du plasma chez le fœtus de rat après surrénalectomie maternelle (C. R. Acad. Sci., Paris, 278, p. 1755-1758, 1974).*

J. P. DUPOUY, *La fonction corticostimulante de l'hypophyse fœtale du rat : ontogenèse des cellules corticotropes et évolution de l'activité corticosurrénalienne (J. Physiol., Paris, 69, p. 194 A, 1974).*

J. P. DUPOUY et A. COHEN, *Comparaison de l'activité corticosurrénalienne fœtale et maternelle au cours du nyctémère et durant la gestation (C. R. Acad. Sci., Paris, 280, p. 463, 1975).*

J. P. DUPOUY et M. P. Dubois, *Ontogenesis of the α MSH, β MSH and ACTH cells in the foetal hypophysis of the Rat. Correlation with the growth of the adrenal and the adrenocortical activity (Cell & Tissue Res., sous presse).*

A. COHEN et E. NEGELLEN, *Changes in adrenal glands during stress in fetal rat* (*Gen. Comp. Endocrinol.*, 22, p. 400-401, 1974).

E. NEGELLEN-PERCHELLET et A. COHEN, *Effect of ether inhalation by adrenalectomized pregnant rats on the adrenal corticosterone concentration in normal, decapitated and encephalectomized fetuses* (*Neuroendocrinology*, 17, p. 225-235, 1975).

M. RIEUTORT, *Pituitary content and plasma levels of growth hormone in fetal and weanling rats* (*J. Endocrinol.*, 60, p. 261-268, 1974).

A. JOST, J. P. DUPOUY et M. RIEUTORT, *The ontogenetic development of hypothalamo-hypophyseal relations* (*Progress in Brain Research*, vol. 41 : *Integrative Hypothalamic Activity*, p. 209-219. Amsterdam, 1974).

CATECHOLAMINES UTERINES ET PARTURITION CHEZ LE RAT (J. P. MALTIER, F. CAVAILLE et L. DE POSTEL)

Les observations de J. P. Maltier indiquant que les catécholamines, en particulier la proportion relative de noradrénaline et d'adrénaline présentes dans l'utérus, pouvant jouer un rôle important dans le déclenchement de la parturition, ont eu leur point de départ les effets de l'injection, dans la cavité utérine, d'un inhibiteur de la monoamine oxydase (Nialamide). Ces injections, à condition d'être faites à 20 jours, empêchent ou perturbent gravement la parturition et augmentent la proportion d'adrénaline par rapport au contenu total en catécholamines (adrénaline + noradrénaline) de l'utérus à 22 jours. Curieusement, l'injection intrautérine d'eau salée, dans les mêmes conditions, a un effet similaire sur l'accouchement et sur le contenu de l'utérus en catécholamines.

Ces recherches, entreprises récemment, en sont encore à la phase exploratoire.

Publication

J. P. MALTIER et F. CAVAILLE, *Uterine catecholamines and parturition in rat. Effects of IMAO or saline injections into uterus in late pregnancy on uterine catecholamine levels related to abnormal parturition* (*J. Endocrinol.*, sous presse).

AMPUTATIONS CONGENITALES PROVOQUÉES OU HÉRÉDITAIRES
(Cl. PETTER et J. BOURBON)

Divers traitements infligés au fœtus de rat ou de lapin provoquent des hémorragies des extrémités suivies de nécroses et d'amputations congénitales : il en est ainsi de l'injection de vasopressine ou d'adrénaline au fœtus, ou de la déshydratation maternelle brutale par le mannitol, etc. Or les lapins homozygotes pour le gène br (brachydactylia) héritent du même type de lésion, mais les mécanismes intimes du développement des anomalies sous l'influence des divers traitements et du gène sont probablement différents.

Dans le cas des lapins br/br, diverses observations préliminaires suggéraient qu'il pourrait y avoir une relation entre les hémorragies et les anomalies des cellules sanguines. De fait les fœtus br/br montrent, au stade de 15 jours de gestation, avant que les lésions vasculaires ne soient visibles, une macrocytose (80 % des hématies nucléées ont un diamètre de plus de 12 μm , au lieu de 30 % chez les témoins).

On a alors tenté de reproduire expérimentalement cette anomalie sanguine chez le fœtus de rat et de suivre ses conséquences tératogènes éventuelles. La pyriméthamine est une substance antifolique qui induit des mégalo blastoses chez l'adulte. Chez le fœtus cette substance a provoqué à la fois une forte macrocytose et des hémorragies tératogènes des extrémités et de la tête. Il est donc fort possible que la macrocytose sanguine puisse être un facteur important dans certains processus tératogènes et que certains agents perturbent le métabolisme de l'acide folique soient tératogènes parce qu'ils produisent une macrocytose (Petter et Bourbon).

Publication

C. PETTER et J. BOURBON, *Fœtal red cell macrocytosis induced by pyrimethamine ; its teratogenic role* (*Experientia*, 31, p. 369-370, 1975).

ETUDES SUR LE DEVELOPPEMENT POSTNATAL (Groupe du « Laboratoire de Physiologie comparée »)

Ce groupe de recherche est issu de l'équipe des chercheurs de l'ex-Chaire de Physiologie comparée de la Faculté des Sciences (Paris VI) ; placé maintenant sous la responsabilité du Professeur Philippe Hémon, ce groupe a

en commun le fait d'avoir effectué des recherches sur la fonction thyroïdienne. Il constitue le noyau de l'actuel Laboratoire de Physiologie comparée de l'Université Pierre et Marie Curie.

1. *Développement de la fonction thyroïdienne* (E. VIGOUROUX)

Chez le jeune Rat l'hormone thyroïdienne joue un rôle essentiel dans la maturation du système nerveux central pendant les deux premières semaines post-natales. Pendant cette période le taux de sécrétion de l'hormone thyroïdienne est très élevé, et la quasi-totalité de l'hormone est rapidement désiodée par les tissus périphériques, ce qui suggère une utilisation de l'hormone plus élevée qu'à des stades ultérieurs. Il semble bien que le cerveau utilise, lui aussi, davantage de thyroxine à ce stade du développement.

On sait que l'hypothyroïdisme du jeune rat perturbe la maturation du cervelet : on corrige ces troubles en administrant au jeune rat hypothyroïdien des doses très faibles de thyroxine, calculées en fonction du taux de sécrétion mesuré de la glande (0,03-0,3 μg de LT_4 par jour selon l'âge). On rétablit ainsi chez les jeunes animaux des conditions assez proches de la physiologie normale (collaboration avec J. Legrand, de Montpellier).

2. *Etude électrophysiologique de la maturation du cervelet* (F. CREPEL et J. MARIANI)

L'étude électrophysiologique de la maturation du cervelet a été menée, d'une part chez le Rat normal et hypothyroïdien (en collaboration avec J. Legrand), et d'autre part chez certains mutants de souris (en collaboration avec J. P. Changeux et C. Sotelo).

Chez le Rat normal, les premiers signes d'une connectivité fonctionnelle apparaissent très précocement après la naissance ; les réponses d'inhibition apparaissent d'ailleurs plus tard que les réponses d'activation. Mais la phase principale de maturation des influences excitatrices ou inhibitrices s'exerçant sur les cellules de Purkinje, n'apparaît guère qu'au cours des 2^e et 3^e semaines postnatales.

Chez le Rat hypothyroïdien, la mise en place des connexions cérébelleuses et l'acquisition des activités bioélectriques normales sont gravement perturbées ; mais les troubles sont transitoires et disparaissent après cessation du traitement par l'antithyroïdien (propylthiouracile), résultat qui ne plaide

pas en faveur d'une action irréversible des hormones thyroïdiennes au niveau des activités bio-électriques du cervelet.

La souris mutante « staggerer » offre un modèle génétique d'anomalie du développement du cervelet. L'une des caractéristiques phénotypiques majeures de cette lignée est la disparition presque totale des synapses entre fibres parallèles et cellules de Purkinje : il a été démontré que ces dernières sont les plus affectées. Ces résultats, ainsi que ceux qui ont été obtenus par des méthodes morphologiques et biochimiques, suggèrent que la mutation affecte directement les cellules de Purkinje ; la disparition des synapses entre celles-ci et les fibres parallèles n'en serait alors qu'une conséquence.

3. *Développement de la graisse brune du Rat* (Ph. HEMON, G. MORY, M. NECHAD et D. RICQUIER)

Le tissu adipeux brun du Rat régresse au moment du sevrage si l'animal est exposé à une température normale (22-23 °C) ; par contre l'exposition à une température froide (5 à 6 °C) empêche cette régression et provoque un nouveau développement du tissu. L'hyperthyroïdie chronique induit aussi une hypertrophie de la graisse brune, mais celle-ci est de nature différente ; elle est due à une accumulation de graisses. Les actions différentielles du froid et de l'hyperthyroïdie au niveau du tissu adipeux brun avaient été précédemment étudiées au niveau de la composition globale du tissu et de ses lipides (Hémon, Ricquier et Mory). Les recherches en cours ont eu principalement pour objet de préciser les effets de ces traitements au niveau de la cellularité du tissu et du développement de son chondriome.

Le contenu total en ADN (mais non la teneur par mg de tissu) du tissu adipeux brun interscapulaire s'élève chez le Rat entre les âges de 22 jours (sevrage) et 6 semaines, lorsqu'il est élevé au froid (5-6 °C), phénomène que l'on n'observe pas à température normale ; l'injection de thyroxine pendant la même période augmente aussi l'ADN, mais moins que le froid. Chez le Rat adulte l'exposition au froid pendant trois semaines provoque une certaine augmentation du contenu total en ADN de la graisse brune, mais celle-ci s'accompagne d'une diminution de la teneur en ADN par mg de tissu ; ces résultats suggèrent que l'augmentation du nombre des cellules est moins importante que chez le jeune Rat, mais que leur taille est augmentée, hypothèse qui demande à être vérifiée par des méthodes plus spécifiques.

Le développement du chondriome a été évalué d'une part en mesurant des activités enzymatiques respiratoires (cytochrome oxydase, succino-deshydrogénase, α -glycérophosphate deshydrogénase) dans l'homogénat et dans la frac-

tion mitochondriale (ce qui a permis de connaître le rendement de l'isolement de cette fraction), d'autre part en analysant les phospholipides de la fraction mitochondriale. Il a pu être ainsi démontré que l'exposition au froid provoque une augmentation importante de la quantité totale de protéines mitochondriales présentes dans le tissu et des activités enzymatiques respiratoires ; par contre ces paramètres diffèrent peu, chez l'hyperthyroïdien, des valeurs du témoin du même âge. De même, l'exposition au froid provoque une augmentation importante de la quantité totale des principaux phospholipides mitochondriaux du tissu ; de plus la nature de ces phospholipides est modifiée : ainsi le rapport phosphatidyl-choline/phosphatidyl-éthanolamine est abaissé ; au contraire le pourcentage de cardiolipine (phospholipide caractéristique des membranes mitochondriales) n'est pas modifié. Parallèlement la composition en acides gras des phospholipides est changée, la cardiolipine présentant des modifications particulières.

L'exposition chronique au froid et l'hyperthyroïdie ont donc des effets très différents sur le chondriome de la graisse brune : l'hyperthyroïdie n'entraîne pas l'augmentation que l'on observe au cours de l'exposition au froid ; les résultats suggèrent de plus que le développement du chondriome provoqué par le froid s'accompagne d'importantes modifications de la composition des membranes mitochondriales.

Publications

E. VIGOUROUX, *Dynamic study of postnatal thyroid function in the Rat* (*J. Endocrinol.*, sous presse).

E. VIGOUROUX, *Etude in vivo de quelques aspects du métabolisme de la thyroxine et des iodures dans le cerveau du jeune Rat* (*J. Physiol.*, Paris, sous presse).

F. CREPEL, *Excitatory and inhibitory processes acting upon cerebellar Purkinje cells during maturation in rat ; influence of hypothyroidism* (*Exper. Brain Res.*, 20, p. 403-420, 1974).

F. CREPEL, *Rôle des hormones dans le développement du système nerveux* (In *Problèmes actuels d'Endocrinologie et de Nutrition*, Série 18, *Le Cerveau et les Hormones* (H. P. Klotz, ed.), 1974, p. 181-189).

F. CREPEL et J. LEGRAND, *Electrophysiological and structural correlates of the effects of thyroid deficiency on the cerebellum of the young rat* (In *Ontogenesis of the Brain* (L. Jilck and S. Trojan, eds.), vol. 2, 1974, p. 259-270, Charles University, Prague).

J. CLOS, F. CREPEL, C. LEGRAND, J. LEGRAND, A. RABIE et E. VIGOUROUX, *Thyroid physiology during the post-natal period in the Rat : a study of the development of thyroid function and of the morphogenetic effects of thyroxine with special reference to cerebellar maturation* (*Gen. Comp. Endocrinol.*, 23, p. 178-192, 1974).

J. MARIANI et F. CREPEL, *Mise en évidence d'anomalies bioélectriques de la région somatodendritique des cellules de Purkinje du cortex cérébelleux chez la souris mutante « staggerer »* (In *Les Mécanismes éthologiques de l'Evolution* (J. Médioni, éd.), Rennes, sous presse).

F. CREPEL, *Consequences of hypothyroidism during infancy on the function of cerebellar neurons in the adult rat* (*Brain Res.*, 85, p. 157-160, 1975).

F. CREPEL et J. MARIANI, *Anatomical, physiological and biochemical studies of the cerebellum from mutant mice. II. Electrophysiological analysis of cerebellar cortical neurons in the « staggerer » mouse* (*Brain Res.*, sous presse).

Ph. HEMON, D. RICQUIER et G. MORY, *The possible role of thyroid hormones in the response of brown adipose tissue to chronic cold* (In *Regulation of Depressed Metabolism and Thermogenesis* (L. Jansky et X. J. Musacchia, eds), Charles C. Thomas, Pub., U.S.A., sous presse).

Ph. HEMON, *Some aspects of fat metabolism in the brown adipose tissue of normal and hypothyroid rats during early post-natal development* (*Biol. Neonate*, sous presse).

D. RICQUIER et Ph. HEMON, *A study of phospholipids and triglycerids in several tissues of the rat during foetal and neonatal development. Effect of cretinism* (*Biol. Neonate*, sous presse).

Ph. HEMON, D. RICQUIER et G. MORY, *Etude comparative des effets de l'hyperthyroïdisme chronique et de l'exposition prolongée au froid sur le tissu adipeux brun du jeune Rat* (*J. Physiol.*, Paris, 69, p. 158 A, 1974).

D. RICQUIER, G. MORY et Ph. HEMON, *Alterations of mitochondrial phospholipids in the rat brown adipose tissue after chronic treatment with cold or thyroxine* (*FEBS Letters*, 53, p. 342-347, 1975).

G. MORY, D. RICQUIER et Ph. HEMON, *Effets de l'hyperthyroïdisme chronique et de l'exposition prolongée au froid sur le tissu adipeux brun du Rat. II. ADN, protéines, enzymes oxydatifs* (*J. Physiol.*, Paris, sous presse).

D. RICQUIER, G. MORY et Ph. HEMON, *Effets de l'hyperthyroïdisme chronique et de l'exposition prolongée au froid sur le tissu adipeux brun de Rat. III. Phospholipides mitochondriaux* (*J. Physiol.*, Paris, sous presse).

THÈSES

Thèses de Doctorat ès-Sciences, soutenues devant l'Université Paris VI, depuis octobre 1974 :

Claude PETTER, *Les amputations héréditaires chez le Lapin brachydactyle ; pathogénie et prévention. Etude de modèles expérimentaux chez le Rat* (11 mars 1975).

Jean GIRARD, *Régulation du métabolisme énergétique pendant la période périnatale chez le Rat. Rôle de l'insuline et du glucagon* (21 mai 1975).

Thèses de Doctorat de 3^e Cycle (Endocrinologie), soutenues devant l'Université Paris VI :

Hélène SAVAJOL, *Etude de la sécrétion de calcitonine chez le fœtus, l'agneau nouveau-né et la brebis pendant la gestation et la lactation* (4 novembre 1974).

Isabelle GUILLET-DENIAU, *Etude de quelques aspects de la régulation de la gluconéogenèse pendant la période périnatale chez le rat : rôle des hormones pancréatiques* (26 février 1975).

ACTIVITÉS DIVERSES

1) Conférences, congrès et missions

Pour l'année 1974, M. Alfred JOST a été Président de la Société d'Endocrinologie.

Il a participé au Symposium sur l'Intersexualité dans le règne animal, organisé à Mayence (juillet 1974) par le Professeur R. REINBOTH et y a présenté en son nom et celui de MM. PERCHELLET, VIGIER et PREPIN un exposé sur le freemartinisme.

M. Alfred JOST a prononcé la « Laqueur Lecture » de la Société néerlandaise d'Endocrinologie, à l'occasion de la réunion commune des sociétés britannique et néerlandaise d'Endocrinologie, le 27 août 1974, à Noordwijkerhout, Hollande.

Il a fait un exposé sur le contrôle hormonal de l'établissement de la fonction glycogénique du foie chez le fœtus, le 12 mars 1975, dans le service d'Endocrinologie de l'Hôpital Cochin.

M. Jean-Michel GAREL a participé à la Fifth Parathyroid Conference à Oxford du 21 au 26 juillet 1974 et y a fait une communication en son nom et en celui de M. J.-P. BARLET.

M. Jean GIRARD a participé comme conférencier invité au Symposium « Early Diabetes in Early Life » à Madeira, Portugal, en décembre 1974, et aux « Journées Annuelles de Diabétologie », à Paris, en mai 1975. Il a donné une conférence à l'Institut de Biochimie, clinique de l'Université de Genève, le 3 mars 1975.

M^{lle} Alia COHEN a fait un séjour de deux mois (avril-mai 1975) dans le Laboratoire de Physiologie de Cambridge.

M. Philippe HEMON a été invité à donner une conférence d'introduction au Symposium sur « Depressed Metabolism and Cold Thermogenesis », à Prague (9-12 octobre 1974). Il a participé, ainsi que MM. D. RICQUIER et E. VIGOUROUX, à la réunion de l'Association des Physiologistes, consacrée à l'Endocrinologie (Montpellier, 7-8 février 1975). M^{lle} A. COHEN et M. J.-P. DUPOUY ont assisté à la même réunion.

MM. CREPEL et MARIANI ont participé au Colloque sur les mécanismes éthologiques de l'évolution (Rennes, 12-13 novembre 1974).

2) *Nominations*

M. Ph. HEMON a été nommé maître de conférences (octobre 1974), puis professeur sans chaire (janvier 1975) à l'Université Pierre et Marie Curie.

M. J.-P. DUPOUY a été nommé maître de conférences à l'Université d'Amiens, à compter d'octobre 1974.

3) *Chercheurs étrangers*

M^{me} J. JANTOSOVICOVA, de l'Université de Kosice, Tchécoslovaquie, a fait un stage au Laboratoire (décembre 1974-février 1975).

Le D^r Clara Flora RIVELIS, chef de travaux à l'Université de Rosario (Argentine), a fait un séjour d'un an au Laboratoire.