

## Physiologie du développement

M. Alfred JOST, professeur

Sous le titre « Problèmes d'Endocrinologie du développement : hormones sexuelles et hypophysaires », l'objet du cours de cette année a été l'examen du rôle des hormones sexuelles et des hormones hypophysaires gonadostimulantes dans le développement du jeune mâle ou de la jeune femelle. L'an passé, avaient été discutés les mécanismes généraux de la sexualisation de l'organisme. Un effort de clarification avait été fait assez longuement pour définir les processus en cause et démasquer certaines obscurités cachées sous des interprétations trop faciles ou injustement généralisées. L'une des conclusions très simple, mais parfois oubliée, était que plusieurs processus fondamentaux sont très différents chez les Oiseaux et chez les Mammifères et qu'il importe de ne pas confondre en un schéma unique et inexact les faits acquis dans les deux groupes. Cette remarque reste importante pour les faits discutés cette année.

\*  
\*\*

Dans l'étude des hormones produites par les gonades fœtales des Mammifères, il est essentiel de se souvenir que le testicule se différencie bien avant l'ovaire, si du moins on ne se contente pas d'appeler déjà « ovaires » des ébauches non encore véritablement organisées, simplement parce qu'elles ne sont pas des testicules. La différenciation des ovaires est caractérisée par la formation des follicules ovariens autour des gonocytes en pleine prophase méiotique, suivie par la différenciation des tissus sécréteurs interfolliculaires.

Etant donné le rôle prédominant des testicules dans la différenciation des sexes, spécialement dans la formation de l'appareil génital mâle, il n'est pas étonnant que le fœtus mâle et parfois aussi le nouveau-né mâle traversent une période d'endocrinologie sexuelle active avant que la femelle ne connaisse une expérience similaire. Pour fixer le cadre des considérations qui vont suivre, il n'est pas inutile de rappeler tout d'abord la chro-

nologie des étapes essentielles de la différenciation des deux sexes, ce qui permet mieux de les comparer :

1) Le tout premier indice est la formation des cordons séminifères dans les gonades mâles ;

2) La différenciation des cellules interstitielles dans les testicules en formation est une étape distincte de la précédente ;

3) La différenciation de l'appareil génital mâle peut être schématiquement subdivisée en trois processus principaux : a) régression des canaux de Müller ; b) stabilisation des canaux de Wolff et différenciation de leurs dérivés ; c) formation de l'urètre mâle et des organes génitaux externes masculins ; selon les espèces l'ordre dans lequel ces processus ont lieu peut varier (par exemple chez le veau la phase c) précède les deux autres) ;

4) Dans les fœtus femelles surviennent un petit nombre d'événements dont certains ne peuvent être reconnus que par une étude expérimentale appropriée et dont la chronologie varie selon les espèces : a) régression des canaux de Wolff accompagnant celle du mesonephros ; b) stabilisation des canaux de Müller (qui deviennent insensibles à l'hormone inhibitrice testiculaire si on fait l'essai *in vitro*) ; c) entrée des cellules germinales en prophase méiotique, dans une ébauche gonadique qui n'a pas encore acquis de structure ovarienne ; dans l'espèce humaine ou chez le veau la méiose débute relativement tard par rapport aux autres phénomènes énumérés jusqu'ici ; chez le rat, la méiose commence à 17 jours, avant que n'apparaissent les différences entre les deux sexes au niveau du sinus urogénital ou des organes génitaux externes ;

5) L'organogenèse ovarienne (formation des follicules, des thèques, etc.) prend place seulement après tous les processus successifs rapportés dans les quatre alinéas précédents (chez le rat ou le lapin elle est postnatale) ;

6) Enfin, dans certaines espèces animales, par exemple chez le rat, survient une « sexualisation » de certaines structures nerveuses, sous l'influence des androgènes testiculaires, au cours d'une phase critique du développement dont la date varie selon les espèces (4 à 5 jours après la naissance chez le rat).

Bien entendu le détail de cette chronologie importe surtout dans l'examen des tout premiers stades de l'endocrinologie sexuelle. Les stades précoces sont généralement difficiles à étudier par suite de leur petite taille, et, au cours des années, les techniques ont évolué. Il est donc nécessaire d'apprécier de manière critique la valeur des informations apportées par les diverses méthodes d'étude utilisées ou des conclusions tirées de l'expérimentation. Les données de base ont été acquises grâce à des moyens d'exploration biologiques, tels que l'ablation de glandes endocrines à des stades précis, complétée par des greffes ou par des suppléances hormonales, ou encore

l'association de glandes fœtales et d'organes récepteurs embryonnaires ou adultes *in vivo* ou *in vitro* (par exemple testicule et vésicule séminale ou prostate). La terminologie utilisée masque parfois la spécificité du test utilisé : ainsi la persistance d'une couche cellulaire épaisse sur une ébauche testiculaire d'oiseau (ce que l'on appelle « féminisation ») peut être provoquée soit par des œstrogènes, soit par des androgènes ; ce test biologique ne donne donc pas d'indication nette sur le type d'hormone qui suscite sa réponse.

La mise en évidence dans les jeunes gonades de certaines activités enzymatiques (par exemple l'activité  $3\beta$  hydroxystéroïde-déshydrogénasique ou  $17\beta$  hydroxylasique) soit sur coupes histologiques, grâce à des réactions histochimiques, soit en incubant *in vitro* le tissu ou un homogénat avec des précurseurs appropriés, apporte des résultats fort intéressants. Récemment on a précisé l'ontogenèse des enzymes de la synthèse de testostérone dans le testicule fœtal de lapin (J.D. Wilson), ou identifié certaines déficiences enzymatiques congénitales humaines.

La préparation d'anticorps non seulement contre les hormones polypeptidiques, mais aussi contre les stéroïdes, base des méthodes de dosage radio-immunologiques, a permis de développer l'étude immuno-histochimique de diverses hormones hypophysaires ou gonadiques. On vient de localiser de cette manière les androgènes dans des gonades adultes ou embryonnaires ; les essais faits jusqu'ici demandent encore des vérifications avant de fournir des faits indiscutables.

\*  
\*\*

En ce qui concerne les hormones testiculaires du fœtus des Mammifères, on ne considérera ici que les facteurs androgènes qui, selon toute vraisemblance, sont des stéroïdes. L'hormone responsable de la régression des canaux de Müller, distincte des précédentes et non stérolique, a été discutée l'an passé.

Les recherches faites dans un grand nombre de Laboratoires au sujet de la stéroïdogenèse par le testicule fœtal dans l'espèce humaine, le lapin, le rat, la souris, le veau, le mouton, et accessoirement le tatou et le macaque, ont été examinées en détail. Les données de l'histochimie, les capacités de conversion de stéroïdes incubés avec du tissu testiculaire, dans certains cas le dosage du contenu actuel de la glande en hormone ou le dosage des hormones plasmatiques, toutes ces techniques convergent pour montrer que le testicule fœtal est un organe capable de synthétiser ou de sécréter des androgènes dès l'époque où débute la masculinisation de l'appareil génital : les indications obtenues sur le lapin, le rat, la souris sont assez complètes à ce sujet. Mais le dosage des hormones circulant dans le plasma ou au

contact des tissus aux stades précoces, ainsi que l'identification de la nature exacte des hormones agissant aux divers stades, restent à faire. On a quelques indications indirectes à ce sujet : ainsi, chez le fœtus de lapin, les ébauches des canaux sexuels fixent la testotérone (et non la dihydrotestostérone), alors que l'ébauche des organes génitaux externes fixe mieux la dihydrotestostérone (J.D. Wilson). Ces observations éclairent certaines différences relevées dans la réaction aux hormones de diverses structures sexuelles.

Chez le rat nouveau-né, durant la phase critique de « masculinisation » de certaines structures nerveuses, la concentration plasmatique en testostérone est relativement élevée. Elle reste forte jusqu'à la troisième semaine pour transitoirement diminuer ensuite. Les sécrétions de stéroïdes hormonaux par le rat nouveau-né sont cependant encore incomplètement connues ; on y reviendra à propos de la femelle.

La physiologie d'autres espèces auxquelles ont été consacrées des recherches comparables, est moins connue. L'un des faits importants est la découverte d'une phase active de sécrétion testiculaire chez le nouveau-né humain (M. Forest), sans qu'il soit encore possible d'en préciser toutes les conséquences.

\*

\*\*

Avant de considérer la production de stéroïdes par les gonades du fœtus femelle, il convient de rappeler que ces gonades ne sont pas nécessaires à la réalisation de l'appareil génital féminin, qui d'ailleurs précède l'organogenèse ovarienne définitive.

L'ensemble des recherches faites dans les diverses espèces animales ou dans l'espèce humaine montre que les ébauches ovariennes n'ont guère d'activité stéroïdogène avant la date où se différencient les follicules et les thèques (histochimie, capacité de conversion *in vitro* de précurseurs en hormones, contenu hormonal, etc.). Le fait qu'on ait l'habitude d'appeler ovaire aussi bien l'ébauche encore indifférenciée de la gonade que l'ovaire de type adulte, introduit une certaine confusion dans la littérature.

On a signalé de faibles activités enzymatiques de conversion de stéroïdes ou l'existence de quelques cellules localisées dans le centre de l'ébauche et ayant les caractéristiques ultrastructurales de cellules sécrétrices de stéroïdes (B. Gondos et C.J. Hobel, 1973), avant l'organogenèse ovarienne. Mais dans l'ensemble, il y a un parallélisme frappant entre le développement morphologique des ovaires et leur capacité élaboratrice d'hormones stéroïdes. Cette conclusion ressort aussi de nombreuses recherches déjà assez

anciennes ou récentes, par exemple celles mettant en œuvre des dosages radio-immunologiques d'œstrogènes (1).

Des résultats curieux ont été obtenus sur la jeune ratte. Les expériences de castration, ainsi que l'histochemie ou divers dosages ont suggéré depuis longtemps que l'ovaire devient une glande fonctionnelle seulement plusieurs jours après la naissance. Récemment des dosages radio-immunologiques d'œstrogènes plasmatiques ont indiqué l'existence d'un pic très élevé de concentration vers l'âge de 20 jours. En fait une grande partie des stéroïdes liés par l'anticorps ne sont ni de l'œstradiol ni de l'œstrone, comme l'indique leur étude par double marquage isotopique (J. Weisz et P. Gunsalus, 1973). Ces stéroïdes, qui existent dans les deux sexes (A.M. Morera, L. Audi et J. Saez, 1974), pourraient être au moins partiellement d'origine surrénalienne. Leur rôle dans la maturation sexuelle du rat demeure inconnu, mais on pense aux observations anciennes de D. Price sur la persistance, pendant 4 à 5 semaines, d'un certain degré de stimulation des annexes de petits rats mâles castrés à la naissance. Il n'est pas impossible que ces observations soulèvent un problème intéressant dans la physiologie du développement sexuel de cette espèce.



Les recherches concernant l'embryon des Oiseaux sont fort intéressantes parce que sur bien des points elles apportent des conclusions différentes de celles notées pour les Mammifères. Rappelons d'abord que chez les Oiseaux, et contrairement aux Mammifères, les divers caractères sexuels se différencient dans le sens masculin en l'absence des gonades (Et. Wolff). C'est la glande génitale gauche, la seule bien développée, des femelles génétiques qui féminise les organes sexuels (par exemple la syrinx ou le tubercule génital du canard) en s'opposant à l'histogenèse de type masculin. Chez les embryons mâles, le testicule est inutile à la masculinisation de ces caractères mâles, mais il est indispensable à la régression des canaux de Müller, en sécrétant une hormone inhibitrice sans doute différente des androgènes, comme chez les Mammifères (R. Stoll). On ne discutera ici que de la stéroïdogénèse.

L'interprétation des recherches sur les stades initiaux de la production d'hormones gonadiques par l'embryon des Oiseaux souffre des imprécisions et des contradictions de la littérature au sujet des critères et de la

---

(1) Note ajoutée sur épreuve : dans une lettre récente, J.D. WILSON (de Dallas, U.S.A.) m'informe qu'il a pu montrer l'apparition très précoce d'une activité « aromatisique » dans l'ébauche ovarienne du fœtus de lapin dès 19 jours ; en incubation *in vitro* cette ébauche produit des traces d'œstradiol à partir de testostérone marquée, mais elle n'est pas capable de synthétiser la testostérone à partir de précurseurs.

date de la différenciation sexuelle des gonades. Cette date varie de 5,5 à 7,5 jours selon les auteurs, si bien que les stades dont les uns affirment qu'ils précèdent la différenciation des sexes sont déjà sexuellement bien reconnaissables pour les autres. De plus, la terminologie comporte des acceptions implicites variables.

Dans les testicules des embryons de poulets mâles les cordons séminifères se mettent en place plus tôt (6,5 j.) que les cellules interstitielles (13 j., d'après Swift). Dans les embryons femelles, la gonade comprend une couche cellulaire périphérique (« cortex » des auteurs) et une région centrale (« médulla ») où les cellules laissent entre elles des lacunes dont la signification n'est pas bien établie. Les cellules germinales sont abondantes surtout dans la zone périphérique. Elles entrent en prophase méiotique vers 16 ou 17 jours d'incubation et les follicules se forment quelques jours après l'éclosion.

Dans les gonades femelles l'histochemie montre une activité de la 3 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase localisée dans des îlots de cellules interstitielles situées dans la « médulla » (D. Scheib ; R. Narbaitz). Les expériences de séparation du « cortex » et de la « médulla » suggèrent aussi que c'est la partie centrale qui sécrète des stéroïdes dès le stade de 8 jours environ (K. Haffen).

Quand, plus tard, quatre jours après l'éclosion chez le poulet, aura lieu la folliculogenèse, les cellules glandulaires riches en 3 $\beta$  hydroxystéroïde-déshydrogénase se retrouvent dans le cortex ovarien, entre les follicules ; il est assez probable qu'il s'agit des cellules qui avaient été appelées « médulla » jusque-là (Narbaitz). S'il en est bien ainsi, le tissu glandulaire de la gonade femelle se différencierait avant les follicules ovariens.

Des expériences nombreuses, auxquelles ont grandement contribué deux équipes de chercheurs français (M<sup>mes</sup> Cedard, Haffen, Scheib et Guichard et M. Weniger et ses collaborateurs), ont été consacrées à l'analyse de l'activité stéroïdogène des gonades embryonnaires, en cultivant *in vitro* pendant une durée variable des gonades embryonnaires dans un milieu contenant des précurseurs marqués par le <sup>14</sup>C (acétate, prégnénolone, progestérone ou dehydroépiandrostérone = DHA). Dès les stades de 7 ou 8 jours, peut-être plus tôt, les gonades femelles synthétisent des œstrogènes dans ces conditions. Il est inutile de rapporter ici le détail des observations. Une première conclusion s'impose immédiatement : contrairement à ce qui est la règle chez les Mammifères, l'ébauche ovarienne des Oiseaux est capable de produire précocement d'importantes quantités d'œstrogènes, longtemps avant que la structure ovarienne définitive ne soit différenciée. Le fait que la gonade droite de l'embryon de poulet, qui ne deviendra jamais un ovaire, produise aussi des œstrogènes ne fait que renforcer cette conclusion.

De plus cette synthèse d'œstrogènes par la gonade de l'embryon femelle de poulet augmente *in vitro* sous l'influence de LH. Chez l'embryon femelle de canard, la production normale des œstrogènes nécessaires pour féminiser la syrinx ou le tubercule génital exige une stimulation hypophysaire (N. Kinyon et R.-L. Watterson, 1958). Cette exigence se retrouve *in vitro* (J.-P. Weniger, 1973). La gonade femelle de l'embryon de canard est donc sensible à l'action stéroïdogène de LH, avant que la structure ovarienne définitive ne soit acquise.

Mais cette capacité de sécréter des œstrogènes, précocement apparue dans l'ébauche gonadique, n'est pas nécessairement acquise pour la vie. Le fait semble patent en ce qui concerne la gonade droite de l'embryon femelle de poulet qui, après ablation de la gonade gauche, se transformera en un testicule masculinisant (J. Benoit).

De même la gonade de l'embryon mâle, « féminisée » par une injection précoce d'œstrogène ou d'androgène (par exemple la dihydrotestostérone, J.-P. Weniger, 1975), sécrète des œstrogènes avant l'éclosion ; mais, on a constaté, il y a longtemps, que les gonades des poulets mâles soumis aux œstrogènes ne forment pas de follicules ovariens après l'éclosion, et se différencient lentement en testicules qui seront masculinisants (Et. Wolff ; V. Dantchakoff).

La stéroïdogénèse par le testicule embryonnaire des Oiseaux a donné lieu à des conclusions radicalement opposées selon les auteurs. Pour les uns les testicules cultivés *in vitro* convertissent facilement la DHA ou la progestérone (et à un moindre degré la prégnénolone) en testostérone, dès 7 jours 1/2. Mais la testostérone n'est pas synthétisée à partir d'acétate, même en présence d'HCG. A partir de DHA la gonade femelle peut produire un peu de testostérone, et le testicule un peu d'œstrogènes.

Pour J.-P. Weniger, au contraire, le testicule de l'embryon de poulet de 10 à 19 jours, en culture *in vitro*, reste incapable de convertir l'acétate, la progestérone ou la DHA en testostérone ou en d'autres androgènes en C<sup>19</sup>.

Si l'intense activité de synthèse œstrogénique de l'ébauche femelle semble avoir été facile à démontrer, l'accord reste donc à faire en ce qui concerne la production de testostérone par le testicule. On peut d'ailleurs rappeler à ce sujet qu'aux stades précoces la testostérone n'a guère de rôle important à jouer chez le poulet. Les données récentes de J.-E. Woods et R.-L. Podczanski (1974) qui utilisent une méthode immunohistochimique de mise en évidence de la testostérone devront être confirmées.

L'étude du rôle physiologique des hormones gonadostimulantes chez le fœtus et chez le nouveau-né des Mammifères comporte de nombreux aspects, relatifs aux conditions de leur sécrétion ou aux modalités de leur action.

Avant d'analyser leur rôle durant la vie prénatale, il faut préciser que les gonadostimulines ne sont pas transmises de la mère au fœtus, comme l'ont montré des expériences anciennes ou récentes. Ainsi l'insuffisance testiculaire manifestée par le fœtus de lapin décapité n'est pas suppléée par les hormones maternelles (Jost, 1948); de même l'infusion de LH à la brebis gestante n'augmente pas la LH sérique du fœtus (Foster et collab., 1972).

D'autre part, dans l'espèce humaine, le placenta produit une gonadostimuline (HCG) libérée non seulement dans la circulation maternelle, mais aussi dans celle du fœtus. *In vitro*, HCG augmente la synthèse de testostérone à partir d'acétate par le testicule fœtal de rat (J.-P. Weniger). Il est probable que ce facteur a la même action sur le testicule fœtal humain. L'influence du facteur lactogène placentaire ou de la prolactine sur le testicule fœtal reste pratiquement inconnue.

L'importance de l'hypophyse pour le fonctionnement du testicule fœtal a été examinée dans plusieurs espèces. Chez le lapin (espèce dépourvue de gonadostimuline placentaire), l'absence d'hypophyse fœtale (réalisée par la décapitation) entraîne une déficience testiculaire se traduisant par une masculinisation incomplète de l'appareil génital (Jost); il n'en est pas de même chez le rat, la souris et l'espèce humaine. Les recherches les plus détaillées ont été faites sur le rat, *in vivo* ou *in vitro*: même en l'absence d'hypophyse, la 3 $\beta$  hydroxystéroïde-déshydrogénase testiculaire apparaît *in vivo* ou *in vitro* (R. Picon) et une stéroïdogenèse physiologiquement très appréciable a lieu.

Par ailleurs, diverses expériences, par exemple l'injection d'hormone gonadostimulante au fœtus ou la greffe de testicule fœtal sur l'adulte hypophysectomisé ou non, ou encore l'action de LH ou de HCG sur le testicule *in vitro*, ont démontré que le testicule fœtal est sensible aux gonadostimulines. On pouvait donc s'attendre à trouver des « récepteurs » protéiques aux hormones LH ou HCG dans le testicule fœtal. Cette démonstration vient d'être apportée, en ce qui concerne le lapin, par les équipes de K.-J. Catt et de J.-D. Wilson (1975). C'est à l'âge où la testostérone est sécrétée par le testicule (18,5 jours) et où se développent les cellules interstitielles, qu'apparaissent ces « récepteurs » qui d'ailleurs restent absents chez les fœtus femelles. Il est intéressant que cette expérience ait été faite dans une espèce dans laquelle l'influence de l'hypophyse fœtale sur le testicule avait pu être démontrée.

Bon nombre d'observations confirment donc que les relations entre l'hypophyse et le testicule s'établissent relativement tôt chez le jeune mammifère.

La situation est fort différente lorsque l'on considère les relations entre hypophyse et gonade femelle. La différenciation tardive de l'ovaire pourrait éventuellement permettre à l'hypophyse d'influencer le développement ovarien et ce point doit être précisé tout d'abord.

L'une des phases caractéristiques de l'évolution ovarienne de la gonade est l'entrée des cellules germinales en prophase méiotique. L'importance de la méiose pour l'ensemble de la physiologie de la reproduction est si grande que son déterminisme suscite actuellement des recherches assidues. Etant donné le rôle des gonadostimulines, non seulement dans l'ovulation accompagnée par l'achèvement de la méiose, mais aussi dans le déroulement de la spermatogenèse, on a pu se demander si les gonadostimulines jouent un rôle dans la prophase méiotique chez le fœtus. Diverses expériences, en particulier l'observation que la méiose se déroule dans des cultures d'ébauches ovariennes présomptives (prélevées avec des rudiments de mesonephros), faites au Laboratoire dans un milieu complètement an hormonal, semblent apporter sa solution à cette question.

Une phase cruciale ultérieure du développement ovarien est la formation des follicules primordiaux, suivie par leur croissance. Des recherches récentes, *in vitro*, ou celles qui ont consisté à traiter des souris depuis la naissance par des anticorps anti-LH et anti-FSH (A. Eshkol et B. Lunenfeld) indiquent que les hormones hypophysaires ne sont pas nécessaires à la folliculogénèse néonatale, mais sont requises pour la croissance ultérieure des follicules, après l'âge de 5 jours. C'est aussi après 6 à 8 jours que les auteurs antérieurs avaient observé que les gonadostimulines exogènes pouvaient provoquer l'hypertrophie du tissu thecal ou interstitiel chez la souris ou le rat. Il semble donc que l'ovaire ne devient capable de répondre à la gonadostimulation qu'après avoir acquis sa structure typique.

Le dosage des gonadostimulines FSH et LH d'abord effectué à l'aide de tests biologiques, a ensuite largement bénéficié des méthodes radio-immunologiques. On a aussi tiré grand profit de l'immuno-cytologie.

Des recherches poussées ont été faites sur l'hypophyse fœtale humaine soit en immuno-cytologie, soit par le dosage des hormones dans le plasma ou dans l'hypophyse des fœtus, soit encore en cultivant des hypophyses fœtales *in vitro* dans diverses conditions. On a insisté sur les résultats suivants :

1) L'hypophyse contient (P.-M. Dubois et M.-P. Dubois) et peut-être libre dans la circulation fœtale des sous-unités LH $\alpha$ , communes à LH et à d'autres hormones hypophysaires ; cette sous-unité se trouve également dans HCG, si bien que la sous-unité HCG $\alpha$  plasmatique pourrait être d'origine placentaire (C. Hagen et collab., 1975). Il n'est pas impossible que, dans l'ontogénèse de la synthèse des hormones gonadotropes, la sous-unité  $\alpha$  apparaisse plus précocement que la sous-unité  $\beta$ . De toute manière la sous-unité LH $\beta$  a été décelée à des stades plus tardifs que la sous-unité LH $\alpha$ .

2) En tenant compte de ces résultats, il faudra vérifier dans des recherches ultérieures si les systèmes de dosage de LH, par exemple, qui ont été utilisés ces dernières années, dosent seulement la LH totale ou bien aussi l'une ou l'autre des sous-unités. A cette réserve près, il apparaît que la teneur du plasma fœtal en FSH et en LH (ou HCG ?) passe par un maximum vers l'âge de 150 jours, sans qu'il y ait un rapport évident entre cette date et l'endocrinologie génitale du fœtus.

3) La concentration maximale du plasma en FSH et en LH est plus élevée chez le fœtus féminin que chez le fœtus masculin (S.E. Levina ; S. Kaplan et M. Grumbach). On peut supposer que cette différence est due à l'action en retour (feedback) des hormones testiculaires. S'il en est ainsi on se demandera également si les courbes de dosage, avec leur maximum, peuvent s'interpréter en tenant compte du feedback.

Chez le rat nouveau-né, FSH et LH sont beaucoup plus abondantes dans le plasma des petites femelles que des petits mâles ; mais la castration élève la concentration plasmatique seulement chez les mâles, ce qui fait à nouveau penser à une action testiculaire en retour (B. Goldman et collab., 1971). Malheureusement tous les auteurs n'ont pas obtenu des résultats aussi nets. La spécificité des méthodes de dosage n'a pas toujours pu être vérifiée.

Peut-être n'est-il pas déplacé de finir sur une sorte de « fait divers » qui contient sa morale. Deux groupes de chercheurs ont dosé LH chez le jeune macaque : l'un des groupes employant un système ovin (hormone de référence et anticorps ovins) trouve chez le nouveau-né une concentration très élevée de « LH » qui va en diminuant avec l'âge. L'autre groupe emploie un système mixte (hormone de référence LH de singe, antisérum anti HCG) et trouve une concentration hormonale initiale très basse. En unissant leurs efforts ces chercheurs ont isolé une substance « LH-like », mise d'abord en évidence par le système ovin, sécrétée par l'hypophyse jeune et différente de la LH de l'adulte. Cette substance est à présent étudiée pour elle-même.

La maturation de l'hypothalamus ainsi que son rôle dans le développement et la régulation de la fonction gonadostimulante de l'hypophyse n'ont pu être discutés en détail cette année.

## SÉMINAIRES

Les séminaires ont comporté la discussion de quatre problèmes au sujet desquels des spécialistes ont été appelés à résumer leur expérience et leur point de vue.

1) Facteurs contrôlant la sécrétion des hormones  
du pancréas fœtal

A. KERVRAN (Université Paris VI) : *Effets du glucose sur la sécrétion d'insuline par le fœtus in vivo.*

M<sup>m</sup> H. PERRIER-BARTA (Université de Reims) : *Ultrastructure du pancréas fœtal au cours d'incubations in vitro.*

R. JACQUOT et J.-M. FÉLIX (Université de Reims) : *Actions éventuelles de l'hormone somatotrope, de la progestérone et du glucagon sur l'insulinémie fœtale.*

B. PORTHA (Université Paris VII) : *Prolongation de la gestation par la progestérone et insulinémie.*

J. GIRARD (Université Paris VI et Collège de France) : *Facteurs agissant sur la sécrétion de glucagon par le fœtus in vivo.*

M<sup>l</sup> Cl. JAROUSSE (Unité de Diabétologie de l'INSERM) : *Action du glucose, des acides aminés et des nucléotides cycliques sur la sécrétion des hormones pancréatiques.*

R. ASSAN (Service de Diabétologie, Hôtel Dieu, Paris) : *Sécrétion du glucagon par le pancréas fœtal in vitro.*

2) Le pancréas du fœtus ou de l'enfant de mère  
diabétique

J.-A. VAN ASSCHE (Université de Louvain, Belgique) : *Le pancréas du fœtus de mère diabétique.*

A. KERVRAN : *Insuline plasmatique et pancréatique chez les fœtus de ratte diabétique.*

R. ASSAN : *Problèmes cliniques posés par l'enfant de mère diabétique.*

L. PICON (Université Paris VII) : *Insuline et transfert materno-fœtal du glucose chez le rat.*

3) L'utilisation des hépatocytes isolés ou cultivés *in vitro*  
pour des études métaboliques et endocriniennes

J.-P. LEROUX (Hôpital Necker, Paris) : *Méthodes d'isolement des hépatocytes de rat. Etude de la régulation du métabolisme du pyruvate, de la cétogénèse, de la néoglucogénèse et de l'uréogénèse.*

A. LE CAM (Unité 145, INSERM, Nice) : *Utilisation des hépatocytes isolés de rat adulte pour l'étude des systèmes de transport d'amino-acides.*

P. PADIEU (Université de Dijon) : *La culture in vitro d'hépatocytes de rat. Valeur de la méthodologie ; différences sexuelles dans le métabolisme des stéroïdes.*

J.-P. BECK (Université de Strasbourg) : *Cultures de cellules d'hépatomes (cellules ZHC) et résurgence de la capacité de synthèse et de stockage du glycogène.*

M. LAMBIOTTE (Institut de Biologie moléculaire, Paris) : *Les fonctions exocrines du foie comme marqueur de différenciation hépatique en culture cellulaire.*

CH. PLAS (INSERM, Hôpital de Bicêtre) : *Action de l'insuline et du glucagon sur des hépatocytes fœtaux cultivés en présence de cortisol.*

F. DIETERLIN (Laboratoire d'Embryologie expérimentale du CNRS, Nogent) : *Action de l'insuline et du glucagon sur le foie de l'embryon de Poulet en culture in vitro.*

#### 4) Initiation et contrôle de la gluconéogenèse et de l'uréogenèse au cours du développement

J. GIRARD : *Développement de la gluconéogenèse hépatique dans différentes espèces.*

M<sup>me</sup> E. DELAVAL (Université Paris VII) : *Développement et contrôle de la gluconéogenèse rénale chez le rat.*

R. VAILLANT (Université de Rouen) : *Développement et contrôle de l'uréogenèse chez le rat.*

P. FERRE (Université Paris VI) : *Rôle des acides gras et des substrats gluconéogénétiques dans la régulation de la gluconéogenèse chez le rat nouveau-né.*

M<sup>me</sup> C. MARSAC (Hôpital Necker, Paris) : *Développement des enzymes de la gluconéogenèse dans le foie humain.*

R. JACQUOT (Université de Reims) : *Contrôle hormonal du développement de la glucose-6-phosphatase hépatique chez le rat.*

M. GILBERT (Université Paris VI) : *Gluconéogenèse à partir du glycérol chez le fœtus.*

#### TRAVAUX DE LABORATOIRE

Pendant l'année écoulée les recherches du Professeur Alfred Jost et de ses collaborateurs ont été poursuivies dans les laboratoires de l'Université

Pierre-et-Marie-Curie, aux côtés du Professeur Philippe Hemon, Professeur de Physiologie comparée et de son groupe de chercheurs.

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

**DEVELOPPEMENT DE L'APPAREIL GENITAL ET DES FONCTIONS SEXUELLES** (A. JOST, S. MAGRE, J. PREPIN, B. VIGIER, M.G. STINNAKRE, avec la collaboration technique de M. BACONAT, C. EUVRARD, S. PERLMAN et O. VALENTINO ; M<sup>lle</sup> C. RIVELIS, de l'Université de Rosario, Argentine et M. J. LOUNANA, boursier de la République populaire du Congo, se sont joints à ces recherches).

Les recherches sur la différenciation normale du testicule du fœtus de rat, déjà mentionnées parmi les activités de l'an passé, ont été poursuivies et ont progressé. Outre l'étude morphologique on a analysé la différenciation testiculaire *in vitro* en milieu an hormonal, à partir d'ébauches indifférenciées. Parallèlement des essais d'isolement *in vitro* de lignées cellulaires isolées à partir du testicule fœtal, sont en cours.

D'autre part, en cultivant *in vitro* l'ébauche présomptive de l'ovaire du fœtus de rat dans un milieu an hormonal, on obtient un déroulement assez normal de la méiose, avec un léger décalage dans le temps, dans les conditions de l'essai. Bien que la méthode donne maintenant de bons résultats, on a vérifié l'importance d'un certain nombre de variations des conditions (adjonctions au milieu, composition de l'atmosphère gazeuse, etc.), de manière à pouvoir utiliser le système pour une expérimentation variée.

D'autres résultats intéressants concernent le freemartinisme des bovidés. Une expérimentation a été instaurée pour vérifier si, comme le pensent certains auteurs, les anomalies du jumeau femelle sont dues à un transfert cellulaire plutôt qu'à un transfert hormonal. L'expérience a été faite de la manière suivante, grâce à la collaboration des chercheurs de la Station de Physiologie de la Reproduction de l'INRA à Nouzilly. On induit une « super-ovulation » par traitement gonadotrope ; on permet aux fœtus de fusionner leurs annexes embryonnaires et d'échanger des cellules de la lignée hémopoïétique, ce qui a lieu déjà vers 30 jours environ après la fécondation. Puis on sépare les circulations des fœtus par section chirurgicale transversale de l'utérus, avant la différenciation de l'ovaire et des voies génitales (entre 35 et 45 jours). Nous avons obtenu trois femelles jusqu'ici, qui présentaient à 60 jours un chimérisme XX/XY prononcé sans effet sur l'ovaire ou les canaux de Müller. L'échange cellulaire n'a pas suffi à produire un effet freemartin.

PUBLICATIONS

Cl. RIVELIS, J. PREPIN, B. VIGIER et A. JOST, *Prophase méiotique dans les cellules germinales de l'ébauche ovarienne de Rat cultivée in vitro en milieu an hormonal* (C.R. Acad. Sc., Paris, t. 282, p. 1429-1432).

B. VIGIER, A. LOCATELLI, J. PREPIN, F. du MESNIL DU BUISSON et A. JOST, *Les premières manifestations du « freemartinisme » chez le fœtus de veau ne dépendent pas du chimérisme chromosomique XX/XY* (C.R. Acad. Sc., Paris, 1976, t. 282, p. 1355-1358).

A. JOST, *Hormonal and genetic factors affecting the development of the male genital system* (Andrologia, 1976, vol. 8, suppl. 1, p. 17-33).

*OBSERVATIONS CONCERNANT LA PARTURITION* (J.P. MALTIER, F. CAVAILLE, L. de POSTEL, A. COHEN, A. JOST, avec la collaboration technique de S. PERLMAN).

Les recherches préliminaires de J.-P. Maltier, mentionnées l'an passé et maintenant parues dans le Journal of Endocrinology (t. 67, p. 371, 1975), impliquaient les catécholamines dans le déclenchement de la parturition chez la ratte. Ainsi, un inhibiteur de la monoamine oxydase donné à 20 jours retarde ou empêche la mise bas à 22 jours. Or ce traitement prévient la diminution considérable du contenu utérin en adrénaline qui normalement survient quelques heures avant la parturition. Pour faire cette vérification, on a en particulier dosé l'adrénaline dans l'utérus des femelles qui n'avaient pas encore mis bas 22 jours 10 heures après le début estimé de la gestation et dont on sait qu'elles doivent le faire dans les heures suivantes. D'autres expériences inédites en cours montrent que, si l'on prolonge la gestation par la progestérogène, on supprime aussi la chute du contenu de l'utérus en adrénaline survenant normalement entre 21 et 22,5 jours.

D'autre part, la concentration plasmatique en corticostérone subit chez la ratte pleine un rythme nyctéméral caractérisé par une teneur plus faible le matin que le soir. Mais si la femelle n'a pas encore mis bas à 22 jours, la corticostéronémie reste élevée ce matin-là (Cohen). La parturition se fait à un moment où la corticostéronémie est élevée : cet aspect est à l'étude.

Enfin, on sait depuis Liggins que chez le mouton l'hypophyse et la surrénale fœtales ont un rôle éminent dans le déclenchement de la parturition. Pour analyser le même problème chez le lapin, on avait réduit le nombre des fœtus de la portée et décapité tous les fœtus laissés en place ; dans les expériences préliminaires (Jost, 1973), la date de la mise bas de ces fœtus était la même que celle de fœtus entiers dont le nombre était semblablement

réduit. L'expérimentation conduite cette année confirme les résultats antérieurs et indique qu'un système hypophyso-surrénalien fœtal normalement fonctionnel n'est pas nécessaire à la mise bas chez le lapin.

#### PUBLICATIONS

A. COHEN, *Fonction corticosurrénalienne chez la ratte gestante et le fœtus pendant la parturition* (*J. Physiol.*, Paris, 1975, t. 71, 131A).

A. COHEN, *Effet d'une inhalation prolongée d'éther par la ratte gestante sur le taux de corticostérone dans le plasma maternel et fœtal* (*J. Physiol.*, Paris, sous presse).

A. JOST, *Does the fœtal hypophyseal-adrenal system participate in delivery in rats and in rabbits?* [*In* : « Fœtal and Neonatal Physiology » (Sir Joseph Barcroft Centenary Symposium), Cambridge University Press, 1973, p. 589-593].

**HORMONES ET METABOLISME ENERGETIQUE CHEZ LE FŒTUS ET LE NOUVEAU-NE** (D. BAL, J. BOURBON, C. CHEVALLEY, P. FERRE, J. GIRARD, M. GILBERT, M. GUILLAUME, A. KERVAN, J.-P. PEGORIER, M. RIEUTORT, avec la collaboration technique de M.-C. WALTER ; collaboration extérieure : R. ASSAN, Paris, E.-B. MARLISS, Toronto et X. BERTAGNA, Paris).

#### A) Contrôle hormonal de la charge en glycogène du foie fœtal du lapin

On sait depuis longtemps que la mise en charge du foie fœtal du lapin obéit à un contrôle hormonal relativement complexe, dans lequel et l'hypophyse et la corticosurrénale jouent un rôle. Chez le fœtus normal la teneur du foie en glycogène augmente fortement et rapidement à 25 jours. Cette augmentation est supprimée si le fœtus est décapité avant 25 jours.

On a vérifié qu'il existe dans le tissu hépatique un parallélisme entre l'activité de la glycogène synthétase active (forme a) et la charge du foie en glycogène. Chez le fœtus décapité à 23 jours, l'activité de l'enzyme reste faible.

La réponse à l'hyperglycémie provoquée constitue un autre test du changement physiologique subi par le foie à 25 jours chez le fœtus de lapin. L'hyperglycémie fœtale réalisée en perfusant une solution de glucose à la mère, provoque en deux heures une augmentation du glycogène hépatique des fœtus, à condition que ceux-ci aient 26 jours ou plus. L'augmentation

du glycogène ne survient pas chez les fœtus de 24 ou 25 jours. Elle ne survient pas non plus chez des fœtus de 26 jours s'ils ont été décapités à 24 jours. Par suite de la décapitation, leur foie n'a pas subi le virage physiologique survenant normalement à 25 jours.

L'étude du mécanisme du contrôle par plusieurs hormones de la charge en glycogène du foie du fœtus de lapin a été entreprise dans des expériences *in vitro*. Des résultats intéressants ont déjà été obtenus, mais l'expérimentation est en cours et les résultats en seront rapportés ultérieurement.

#### B) *Gluconéogenèse fœtale à partir du glycérol*

Le glycérol plasmatique du fœtus de rat ou de lapin a une origine essentiellement maternelle, il est l'objet d'un transfert placentaire de la mère vers le fœtus. Ce transfert est rapide et n'est pas saturable dans les limites de concentrations physiologiques.

Chez le fœtus, le glycérol est converti en glucose et incorporé dans le glycogène du foie. La voie de la néoglucogenèse à partir des trioses phosphates est donc fonctionnelle.

#### C) *Facteurs de la gluconéogenèse néonatale*

Au cours d'études antérieures, il avait été observé qu'une hypoglycémie sévère apparaît chez le rat nouveau-né, laissé à jeûn pendant 12 à 16 heures, alors que la glycémie d'animaux de même âge, allaités par la mère, reste normale (Girard, 1973, 1975). La teneur en glucides du lait ne peut à elle seule rendre compte de cette différence, car ce lait est très pauvre en glucides et très riche en lipides. L'hypoglycémie du rat nouveau-né maintenu à jeûn est liée à une déficience de la gluconéogenèse, qui elle-même pourrait résulter soit du manque de substrats gluconogéniques, soit d'une carence en substrats dérivés des graisses. Le travail a consisté à analyser l'importance relative des graisses et des substrats gluco-formateurs dans la régulation de la glycémie chez le rat nouveau-né à jeûn ou allaité par sa mère.

On a d'abord essayé d'évaluer l'importance de la gluconéogenèse dans le maintien de la glycémie chez le rat nouveau-né allaité. L'injection à ces animaux d'un inhibiteur de la gluconéogenèse hépatique (l'acide 3 mercapto-picolinique) produit en 1 heure : un effondrement de la glycémie (de 0,9 à 0,2 g/l), une accumulation de lactate et de pyruvate et une diminution de 50 % des corps cétoniques dans le sang. L'analyse des métabolites hépatiques indique un blocage de la gluconéogenèse au niveau de la phosphoenolpyruvate carboxykinase et une accumulation de NADH dans le compartiment mitochondrial. De ces observations il résulte donc, d'une

part, qu'une gluconéogenèse très active est indispensable au maintien de la glycémie du rat nouveau-né allaité ; et que, d'autre part, il y a une relation entre l'activité de la gluconéogenèse et celle de la cétogenèse hépatique, l'état d'oxydoréduction des nucléotides pyridiniques ( $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ ) jouant un rôle dans cette interrelation.

Dans une deuxième série d'expériences, on a tout d'abord essayé de restaurer une glycémie normale chez le rat nouveau-né maintenu à jeûn pendant 13 heures, en lui donnant des triglycérides par voie orale. Trois heures après l'ingestion de triglycérides, ces animaux avaient des teneurs sanguines en acides gras, en corps cétoniques et en substrats gluconogéniques comparables à celle des animaux allaités. Leur glycémie était doublée (de 0,2 à 0,4 g/l) par rapport à celle des témoins. L'augmentation de la glycémie était associée à une stimulation de la gluconéogenèse, mesurée à partir de lactate et d'alanine marqués au  $^{14}\text{C}$ . La mesure des métabolites hépatiques montrait, chez les nouveau-nés gavés avec les triglycérides, un déplacement du rapport  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  mitochondrial vers l'état réduit. Les acides gras pourraient avoir un double rôle chez ces animaux : 1) au niveau du foie, ils stimulent sans doute la gluconéogenèse en apportant l'acétyl-CoA, le NADH et l'ATP, nécessaires à une gluconéogenèse active ; 2) au niveau périphérique, ils pourraient favoriser la production de substrats gluconogéniques (lactate, pyruvate, alanine) en inhibant la pyruvate deshydrogénase.

On a ensuite essayé de combiner l'ingestion de triglycérides avec un traitement par le cortisol, ce dernier étant donné pour stimuler le catabolisme protéique et la production de substrats gluconogéniques. L'administration de cortisol seul augmente la glycémie des rats nouveau-nés à jeûn, en stimulant la gluconéogenèse par une élévation des substrats glucoformateurs (alanine, lactate en particulier). L'association d'une injection de cortisol et d'une administration de triglycérides par voie orale remonte la glycémie des rats nouveau-nés à jeûn à un niveau égal à celui des animaux allaités (de 0,2 à 0,8 g/l), à la suite d'une forte stimulation de la gluconéogenèse.

En conclusion, ces résultats démontrent le rôle indispensable des lipides et des substrats glucoformateurs dans le rétablissement d'une gluconéogenèse normale chez le rat nouveau-né qui avait été maintenu à jeûn.

Enfin, on a étudié la gluconéogenèse chez le lapin nouveau-né. Celui-ci est très différent du rat, car, d'une part, il possède des réserves lipidiques mobilisables au cours du jeûne ; et d'autre part, chez le lapin, l'enzyme limitante de la gluconéogenèse, la phosphoénolpyruvate carboxykinase, est localisée à la fois dans la mitochondrie et le cytoplasme, alors que chez le rat elle est exclusivement cytoplasmique. Ceci implique des mécanismes régulateurs de la gluconéogenèse différents d'une espèce à l'autre.

Chez le lapin nouveau-né, la glycémie se maintient à 0,4 g/l pendant un jeûne de 48 heures, bien que les réserves en glycogène du foie aient totalement disparu déjà 6 heures après la naissance. Dans cette espèce, la gluconéogenèse semble donc être suffisante pour maintenir la glycémie. Cependant malgré une teneur élevée du plasma en acides gras dès la naissance, la cétoenèse n'apparaît que 4 heures après la naissance ; elle est précédée par une élévation du glucagon et une diminution de l'insuline dans le plasma. Ces faits suggèrent qu'il existe une relation entre la variation des hormones pancréatiques et l'apparition de la gluconéogenèse et de la cétoenèse hépatique dans cette espèce.

#### D) *Contrôle de la sécrétion d'insuline et de glucagon par le pancréas fœtal et néonatal*

Les expériences antérieures démontrant que l'hyperglycémie déclenche en une heure une augmentation de la sécrétion d'insuline par le pancréas du fœtus de rat ont été confirmées. La réponse au glucose est biphasique comme chez l'adulte (Kervran et Girard, inédit).

Immédiatement après la naissance, les jeunes rats maintenus à la neutralité thermique (37°C) et à jeûn, passent par une phase d'hypoglycémie transitoire, accompagnée par une augmentation de la concentration plasmatique en glucagon et une diminution de celle d'insuline. L'hypoglycémie ne survient pas si les nouveau-nés sont gardés à la température du laboratoire (22-24°C), alors que les variations des hormones pancréatiques restent les mêmes. L'hypoglycémie ne peut donc pas rendre compte, à elle seule, des variations du glucagon et de l'insuline à la naissance. Chez le rat nouveau-né maintenu à 37°C une charge en glucose augmente la concentration plasmatique en insuline ; la même charge en glucose, n'augmente pas l'insulinémie des nouveau-nés maintenus à 24°C, à moins qu'on leur donne un agent bloquant les récepteurs  $\alpha$  adrénergiques (phentolamine). Il semble donc que le système nerveux autonome joue un rôle dans la régulation de la sécrétion d'insuline, comme d'ailleurs dans celle du glucagon, par le pancréas du nouveau-né.

#### E) *Contrôle de la sécrétion de l'hormone de croissance chez le fœtus de rat*

L'étude en cours a pour objet d'évaluer d'une part l'influence de l'hypothalamus sur la sécrétion d'hormone de croissance *in vivo* et d'autre part d'analyser *in vitro* les facteurs qui agissent sur la libération d'hormone de croissance par le lobe antérieur isolé.

*In vivo*, chez le fœtus de rat privé d'hypothalamus par encéphalotomie, l'hypophyse continue à synthétiser et à libérer de l'hormone de croissance dans la circulation. La concentration en hormone du plasma des fœtus

encéphalotomisés est plus faible que celle des témoins. L'une des difficultés de ce genre d'études réside dans le fait que les témoins sont nécessairement prélevés soit sur des femelles anesthésiées, soit sur des femelles qui viennent d'être sacrifiées. L'influence éventuelle des anesthésiques ou celle de la brève anoxie suivant le sacrifice rendent difficile la définition de vrais témoins dans une telle expérience ; mais bien entendu les fœtus encéphalotomisés et leurs frères entiers sont soumis aux mêmes aléas.

Les études *in vitro* présentent d'incontestables difficultés dont beaucoup ont été surmontées (M. Rieutort, R. Assan, X. Bertagna, C. Chevalley). Les résultats seront rapportés ultérieurement.

#### PUBLICATIONS

M. GILBERT et D. RICQUIER, *Glycerol metabolism in the pregnant and virgin rats* (*Biol. Neonate*, sous presse).

M. GILBERT et A. JOST, *Hyperglycémie maternelle et glycogène hépatique fœtal selon l'âge et l'état endocrinien* (*J. Physiol.*, Paris, 1976, t. 72, sous presse).

J.-R. GIRARD, I. GUILLET, J. MARTY et E.-B. MARLISS, *Plasma amino acid level and development of hepatic gluconeogenesis in the newborn rat* (*Amer. J. Physiol.*, 1975, t. 229, p. 466-473).

J.-R. GIRARD, P. FERRE et M. GILBERT, *Régulation du métabolisme énergétique pendant la période périnatale* (*Diabète et Métabolisme*, 1975, t. 1, p. 241-257).

J.-R. GIRARD, P.-F. PLOUIN, C. HEUCLIN, N. BOURDILLAT et R. ASSAN, *Glucagon release from perfused fetal rat and human pancreas* (*Diabetologia*, 1975, t. 11, p. 344).

J.-R. GIRARD, I. GUILLET, J. MARTY, R. ASSAN et E.-B. MARLISS, *Effects of exogenous hormones and glucose on plasma levels and hepatic metabolism of aminoacids in the fetus and in the newborn rat* (*Diabetologia*, 1976, t. 12, p. 327-337).

J.-R. GIRARD, C. CHANEZ, A. KERVAN, C. TORDET-CARIDROIT et R. ASSAN, *Studies on experimental hypotrophy in the rat. III. Plasma insulin and glucagon* (*Biol. Neonate*, t. 28, sous presse).

P. FERRE et J.-R. GIRARD, *Alanine <sup>14</sup>C incorporation into liver and skeletal muscle proteins during the early postnatal period in the rat* (*Biol. Neonate*, t. 28, sous presse).

J.-R. GIRARD, P. FERRE, M. GILBERT, A. KERVRAN, R. ASSAN et E.B. MARLISS, *Stimulation of fetal gluconeogenesis in utero by maternal fasting near term in the rat* (*Clin. Res.*, t. 24, 1976, p. 361).

J.-R. GIRARD, P. FERRE et J.-P. PEGORIER, *Glucose homeostasis in the fasted newborn rats : role of lipids and gluconeogenic substrates* (*Diabetologia*, t. 12, 1976, p. 393).

P. FERRE, J.-P. PEGORIER, J.-R. GIRARD, M. GILBERT, A. KERVRAN, M. RIEUTORT et R. ASSAN, *Concentrations sanguines des substrats énergétiques, des hormones pancréatiques et de l'hormone somatotrope chez le Lapin nouveau-né* (*J. Physiol.*, Paris, 1976, t. 72, sous presse).

P. FERRE, J.-P. PEGORIER et J.-R. GIRARD, *Influence des substrats gluconéogéniques et des graisses dans la régulation de la gluconéogenèse chez le rat nouveau-né* (*J. Physiol.*, Paris, 1976, t. 72, sous presse).

A. KERVRAN, M. RIEUTORT et M. GUILLAUME, *A simultaneous radio-immunoassay for growth hormone and insulin in the plasma of rats and rabbits* (*Diabète et Métabolisme*, 1976, t. 2, p. 67-72).

A. KERVRAN, M. GILBERT, J.-R. GIRARD, R. ASSAN et A. JOST, *Effect of environmental temperature on glucose-induced insulin response in the newborn rat* (*Diabetes*, t. 25, sous presse).

M. RIEUTORT et A. JOST, *Growth hormone in encephalotomized rat fetuses, with comments on the effects of anesthetics* (*Endocrinology*, 1976, t. 98, p. 1085-1091).

**PHYSIOLOGIE DE LA CALCITONINE ET DE LA PARATHORMONE  
AU COURS DU DEVELOPPEMENT** (J.M. GAREL, en collaboration avec  
J.P. BARLET, INRA, Theix et A.D. CARE, Université de Leeds).

Plusieurs des recherches résumées l'an passé, mais encore sous presse à ce moment, ont paru en fin 1975 ou en 1976. La mise au point dans le Laboratoire d'un dosage radio-immunologique de la calcitonine (système porcin) utilisable chez le mouton et le porc a été complétée tout récemment par un dosage utilisant un système humain, qui permet des dosages sur le rat (GAREL et MOUKTAR, inédit). La parathormone peut être dosée chez le porc à l'aide d'un système bovin.

Dans des recherches inédites sur le porc, il apparaît que la teneur en calcitonine du plasma est plus élevée chez le fœtus que chez la mère ; celle de parathormone est au contraire plus faible. Or la concentration du plasma en

calcium ionisé est plus élevée chez le fœtus que chez la mère ce qui est compatible avec la situation hormonale. De plus l'infusion de chlorure de calcium au fœtus augmente la calcitonine circulante mais la perfusion d'EDTA ne modifie pas la teneur en parathormone. Cet aspect appelle de nouvelles expériences.

D'autres expériences ont eu pour but de préciser les facteurs contrôlant la sécrétion de calcitonine chez le nouveau-né. Les résultats résumés l'an passé indiquaient que chez l'agneau la gastrine n'augmente pas cette sécrétion. Une telle augmentation survient cependant après une administration orale de calcium, insuffisante pour modifier la calcémie. Dans des expériences encore inédites on a constaté que l'injection de cholécystokinine-pancréozymin entraîne une sécrétion de calcitonine, accompagnée d'une hypocalcémie et une hypophosphatémie. Cette observation a sans doute son importance puisque la calcitonine intervient dans la régulation de l'absorption digestive.

La possibilité maintenant ouverte de doser la calcitonine chez le rat doit permettre d'étudier deux des fonctions de cette hormone, qui ont fait l'objet de nos recherches antérieures, la protection du squelette maternel durant la gestation et la régulation de l'absorption digestive chez le nouveau-né. Les premiers résultats obtenus dans ce sens sont fort encourageants. Il est probable que l'analyse sera plus aisée sur le rat que sur les gros animaux précédemment examinés.

#### PUBLICATIONS

J.M. GAREL, J.P. BARLET et A. KERVRAN, *Metabolic effects of calcitonin in the newborn* (*Amer. J. Physiol.*, 1975, t. 229, p. 669-675).

J.M. GAREL, W. MARTIN-ROSSET et J.P. BARLET, *Plasma immunoreactive calcitonin levels in pregnant mares and newborn foals* (*Horm. Metab. Res.*, 1975, t. 7, p. 429-432).

J.M. GAREL, *Calcitonin and parathyroid hormone during the pre- and postnatal development* (*Opening Lecture of the European Symposium on Pediatric Research*, Budapest, 21-24 August 1975).

J.M. GAREL, H. SAVAJOL et J.P. BARLET, *Plasma immunoreactive calcitonin levels in pregnant ewes and their lambs* (*Biol. Neonate*, 1976, t. 28, p. 207-218).

J.M. GAREL et J.P. BARLET, *A radioimmunoassay for bovine parathyroid hormone* (*J. Physiol.*, Paris, 1976, t. 72, p. 249-257).

J.M. GAREL et J.P. BARLET, *Calcium metabolism in newborn animals* (*Pediat. Res.*, 1976, t. 10, p. 749-753).

J.P. BARLET et J.M. GAREL, *Influence de la somatostatine sur le taux plasmatique de calcitonine chez le veau et chez le porc (C.R. Soc. Biol., 1975, t. 169, p. 1476-1482).*

J.P. BARLET et J.M. GAREL, *The effect of an intravenous injection of cholecystokinin-pancreozymin on plasma calcium and calcitonin levels in newborn lambs (J. Endocr., 1976, t. 70, p. 151-152).*

J.P. BARLET, J.M. GAREL, J. LEFAIVRE et C. DARDILLAT, *Régulation endocrinienne de la calcémie fœtale chez la brebis et chez la vache (J. Physiol., Paris (abst.), 1976, sous presse).*

#### **HEMATOLOGIE FŒTALE EN RELATION AVEC LE GENE *br* DU LAPIN (Cl. PETTER, J. BOURBON et J.P. MALTIER).**

Parmi les observations faites au sujet du développement des hémorragies et des amputations congénitales chez les lapins porteurs du gène *br/br*, on a relevé une macrocytose sanguine nette chez les fœtus de 15 jours, au moment où commencent les anomalies. Plusieurs traitements de la mère diminuent ou empêchent cette macrocytose (hyperoxie, phénylhydrazine, association vitamine B12 et acide folique), sans doute par des processus différents. Quoi qu'il en soit les trois traitements préviennent l'apparition des hémorragies tératogènes chez une proportion importante de la descendance.

Cependant l'activité de deux enzymes importants du métabolisme folique, la dihydrofolate réductase et la thymidylate synthétase, mesurée dans le foie de fœtus de 16 et de 20 jours n'est pas différente chez les fœtus *br/br* de ce qu'elle est chez les témoins.

#### **PUBLICATION**

J. BOURBON, *Dihydrofolate reductase and thymidylate synthetase activities in the liver of rabbit fetuses during the hemopoietic period (Biochem. J., 1976, t. 155, p. 713-715).*

#### **ETUDES SUR LE DEVELOPPEMENT POST-NATAL (Groupe de Physiologie comparée de l'Université Pierre-et-Marie Curie).**

Les recherches résumées ici, sont l'œuvre du groupe de recherche issu de l'ex-Chaire de Physiologie comparée de la Faculté des Sciences de Paris,

et maintenant dirigé par le Professeur Ph. Hémon. Ce groupe a continué à travailler en association avec l'ensemble du Laboratoire de Physiologie du Développement.

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

Le but des recherches en cours est de contribuer à préciser la nature et le déterminisme du développement de la graisse brune observé chez le très jeune Rat placé à une température normale, ou chez l'animal adulte, lorsque celui-ci est exposé chroniquement au froid. L'essentiel des travaux de cette année a été consacré à l'étude des effets de traitements chroniques par les catécholamines au niveau du tissu adipeux brun. En effet, on admet généralement que l'hypertrophie du tissu adipeux brun provoquée par le froid est due principalement au tonus sympathique élevé de cet animal ; de plus, des auteurs canadiens (Leblanc *et al.*) ont démontré que l'injection répétée de catécholamines provoquait chez le Rat adulte une hypertrophie de leur graisse brune.

Chez le jeune Rat (traitement de 22 à 43 jours *postpartum*), l'injection de noradrénaline par voie sous-cutanée dans la région lombaire, ne provoque pas de modification du poids du tissu (il y a seulement une légère augmentation de sa teneur en eau) ; un traitement similaire par l'isopropyl-noradrénaline ( $\beta$  agoniste pur) entraîne en outre une baisse de la teneur en protéines du tissu. Lorsque la même quantité d'isopropyl-noradrénaline est injectée dans la région interscapulaire, au voisinage immédiat de la graisse brune, on observe une légère hypertrophie du tissu et une modification de sa composition (augmentation de la teneur en eau et baisse de la teneur en protéines).

Chez le Rat adulte (rats âgés de 4 à 5 mois et traités trois semaines) l'injection d'isopropyl-noradrénaline dans la région lombaire provoque une hypertrophie importante de la graisse brune intercapsulaire ; si l'isopropyl-noradrénaline est injectée au voisinage du tissu l'hypertrophie est plus importante. Dans les deux cas la composition du tissu est modifiée (augmentation des teneurs en protéines et en eau).

Que le Rat soit jeune ou adulte, dans tous les cas où l'on observe une hypertrophie, le contenu du tissu en ADN s'élève sans que la teneur de ce constituant ne soit modifiée. En ce qui concerne les phospholipides, aucune des modifications, tant quantitatives que qualitatives provoquées par le froid, n'a pu être retrouvée après traitement par des catécholamines.

En conclusion, des injections répétées de catécholamines ne permettent pas de reproduire totalement les effets de l'exposition chronique au froid

sur la graisse brune. De plus les résultats observés varient beaucoup selon l'âge des animaux et le mode d'injection des catécholamines.

2) *Hormones thyroïdiennes et développement du système nerveux central* (E. VIGOUROUX, en collaboration avec J. LEGRAND, Université de Montpellier).

On a étudié les flux d'incorporation et de désiodation de la thyroxine au niveau du cerveau du jeune rat. Ces flux sont plus importants à l'âge de 10 jours qu'à un mois (c'est-à-dire au moment où cette hormone joue un rôle essentiel dans la maturation du système nerveux central). On a ensuite dosé l'hormone thyroïdienne endogène dans le cerveau entier et dans la fraction neuronique isolée chez des jeunes rats en équilibre isotopique par  $^{125}\text{I}$ . Les teneurs en iode hormonal sont 4 à 6 fois plus élevées à 10 jours qu'à un mois tant dans le cerveau que dans les neurones isolés. L'ensemble des résultats suggère que le métabolisme des hormones thyroïdiennes est particulièrement intense au niveau du tissu cérébral pendant la deuxième semaine post-natale chez le Rat.

3) *Développement des connections cérébelleuses chez le Rat et quelques mutants de la Souris* (F. CREPEL et J. MARIANI).

L'étude électrophysiologique de la maturation du cervelet a été poursuivie, tant chez le Rat normal ou irradié que chez certains mutants de la Souris (recherches réalisées en collaboration avec J.-P. Changeux, M<sup>me</sup> N. Delhaye-Bouchaud, J. Legrand et C. Sotelo).

Chez le Rat normal, il a pu être démontré que la relation synaptique 1 à 1 entre fibres grimpantes et cellules de Purkinje — relation typique du mammifère adulte — est précédée, au cours du développement, par une multi-innervation temporaire des cellules de Purkinje par les fibres grimpantes. Cette innervation persiste chez le Rat rendu agranulaire par irradiation ainsi que chez la souris mutante « weaver », dont le cervelet est agranulaire en dehors de toute intervention expérimentale. Ces données suggèrent que les cellules granulaires et/ou les interneurons inhibiteurs du cervelet pourraient jouer un rôle dans le passage de la multi-innervation des cellules de Purkinje par les fibres grimpantes à leur mono-innervation.

#### PUBLICATIONS

J. CLOS, E. VIGOUROUX et J. LEGRAND, *Recherches des hormones thyroïdiennes endogènes dans les neurones isolés du cerveau de jeunes Rats* (*J. Physiologie*, Paris, sous presse).

F. CREPEL, N. DELHAYE-BOUCHAUD et J. LEGRAND, *Electrophysiological analysis of the circuitry and of the cortico-nuclear relationships in the agranular cerebellum of irradiated rats* (*Arch. Ital. Biol.*, 1976, t. 114, p. 49-74).

F. CREPEL, J. MARIANI et N. DELHAYE-BOUCHAUD, *Circuitry in the agranular cerebellum of adult rodents ; relationships with processes occurring normally in the developing cerebellum with special reference to climbing fibers* (*In* : « Afferent and Intrinsic Organization of Laminated Structures in the Brain », Göttingen, 1976, sous presse).

F. CREPEL, J. MARIANI et N. DELHAYE-BOUCHAUD, *Evidence for a multiple innervation of Purkinje cells by climbing fibres in the immature rat cerebellum* (*J. Neurobiol.*, 1976, sous presse).

F. CREPEL, J. MARIANI et N. DELHAYE-BOUCHAUD, *Maturation des connexions olivo-cérébelleuses chez le Rat blanc* (*J. Physiologie*, Paris, sous presse).

N. DELHAYE-BOUCHAUD, F. CREPEL et J. LEGRAND, *Circuitry and cortico-nuclear relationships in the agranular cerebellum of irradiated rats* (*Exper. Brain Res.*, 1975, vol. 23, suppl., 54).

N. DELHAYE-BOUCHAUD, F. CREPEL et J. MARIANI, *Mise en évidence d'une multi-innervation temporaire des cellules de Purkinje du cervelet par les fibres grimpantes au cours du développement chez le Rat* (*C.R. Acad. Sci.*, Paris, 1975, t. 281, p. 909-912).

Ph. HEMON, *Some aspects of fat metabolism in the brown adipose tissue of normal and hypothyroid rats during early postnatal development* (*Biol. Neonate*, 1976, t. 28, p. 241-255).

Ph. HEMON, D. RICQUIER et G. MORY, *The lipoprotein lipase activity of brown adipose tissue during early post-natal development of the normal and hypothyroid rat* (*Horm. Metab. Res.*, 1975, t. 7, p. 481-484).

J. MARIANI et F. CREPEL, *Multiple innervation of Purkinje cells by climbing fibres in the cerebellum of the weaver mutant mouse* (*J. Neurobiol.*, 1976, sous presse).

J. MARIANI et F. CREPEL, *Réorganisation synaptique dans le cortex cérébelleux des souris mutantes « weaver » et « reeler »* (*J. Physiologie*, Paris, sous presse).

G. MORY, D. RICQUIER et Ph. HEMON, *Effets de traitements chroniques par l'isopropyl-noradrénaline sur le tissu adipeux brun de Rat* (*J. Physiologie*, Paris, sous presse).

D. RICQUIER et Ph. HEMON, *A study of phospholipids and triglycerides in several tissues of the rat during fetal and neonatal development. Effect of cretinism* (*Biol. Neonate*, 1976, t. 28, p. 225-240).

D. RICQUIER, G. MORY et Ph. HEMON, *Effects of chronic treatments upon the brown adipose tissue of young rats. I. Cold exposure and hyperthyroidism* (*Pflügers Archiv (Eur. J. Physiol.)*, 1976, t. 362, p. 241-246).

E. VIGOUROUX, *Etude in vivo de quelques aspects du métabolisme de la thyroxine et des iodures dans le cerveau du jeune Rat* (*J. Physiologie*, Paris, 1975, t. 71, p. 151A-152A).

### THÈSES

Thèses de Doctorat ès-Sciences, soutenues devant l'Université Pierre-et-Marie-Curie :

Jean-Michel GAREL, *Rôle physiologique de la calcitonine dans le développement pré et post-natal* (17 juin 1975) ;

Francis CREPEL, *Développement du cervelet chez le Rat ; influence des hormones thyroïdiennes, et rôle des interactions cellulaires* (5 mars 1976).

Thèses de Doctorat de 3<sup>e</sup> Cycle (Endocrinologie), soutenues devant l'Université Pierre-et-Marie-Curie :

Catherine ROBERT-MARTINET, *Développement en culture organotypique de la thyroïde de fœtus de Rat* (5 mai 1976) ;

Gérard MORY, *Etude comparative des effets du froid et de quelques traitements chroniques sur le tissu adipeux brun du Rat* (21 mai 1976).

### ACTIVITÉS DIVERSES

#### 1) Conférences, congrès et missions

M. Alfred JOST a été invité à prononcer une conférence à la première réunion de la Société américaine d'Andrologie réunie à Worcester, Mass., du 31 mars au 2 avril 1976.

M. Jean GIRARD a participé aux réunions annuelles de l'Association Européenne pour l'Etude du Diabète (4-6 septembre 1975) à Munich (Allemagne), et du Diabetic Pregnancy Study Group (7-9 septembre 1975) à Vienne (Autriche), au Colloque « Beta Cell Membrane : exocytosis and the gluco-

receptor » (28-29 novembre 1975) à Orsay, et aux Journées de Diabétologie de l'Hôtel Dieu (13-15 mai 1976) à Paris.

M. Jean-Michel GAREL a été invité à faire une conférence à l'European Symposium on Pediatric Research, à Budapest (Hongrie) du 21 au 24 août 1975, sur le rôle de la calcitonine et de l'hormone parathyroïdienne dans le développement pré et post-natal. Il a également participé comme conférencier invité au Colloque du groupe des minéraux de l'INRA à Clermont-Ferrand les 20 et 21 mai 1976.

MM. F. CREPEL et J. MARIANI ont participé au « First European Neurosciences Meeting » (Münich) (septembre 1975), et au Seventh International Neurobiology Meeting : « Afferent and Intrinsic Organization of Laminated Structure in the Brain » (Göttingen) (septembre 1975). Ils ont présenté des communications à la réunion « Neurophysiologie » de l'Association des Physiologistes, Marseille (février 1976).

M<sup>lle</sup> A. COHEN, MM. P. FERRE, M. GILBERT, G. MORY et E. VIGOUROUX ont présenté des communications à la réunion « Endocrinologie » de l'Association des Physiologistes de Langue française les 7 et 8 mai 1976, à Paris. Cette réunion avait été organisée par MM. Ph. HEMON et S. JARD.

## 2) *Chercheurs étrangers*

Le Dr Clara Flora RIVELIS, chef de travaux à l'Université de Rosario (Argentine), a travaillé au Laboratoire jusqu'à fin avril 1976.

M. J. LOUNANA, boursier de la République populaire du Congo, est entré au Laboratoire en octobre 1975.