

## Physiologie cellulaire

M. François MOREL, professeur

L'ajustement du fonctionnement rénal aux besoins actuels de l'organisme s'effectue principalement par l'intermédiaire de commandes humorales et s'exerce de façon relativement indépendante et sélective sur l'une ou l'autre des principales fonctions d'excrétion que remplit cet organe pour contribuer à assurer l'« homéostasie » du milieu intérieur. Schématiquement, les fonctions d'excrétion majeures remplies par le rein et assujetties à de telles régulations humorales sont les suivantes : 1) Régulation de la balance hydro-minérale ; 2) Régulation de la pression osmotique ; 3) Régulation de la balance acido-basique ; 4) Régulation du métabolisme phospho-calcique ; 5) Régulation du catabolisme azoté. Or, ces fonctions sont la résultante, à l'échelle de l'organe entier, des propriétés de perméabilité et de transport qui caractérisent chacun des segments successifs qui constituent le néphron. C'est au niveau cellulaire qu'il convient donc d'analyser le mécanisme d'action de chacune des hormones impliquées et cela sur chacun de ses segments-cibles respectifs ; mais, pour décrire correctement le rôle joué par une hormone dans l'homéostasie et en décrire les modalités, il importe de surcroît que les effets primaires observés au niveau cellulaire puissent être intégrés à l'échelle du rein ; cette opération suppose une connaissance approfondie du fonctionnement de l'organe en tant que système, ce qui, nous le verrons dans le cas particulier du mécanisme de concentration de l'urine, ne va pas sans poser des problèmes intéressants mais difficiles.

Dans une première partie, nous avons résumé les connaissances acquises au cours des dernières années concernant le mode de fonctionnement à l'échelle cellulaire des principaux segments tubulaires du rein.

\*  
\*\*

En ce qui concerne le *tubule contourné proximal* (TCP), des progrès ont été accomplis qui aujourd'hui permettent de se faire de son fonctionnement une

représentation cohérente dans ses grandes lignes, sinon définitive dans ses détails. Les cellules épithéliales qui forment les parois de ce segment tubulaire comportent entre autres deux structures différenciées qui s'avèrent fonctionnellement importantes : la région apicale des cellules, d'une part, forme une bordure en brosse dont la membrane contient une grande richesse en systèmes moléculaires de « cotransport » de sodium et de substrats organiques (sucres et acides aminés) ; les jonctions intercellulaires d'autre part, sont caractérisées par une conductance électrique très élevée qui correspond à une haute perméabilité pour les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  ; les jonctions et les espaces intercellulaires qui les prolongent constituent donc une voie de passage le long de laquelle ces ions peuvent diffuser passivement de la lumière tubulaire vers les espaces pérîtubulaires le long de leur gradient électrochimique. Cette voie, en raison de sa haute conductance, assure le couplage électrique des membranes cellulaires baso-latérale et apicale. L'ATP-ase de transport  $\text{Na}^+ \rightleftharpoons \text{K}^+$ , localisée dans la première de ces membranes, permet la polarisation électrique du système et maintient l'activité de l'ion  $\text{Na}^+$  basse dans le milieu intracellulaire. Répercuté au niveau apical, ce gradient électrochimique de sodium — par un mécanisme de cotransport dans la membrane plasmique — fournit l'énergie nécessaire à la réabsorption « active » (contre le gradient de concentration) des acides aminés et du glucose contenus dans le filtrat glomérulaire. De plus, par échange  $\text{Na}^+ \rightleftharpoons \text{H}^+$ , il permet l'acidification du fluide tubulaire et le déplacement d'une large fraction du bicarbonate filtré. Il en résulte une augmentation relative de la concentration des ions  $\text{Cl}^-$  dans le fluide tubulaire ; le potentiel de diffusion qui lui est associé (lumière électropositive) entraîne une diffusion nette et passive de  $\text{Cl}^-$  et de  $\text{Na}^+$  hors du tubule, diffusion qui emprunte la voie intercellulaire. Ainsi, en définitive, par une série de processus de couplages énergétiques en cascade, c'est l'activité de l'ATP-ase pérîtubulaire qui permet au niveau du PCT, via le gradient électrochimique de sodium, la réabsorption active du glucose et des acides aminés, l'acidification du fluide tubulaire et également la réabsorption passive intercellulaire de sel et d'eau.

\*  
\*\*

*Le fonctionnement du segment large de la branche ascendante des anses de Henle a été l'objet d'une analyse particulièrement détaillée au cours, en raison de l'importance du rôle qu'il joue dans le mécanisme de concentration de l'urine.*

Il faut rappeler que ce segment des néphrons est entièrement localisé dans la profondeur du tissu rénal et n'entre jamais en contact avec la surface de l'organe, de sorte que les caractéristiques de son fonctionnement ne peuvent pas être étudiées *in situ* par la méthode des microponctions tubulaires.

L'analyse expérimentale des propriétés de la branche large des anses de Henle a été rendue possible par le développement de microméthodes permettant

la perfusion de segments isolés des néphrons en survie *in vitro*. Les seuls travaux publiés à ce jour proviennent de 2 groupes de chercheurs et aboutissent, dans leurs grandes lignes, à des conclusions semblables : les parois de la branche large sont d'abord relativement imperméables à l'eau (elles maintiennent d'ailleurs une différence de pression osmotique notable entre milieu intratubulaire et milieu pérítubulaire dans les conditions normales de leur fonctionnement ; elles sont ensuite le siège d'un processus intense de réabsorption de sel (NaCl). Mais une étude minutieuse recourant à des mesures de flux unidirectionnels à l'aide de traceurs radioactifs dans diverses conditions de gradient électrochimique a permis d'établir que la composante active principale de ce transport de NaCl intéresse l'ion chlorure, et non l'ion sodium comme c'est le cas habituel pour la majorité des types de cellules épithéliales. Ce processus de transport actif de  $\text{Cl}^-$  est inhibé par l'ouabaine ajoutée dans le milieu pérítubulaire, ou encore par certains diurétiques (comme le furosemide) ajoutés dans le milieu de perfusion. D'ailleurs la polarité électrique spontanée de ce segment tubulaire correspond à un potentiel électropositif du côté apical lorsque le tubule est perfusé sur ses deux faces par la même solution, par exemple un ultrafiltrat de plasma.

Les observations recueillies sont encore insuffisantes pour que les propriétés globales de transport et de perméabilité mesurées dans les conditions précisées ci-dessus puissent être interprétées en termes de physiologie cellulaire ; ceci revient à dire qu'il apparaît encore prématuré de tenter d'intégrer les données disponibles à l'échelle d'un système compartimenté comportant deux membranes différentes en série et une « voie de shunt » en parallèle, comme l'est un épithélium tubulaire dans sa représentation la plus schématique.

\*  
\*\*

Les modalités du *fonctionnement du tubule collecteur* sont mieux connues que celles des autres segments du néphron, au moins en ce qui concerne sa perméabilité à l'eau et les variations de celle-ci sous l'influence de l'hormone antidiurétique. Le tubule collecteur du lapin perfusé *in vitro* présente une perméabilité osmotique spontanée très basse ; après adjonction de vasopressine dans le milieu à la concentration de  $10^{-12}$  M, le flux osmotique d'eau à travers la structure augmente plus de 20 fois ; dans le même temps, la perméabilité de diffusion pour l'eau augmente environ d'un facteur 2 ; il faut noter que cet effet de l'hormone ne s'accompagne d'aucune variation des coefficients de perméabilité du tubule collecteur pour de petites molécules hydrophiles et neutres comme l'urée, la thiourée ou l'acétamide. Le passage net d'eau entraîne une dilatation des espaces intercellulaires de la structure ; mais il s'agit en l'occurrence d'un effet secondaire de l'hormone. L'effet primaire de perméabilisation se produit au niveau de la membrane plasmique apicale des cellules, qui agit comme facteur limitant. La nature même de cet effet primaire

n'est pas encore connue à l'échelle moléculaire. CHEVALLIER et BOURGUET ont observé, en utilisant la technique de « cryodécapage » sur la vessie des amphibiens (une structure sensible à l'hormone antidiurétique chez beaucoup d'espèces de ce groupe), que les particules intramembranaires de la membrane muqueuse, normalement distribuées aléatoirement, se regroupent en agrégats lorsque la structure épithéliale a été perméabilisée par l'hormone. Il reste à démontrer si la formation de ces agrégats correspond ou non à l'ouverture de « voies de passage » pour le flux osmotique d'eau au travers du double feuillet lipidique hydrophobe de la membrane plasmique apicale.

Par ailleurs, la paroi du tubule collecteur est spontanément électro-négative du côté apical ; l'application d'ADH entraîne une hyperpolarisation transitoire suivie d'une dépolarisation prolongée mais réversible. Les mesures de flux nets de cations montrent qu'un échange  $\text{Na}^+$  réabsorbé  $\rightleftharpoons$   $\text{K}^+$  sécrété se produit à travers la paroi du tubule collecteur avec une stoechiométrie d'1 pour 1 ; les deux composantes sont « actives » (elles se produisent toutes deux contre le gradient électrochimique correspondant) ; ce processus permet d'abaisser la concentration de sodium dans le fluide tubulaire jusqu'à une valeur minimale de l'ordre de 5 à 6 mEq/l. Il convient de mentionner encore l'existence d'une perméabilité passive élevée de cette structure pour les ions  $\text{Cl}^-$  ; il y existerait un processus de diffusion par échange (« exchange diffusion ») pour l'ion chlorure. Dans ce segment, le transport actif de sodium est inhibé par l'amiloride, dont la présence dans le fluide de perfusion entraîne en outre une inversion du sens de la polarisation électrique transépithéliale.

Ces diverses fonctions sont soumises à l'action de plusieurs hormones ; c'est ainsi que la différence de potentiel spontanée mesurée *in vitro* est beaucoup plus élevée sur les tubules collecteurs de lapins dont la sécrétion de minéralocorticoïdes surrénaliens avait été stimulée, que sur ceux pour qui au contraire elle était basse *in vivo*. C'est donc sur ce segment des néphrons que l'aldostérone exerce pour une part son action et produit la modification bien connue du rapport de la concentration du sodium à celle du potassium dans l'urine.

Quant à l'hormone antidiurétique, les variations transitoires qu'elle provoque sur la différence de potentiel du tubule collecteur résultent d'une stimulation de la composante active du transport de sodium et non d'une augmentation de sa conductance passive comme dans le cas de la peau des amphibiens. De toute façon, cet effet de l'hormone reste d'importance physiologique limitée par rapport à l'action qu'elle produit sur la perméabilité à l'eau.

\*  
\*\*

En ce qui concerne *le tubule contourné distal*, enfin, nous disposons encore de peu de données directes se rapportant à son mode de fonctionnement à

l'échelle cellulaire, et surtout à l'existence de contrôles hormonaux s'exerçant sur lui. Des résultats indirects et déjà anciens ont conduit à admettre depuis longtemps que les parois de ce segment tubulaire sont perméabilisées par la vasopressine comme le sont celles du tubule collecteur. Cette certitude repose sur les premières observations obtenues par microponction tubulaire *in vivo* chez le Rat ; Wirz d'une part, puis Gottschalk et al. d'autre part, avaient en effet observé que le fluide tubulaire reste hypoosmotique au plasma sanguin le long du tubule distal en l'absence d'ADH circulante, tandis qu'il devient isoosmotique au plasma dès la fin du premier tiers de ce segment en présence de l'hormone. Depuis, ces résultats ont cependant été contredits par ceux obtenus sur d'autres espèces animales, ce qui suggère que des biais techniques ou au moins des différences selon les espèces animales doivent être pris en considération avant de conclure formellement à l'existence d'une action de l'ADH sur le tubule contourné distal.

\*  
\*\*

Enfin des difficultés supplémentaires et de nature différente surgissent lorsqu'on essaye d'intégrer ces données analytiques à l'échelle du rein tout entier afin de rendre compte de l'effet antidiurétique global de la vasopressine. On sait en effet qu'en présence de l'hormone, un gradient tissulaire de pression osmotique élevé existe dans le rein, et que ce gradient est très atténué sinon aboli en l'absence de l'hormone. L'établissement de ce gradient résulte du travail de transport de NaCl (en excès sur l'eau) effectué par la branche ascendante des anses de Henle (transport que nous avons évoqué ci-dessus). Dans la branche descendante des anses, la pression osmotique du fluide tubulaire augmente par équilibration passive avec celle du fluide péricubulaire ; l'intégration de ces processus élémentaires le long de l'axe cortico-médullaire du rein aboutit à un gradient continu en raison d'un mécanisme de multiplication de concentration par contre-courant. L'analyse détaillée de ce mécanisme dépasse le cadre de ce compte rendu de cours ; disons simplement que le fonctionnement global du système dépend étroitement des propriétés de perméabilité passive de la paroi de la branche descendante des anses : si celle-ci possède pour le sel et l'urée un coefficient de réflexion élevé (voisin de l'unité), la concentration du fluide tubulaire se fait par soustraction osmotique d'eau, et le débit de fluide fourni à la branche ascendante (et au tubule distal) est inversement proportionnel au gradient de pression osmotique tissulaire. Au contraire, si ce segment est librement perméable au sel et à l'urée, l'équilibration osmotique se fait par diffusion nette d'urée et de sel dans le tubule le long de la branche descendante, et alors le débit d'eau fourni à la branche ascendante reste constant et indépendant de sa pression osmotique ; mais dans ce deuxième cas, le travail de transport actif de sel par la branche ascendante doit augmenter proportionnellement au gradient osmotique ; les données disponibles suggèrent que cette deuxième hypothèse est la plus vraisemblable, puisqu'il a été observé qu'à l'entrée du

tubule distal, le débit et la composition du fluide tubulaire sont indépendants de la pression osmotique de l'urine finale. Dès lors, il faut envisager une action supplémentaire de la vasopressine, s'exerçant sur un des segments de l'anse de Henle : une telle action pourrait par exemple consister en une stimulation du transport actif de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  par la branche ascendante de l'anse ; celle-ci permettrait notamment la constitution et le maintien du gradient médullaire de pression osmotique en présence d'ADH.

Tous ces aspects d'une physiologie rénale intégrée ont été développés au cours, et les données disponibles dans la littérature longuement analysées et discutées à la lumière du rôle possible joué par chacun des nombreux paramètres du système complet. Une attention particulière a été portée aux résultats récents obtenus grâce à la souche Brattleboro issue de la race de Rat Long Evans et qui est porteuse d'une mutation récessive entraînant chez l'homozygote un diabète insipide permanent par défaut de synthèse de vasopressine dans les noyaux supraoptiques et paraventriculaires. Une certaine dissociation entre l'action atidiurétique de la vasopressine et son action sur le pouvoir de concentration du rein a été mise en évidence chez cette souche mutante.

\*

\*\*

En conclusion, l'ensemble du cours a été consacré à l'analyse du mécanisme d'action d'une seule hormone sur le rein : la vasopressine ; partant du niveau cellulaire, nous avons tenté de rendre compte de la fonction globale de l'organe et de sa régulation à propos du mécanisme de concentration de l'urine par le rein ; il s'agissait d'un sujet circonscrit et très étudié depuis longtemps ; notre tentative, pourtant, a démontré que des informations essentielles manquent encore et que la synthèse projetée ne pouvait être envisagée aujourd'hui sans de prudentes réserves. Mais elle a aussi révélé que certaines des opinions solidement admises aujourd'hui par les spécialistes du domaine reposent sur des observations contestables ou sur des raisonnements erronés.

#### SÉMINAIRES

Quelques séminaires portant sur le thème du cours ont permis d'approfondir certains sujets d'actualité :

M. Christian ROY (C.N.R.S.) a parlé de l'adénylate-cyclase couplée aux récepteurs de la vasopressine dans la médullaire du rein de porc ;

M. Rabary RAJERISON (Paris VI) a parlé de la régulation exercée par la vasopressine sur l'activité adényl-cyclasique vasopressine dépendante du rein de Rat ;

MM. Jacques BOURGUET et J. CHEVALIER (C.E.N. Saclay) ont parlé des effets de l'hormone neurohypophysaire sur l'ultrastructure de la membrane apicale des cellules de la vessie de grenouille étudiée par cryodécapage.

#### TRAVAUX DU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

Le laboratoire de Physiologie cellulaire est subdivisé en 4 équipes dont les orientations respectives principales sont :

- 1) Etudes de physiologie rénale ;
- 2) Etudes des récepteurs aux neuromédiateurs ;
- 3) Etudes d'endocrinologie moléculaire ;
- 4) Etudes physicochimiques des membranes.

#### 1) *Etudes de physiologie rénale* (D. CHABARDÈS, M. IMBERT-TEBOUL, F. MOREL)

Le programme mentionné dans notre précédent rapport a été poursuivi et développé. Rappelons qu'il repose sur une microméthode mise au point au laboratoire, et qui permet de mesurer l'activité adénylate-cyclasique dans des échantillons contenant chacun un fragment unique de tubule rénal obtenu par microdissection de rein de lapin traité à la collagénase. Cette méthode a permis d'établir la cartographie des sites d'action le long du néphron d'un certain nombre d'hormones dont l'action s'exerce via la stimulation de cet enzyme. Nous avons rapporté l'an dernier les résultats obtenus avec la parathormone. Depuis, cette analyse a été étendue à la vasopressine et aux catécholamines. Pour l'hormone antidiurétique, il a été observé que le tubule contourné distal, chez le Lapin, n'est pas un récepteur de l'action de la vasopressine, contrairement à l'opinion habituelle ; par contre, en plus de celle du tubule collecteur, la vasopressine stimule l'adénylate-cyclase des segments qui constituent la branche ascendante de l'anse de Henle (segment grêle et portion médullaire du segment large).

Pour les agonistes beta adrénergiques (isoprénaline), des récepteurs tubulaires couplés à une adényl-cyclase ont été mis en évidence dans la partie terminale du tubule contourné distal et la portion initiale du canal collecteur qui lui fait suite.

Au cours de ces recherches, l'analyse systématique des régions distales du néphron dans lesquelles l'enzyme est sensible à chacune de ces différentes hormones a permis de mettre en évidence une « segmentation fonctionnelle »

du néphron qui ne correspond pas à la segmentation habituellement adoptée par les anatomistes et les physiologistes.

2) *Etudes des récepteurs aux neuromédiateurs* (J. BOCKAERT, A. ENJALBERT, M. LUCAS, et J. PRÉMONT)

Les recherches du groupe ont porté sur l'étude des récepteurs aux neurotransmetteurs du système nerveux central et des cellules gliales en culture.

a) Les récepteurs dopaminergiques, beta adrénergiques, et sérotoninergiques du système nerveux central. Cette recherche a été conduite en collaboration avec A.M. THIERRY et J.P. TASSIN du laboratoire de M. GLOWINSKI.

Une méthode a été mise au point permettant de réaliser le dosage de l'activité adényl-cyclasique (5 déterminations) sur un homogénat de tissu (1 mg ou moins) prélevé stereotaxiquement sur des coupes congelées de cerveau de rat. Elle permet de décrire les propriétés pharmacologiques des récepteurs dopaminergiques et beta adrénergiques de différentes structures du cerveau vis-à-vis d'agonistes et d'antagonistes. La répartition topographique de ces adénylate-cyclases est parallèle à la répartition des terminaisons nerveuses correspondantes (dopaminergiques et noradrénergiques) mesurée par le contenu en dopamine des homogénats ou la capture spécifique des médiateurs par les synaptosomes. Ceci suggère que les récepteurs aux neuromédiateurs couplés à l'adényl-cyclase sont étroitement liés aux structures synaptiques. D'autre part, une hypersensibilité des récepteurs dopaminergiques et beta adrénergiques couplés à une adényl-cyclase a été observée après dénervation spécifique des voies présynaptiques. Ceci suggère que ces récepteurs sont post-synaptiques. Une adényl-cyclase sensible à la sérotonine a également été trouvée dans des homogénats de différentes régions du système nerveux central de rat nouveau-né. La caractérisation pharmacologique de ce récepteur a été entreprise.

b) Etude du récepteur beta adrénergique des cellules gliales en culture. Les cellules gliales en culture contiennent une adényl-cyclase sensible aux agonistes beta adrénergiques. Nous avons commencé l'étude de ce récepteur en utilisant un bloquant beta adrénergique spécifique marqué au tritium ( $^3\text{H}$ -Alpronolol). Les résultats préliminaires montrent que ce bloquant se lie avec une haute affinité ( $5 \times 10^{-9}\text{M}$ ) aux récepteurs membranaires impliqués dans l'activation de l'adényl-cyclase. Il pourra vraisemblablement être utilisé pour l'étude des variations d'activité du récepteur dans différentes situations expérimentales.

3) *Etudes d'endocrinologie moléculaire* (S. JARD, D. BUTLEN, B. CANTAU, G. GUILLON, J. PENIT, R. RAJERISON, C. ROY)

Les recherches sur les mécanismes d'activation de l'adényl-cyclase rénale sensible à l'hormone antidiurétique et sur l'adényl-cyclase des cellules de neuroblastome ont été poursuivies par le groupe animé par S. JARD.

Sur l'adényl-cyclase du rein de Porc, il a été montré que la composition ionique du milieu d'incubation influe profondément sur l'activité de l'enzyme. Une stimulation importante peut être obtenue avec des anions comme les ions  $\text{SCN}^-$  et  $\text{Cl}^-$ . L'amplitude de cet effet ionique dépend dans une grande mesure de l'état d'activité dans lequel est placé l'enzyme (stimulation par l'ADH, le fluorure ou le 5'-guanylyl-imidodiphosphate). Des conditions expérimentales ont été définies qui permettent d'exalter la réponse hormonale, l'ADH pouvant augmenter de plus de 60 fois l'activité de l'adényl-cyclase. La nature des effets ioniques observés reste en partie à définir. L'étude systématique des effets d'une série d'anions et de cations a fait apparaître une sélectivité marquée, une observation qui suggère que les modifications de force ionique du milieu ne sont pas les seules en cause. Il n'apparaît pas de corrélations systématiques entre les intensités relatives des effets des différents anions et le pouvoir chaotropique de ces anions. Une étude détaillée des effets du 5'-guanylyl-imidodiphosphate a été réalisée. Ce nucléotide produit une activation lente et irréversible de l'adényl-cyclase. L'enzyme ainsi traitée reste sensible à une stimulation hormonale, mais les caractéristiques de la réponse sont modifiées. Le nucléotide modifie vraisemblablement la fonction de couplage, c'est-à-dire la relation liant le taux d'occupation des récepteurs à l'amplitude de la réponse.

Les limitations rencontrées dans l'interprétation des données cinétiques mesurées sur l'enzyme situé dans son environnement membranaire naturel ont conduit au développement de recherches nouvelles sur l'adényl-cyclase solubilisée. La première partie de ce programme a comporté une analyse systématique des conditions optimales de solubilisation par les détergents. Les études réalisées avec une série importante de détergents ont permis de montrer que l'efficacité de ces derniers est largement conditionnée par la valeur du HLB (hydrophilic-lipophilic-balance) et que la chaîne carbonée du détergent doit avoir une longueur minimum pour permettre une bonne conservation de l'activité de l'enzyme soluble.

Sur le neuroblastome, les recherches ont essentiellement porté sur des cellules synchronisées. L'activité de l'adényl-cyclase membranaire et sa sensibilité à trois agonistes différents — les prostaglandines  $\text{PGE}_1$ , l'adénosine et la dopamine — ont été mesurées aux différentes phases du cycle cellulaire. L'évolution au cours du cycle de la sensibilité de l'enzyme est importante, mais différente pour chacun des agonistes étudiés, bien qu'il soit possible de montrer que les récepteurs spécifiques des prostaglandines, de l'adénosine et de la

dopamine contrôlent l'activité de la même adényl-cyclase. Il est donc vraisemblable que les fonctions de reconnaissance et de transduction de récepteurs membranaires spécifiques sont l'objet de modulations indépendantes des régulations qui pourraient porter sur le contenu ou l'activité de l'adényl-cyclase à laquelle ils sont fonctionnellement couplés.

Sur l'adényl-cyclase du rein de Rat, il a été montré que des modifications aiguës ou chroniques de la concentration d'hormone circulante *in vivo* peuvent affecter profondément la capacité de l'adényl-cyclase membranaire à répondre à une stimulation hormonale *in vitro*. Pour cette étude, des rats porteurs d'une déficience héréditaire dans les mécanismes de production de l'hormone antidiurétique ont été utilisés de même que des animaux normaux soumis à différents traitements physiologiques connus pour modifier la sécrétion d'hormone endogène (diabète insipide, déshydratation, etc.) ou recevant des administrations d'hormone exogène. Dans les limites des concentrations physiologiques, la sensibilité d'adényl-cyclase à l'hormone antidiurétique est d'autant plus importante que la concentration de l'hormone circulante est plus élevée. L'administration de doses élevées d'hormone entraîne une désensibilisation rapide et réversible de l'adényl-cyclase rénale.

4) *Etudes physico-chimiques des membranes* (Cl. GARY-BOBO, F. BASTIDE, P. CHAMPEIL, H. GOUDEAU, J. WIETZERBIN, M. BEN YUCEF)

a) *Etude des processus diffusionnels dans les systèmes modèles phospholipides eau.*

La diffusion des acides gras se caractérise par la présence de deux maxima de vitesse dont le second, situé aux alentours de 27 % d'eau dans les phases lamellaires lécithine-eau, est liée aux seuls mouvements de la forme ionisée de l'acide.

L'origine de ce changement brusque et transitoire de régime de diffusion a été recherchée dans l'organisation spatiale des interactions ion-dipôle choline phosphate, en relation avec la taille de l'espèce diffusante. Les mesures effectuées sur des séries d'acides gras hydroxylés et mono ou di-carboxyliques montrent que la position des maxima dépend, pour une hydratation donnée de la phase (commandant les distances entre dipôles dans le canal hydrophile), de la taille moléculaire de l'acide ; la vitesse maximum semble être atteinte au moment où les dimensions du canal sont comparables au diamètre de l'acide ; les mouvements de celui-ci ne sont plus aléatoires dans les trois directions de l'espace, mais restreints dans des directions privilégiées. On voit ainsi apparaître, liée au mécanisme de diffusion lui-même, une « spécificité » très étroite des voies de passages hydrophiles.

Concurremment, l'étude de la spécificité de la diffusion des cations alcalins monovalents montre qu'ils s'ordonnent en séquences qui varient en fonction de l'état d'hydratation de la phase. La sélectivité dont le système lécithine-eau fait preuve, est ici encore liée aux interactions de l'ion avec les dipôles au cours de ses mouvements. Les résultats ont été confrontés avec les prévisions théoriques qui peuvent être déduites de la théorie de la sélectivité ionique d'EISEMAN : moyennant un certain nombre d'hypothèses portant sur des paramètres de non équilibre, qui ne sont pas pris en considération par la théorie, celle-ci se montre applicable.

L'ensemble de ces recherches de diffusion met en évidence l'importance que peuvent avoir pour la sélectivité dont font preuve les voies de passage ionique dans les membranes biologiques les paramètres liés aux conditions de mouvements de l'ion dans la voie de passage et non seulement aux conditions d'admission dans celle-ci.

b) *Etude par spectroscopie RPE de la translocation de l'ion  $Ca^{++}$  au niveau de l'ATP-ase  $Ca^{++}$  du réticulum sarcoplasmique de lapin*

Dans les conditions où les vésicules de réticulum sont marquées avec un dérivé nitroxyde de l'iodoacétamide (ISL) sans que l'activité ATP-ase soit altérée, le spectre des marqueurs liés à la membrane s'est révélé sensible à la concentration de calcium libre dans la membrane, alors qu'il est insensible à celle du  $Mg^{++}$  ; le changement de spectre se produit pour des concentrations très basses en  $Ca^{++}$  libre ( $10^{-6}$  M). Le marqueur sensible au  $Ca^{++}$  est fixé sur l'ATP-ase elle-même et non sur d'autres protéines membranaires et la zone de concentration dans laquelle le changement de spectre se produit est identique à celle activant l'enzyme ; on peut admettre comme hypothèse que ce changement spectral est induit par la fixation du  $Ca^{++}$  sur le site activateur de l'enzyme.

Sur la base de ces résultats, les recherches se poursuivent pour vérifier l'hypothèse, avancée par nombre d'auteurs, selon laquelle la phosphorylation de l'ATP-ase serait contrôlée par le calcium lié via un changement de conformation.

c) *Etude du mécanisme de contrôle de l'ADH sur la perméabilité au sodium de la face apicale des cellules épithéliales de la peau de grenouille. Les interactions lanthane-ADH ont été précisées.* En effet, le lanthane exerce dans certaines conditions un effet de stimulation sur le courant de court-circuit, effet qui n'est pas strictement additif à celui de l'ADH. Par contre, dans d'autres circonstances particulières, le lanthane bloque l'augmentation du courant de court-circuit provoquée par l'hormone. Les corrélations existant entre les résultats de deux types de situations expérimentales ont permis de définir un modèle du « pore sodium » de la peau de grenouille. Selon ce

modèle, l'effet excitateur du lanthane est dû à une modification de la différence de potentiel existant réellement au travers de la membrane apicale. De plus, le modèle postule l'existence de charges négatives saturées à l'état normal par les ions calcium et « délocalisées » lors de l'action hormonale. Par ailleurs, nous poursuivons l'étude des effets de l'hormone sur la membrane apicale des cellules épithéliales de vessie, en utilisant la perméabilisation de cette membrane apicale au potassium par la valinomycine, comme test de la structure membranaire et de ses modifications par l'hormone.

*Equipes rattachées au laboratoire de Physiologie cellulaire*

Les recherches du groupe de Neuroendocrinologie cellulaire dirigé par M<sup>me</sup> A. TIXIER-VIDAL se sont poursuivies simultanément dans trois directions :

1) *Mécanisme d'action du TRH (Thyreotrope releasing hormone) sur la sécrétion de prolactine par des lignées continues de cellules antéhypophysaires de rat (GH3)*

Faisant suite à nos travaux antérieurs montrant l'existence d'un flux et d'un efflux permanents de <sup>3</sup>H-TRH au cours de l'interaction du TRH avec les cellules GH3, l'éventuelle implication de l'ATP-ase dépendante du sodium et du potassium a été testée par le moyen de l'ouabaine  $5.10^{-4}$  M. Dans ces conditions, l'ouabaine seule ne modifie par la libération spontanée de prolactine en 30 mn, mais elle inhibe par contre à la fois la capacité de liaison du <sup>3</sup>H-TRH et l'effet stimulant induit par ce dernier sur la libération de prolactine. Le pourcentage d'inhibition est fonction de la dose de <sup>3</sup>H-TRH (D. GOUDJI et coll.).

D'autre part, différents paramètres de l'action du TRH ont été testés en fonction des phases du cycle cellulaire sur des cellules GH3 synchronisées. La capacité de liaison du <sup>3</sup>H-TRH existe pendant toute la durée du cycle, mais elle présente un maximum (40-80 %) pendant la phase S. Par contre, la réponse biologique au TRH — libération de prolactine après 30 mn de contact — est maximale pendant la phase GL (300 %) et diminue d'un facteur 3 dès le début de la phase S. Ces résultats suggèrent une hétérogénéité fonctionnelle et morphologique des récepteurs au TRH dont l'étude se poursuit dans cette optique (A. FAIVRE et coll.).

Enfin la spécificité de liaison du <sup>3</sup>H-TRH par les cellules GH3 et la reproductibilité des résultats quantitatifs obtenus ont permis la mise au point d'un dosage du TRH par radiorécepteur dont le seuil de sensibilité se situe à 200 pgr. Il est appliqué à la mesure du contenu en TRH d'extraits de différentes parties du cerveau de souris, adulte ou fœtale (A. FAIVRE et coll.).

## 2) *Différenciation des cellules hypothalamiques fœtales en culture*

Les études se sont poursuivies sur différents clones obtenus antérieurement par transformation virale (SV 40) de cellules hypothalamiques fœtales de souris préalablement cultivées (DE VITRY et al., 1974). Il avait été précédemment montré, à l'aide de critères morphologiques, biochimiques et immunologiques, que l'un de ces clones (C7) effectuait la synthèse d'une hormone hypothalamique, la vasopressine et de sa protéine porteuse, la neurophysine (DE VITRY et coll., 1974). L'étude ultrastructurale, cytoenzymologique et immunocytoologique de 14 clones et sous-clones de la souche originale montre que ces clones se répartissent en deux groupes : 1) des neurones sécréteurs qui tous possèdent les caractères ultrastructuraux et immunocytochimiques du clone C7 synthétisant neurophysine et vasopressine, 2) des cellules nerveuses primitives, non neuronales, qui pourraient représenter des cellules précurseurs des clones neurosécréteurs (TIXIER-VIDAL et DE VITRY).

D'autre part, l'étude ultrastructurale de cultures primaires de cellules hypothalamiques provenant de fœtus de souris de 14 jours et maintenues pendant des durées croissantes, a permis d'identifier les différents types cellulaires (neurones, cellules gliales (cellules épendymaires) qui composent la monocouche et de définir les relations spatiales très précises qui s'établissent entre ces différents types (BENDA, DE VITRY et TIXIER-VIDAL).

## 3) *Immunocytochimie ultrastructurale des cellules antéhypophysaires et hypothalamiques*

Diverses hormones antéhypophysaires de nature glycoprotéique (LH et ses deux sous-unités, FSH) ou protéique (prolactine) ont été localisées au niveau subcellulaire dans des cellules cultivées en monocouche par C. TOUGARD et R. PICART. Dans tous les cas, on constate l'existence de deux sites subcellulaires de l'antigénicité : les grains de sécrétion et le cytoplasme. Cette dernière localisation s'observe également dans des cellules à prolactine en lignée continue pratiquement dépourvues de grains de sécrétion. La même méthode a été également appliquée à la localisation de l'ACTH dans des cultures primaires de cellules antéhypophysaires (D' BACSY, stagiaire hongrois) et à celle de la neurophysine dans une lignée continue de cellules hypothalamiques. Les mêmes sites subcellulaires de l'antigénicité sont observés.

## MISSIONS, CONFÉRENCES ET CONGRÈS

M. François MOREL a prononcé des conférences : à Leningrad, comme invité de l'Académie des Sciences de l'U.R.S.S. ; à Bruxelles à l'occasion du 50<sup>e</sup> anniversaire de la Fondation médicale Reine Elisabeth ; à Bruxelles, comme invité

de la Faculté de Médecine de l'Université catholique de Louvain ; au département de Physiologie de l'Université de Montréal et au Royal Hospital, Mc Gill University, Montreal ; au Medical Center et au Veterans Administration Hospital de l'Université de Californie (San Francisco) ; au département de Physiologie de l'Université de Stanford (California) ; à Francfort, comme invité du Max Plank Institut ; il a présidé un symposium du 6<sup>e</sup> congrès international de Néphrologie à Florence ; avec D. CHABARDÈS et M. IMBERT, il a participé et soumis des communications à ce congrès international ainsi qu'à diverses autres réunions internationales [Post F.E.B.S. advanced course on isolated liver cells and kidney tubules, Royaumont ; first international workshop on phosphate (Paris)] ; third european meeting on biochemistry of the kidney, Bâle. M<sup>me</sup> IMBERT-TEBOUL a été co-rapporteur à la 43<sup>e</sup> réunion des physiologistes (Dijon).

M. Serge JARD a participé sur invitation aux réunions suivantes : à Helsinki, au Symposium on « Membrane receptors », International Congress of Pharmacology ; à Prague, au Symposium on « Cyclic nucleotides » ; à New York à un symposium on « neurohypophyseal peptides » ; à Berlin, à la Dahlem Conference on « Antihormones ». C. Roy a participé sur invitation au symposium « cyclic nucleotides », I.C.N., University of California, Winter Conferences, Los Angeles ; J. PENIT et B. CANTAU ont participé au Vth International Congress of Neurochemistry, à Barcelone.

M. Joël BOCKAERT a été invité à présenter ses résultats au symposium organisé par les laboratoires Miles « Cell membrane receptors for viruses, antigens and antibodies » à Baltimore. J. PRÉMONT a été invité à présenter un exposé au congrès sur « New first and second messengers in nervous system », à Brescia. J. BOCKAERT a présenté une communication au « 1st European neurosciences meeting ».

M. C.M. GARY-BOBO et M. J.L. RIGAUD ont participé au Vth International Biophysics congress à Copenhague. M. C.M. GARY-BOBO a donné deux conférences dans le cadre de la 3<sup>e</sup> « Winter School of Biophysics » qui s'est tenue en Pologne du 17 au 26 février 1976. M. P. CHAMPEIL a participé au cours avancé sur « Membrane Biochemistry », F.E.B.S., 8-9 mars 1976, à Zurich.

M<sup>me</sup> TIXIER-VIDAL et/ou certains de ses collaborateurs ont participé et présenté une communication aux réunions suivantes : à Milan, à l' « International Conference on growth hormones and related peptides » ; à Gottingen, à la réunion franco-allemande de neuroendocrinologie, 4-5 mai 1976.

Deux chercheurs étrangers ont effectué un séjour au laboratoire : le D<sup>r</sup> K. BAUER de Berlin comme boursier de l'E.M.B.O. et le D<sup>r</sup> A. NEMESKERI de Budapest à partir du 1<sup>er</sup> janvier 1976 et pour un an.

NOMINATIONS, PROMOTIONS, DIPLOMES ET THÈSES

M. C. ROY a été promu au grade d'Attaché de recherches au C.N.R.S. M. S. JARD a été nommé Conseiller scientifique à l'I.N.S.E.R.M. et à la commission XXII du Comité national du C.N.R.S. M. P. CHAMPEIL a été recruté à l'I.N.S.E.R.M. comme Attaché de recherches.

PUBLICATIONS

M. IMBERT, D. CHABARDES, M. MONTEGUT, A. CLIQUE and F. MOREL, *Vasopressin dependent adenylate cyclase in single segments of rabbit kidney tubule* (*Pflügers Archiv*, 357, p. 173-186, 1975).

M. IMBERT, D. CHABARDES, M. MONTEGUT, A. CLIQUE, F. MOREL, *Présence d'une adényl-cyclase stimulée par la vasopressine dans la branche ascendante des anses des néphrons du rein de Lapin* (*C.R. Acad. Sc. Paris*, 280, p. 2129-2132, 1975).

D. CHABARDES, M. IMBERT-TEBOUL, A. CLIQUE and F. MOREL, *Catecholamine sensitive adenylate cyclase activity in different segments of the rabbit nephron* (*Pflügers Archiv*, 361, p. 9-15, 1975).

F. MOREL, D. CHABARDES, M. IMBERT with the technical assistance of M. MONTEGUT and A. CLIQUE, *Functional segmentation of the rabbit distal tubule by microdetermination of hormone-dependent adenylate cyclase activity* (*Kidney International*, 9, p. 264-277, 1976).

G. LEBLANC and F. MOREL, *Na and K movements across the membranes of frog skin epithelia associated with transient current changes* (*Pflügers Archiv*, 358, p. 159-177, 1975).

F. MOREL and G. LEBLANC, *Transient current changes and Na compartmentalization in frog skin epithelium* (*Pflügers Archiv*, 358, p. 135-157, 1975).

M. MOREL, *Application de la microsonde à la Physiologie : microanalyse de la composition des fluides tubulaires intrarénaux* (*J. de Microscopie*, 22, p. 479-482, 1975).

P. POUJEOL, D. CHABARDES, J.P. BONVALET and C. ROUFFIGNAC, with the technical assistance of S. DEISS, *Glomerular filtration rate and microsphere distributions in single nephron of rat kidney* (*Pflügers Archiv*, 357, p. 291-301, 1975).

C. de ROUFFIGNAC et M. IMBERT, *Données récentes sur les mécanismes de concentration et de dilution de l'urine (Journal de Physiologie, t. 71, n° 2, p. 183 A - 255 A, 1975).*

M.J. OSBORNE, B. DROZ, P. MEYER and F. MOREL, *Angiotensin II : renal localization in glomerular mesangial cells by autoradiography (Kidney International, vol. 8, p. 245-254, 1975).*

M. IMBERT and C. de ROUFFIGNAC, *Role of sodium and urea in the renal concentrating mechanism in Psammomys obesus (Pflügers Archiv, 361, p. 107-114, 1976).*

F. MOREL, M. IMBERT, D. CHABARDES, *Measurement of hormone dependent adenylate cyclase activity in single pieces of rabbit kidney tubules (3rd Int. Symposium on renal metabolism, Basel, Editors Schmidt/Dubach, 1976).*

F. MOREL, D. CHABARDES and M. IMBERT, *Evidence that de distal convoluted tubule is functionally subdivided (VIth International Congress of Nephrology, Abstract, n° 49, juin 8-12, Firenze, 1975).*

M. IMBERT, D. CHABARDES and F. MOREL, *Localization of A.V.P. target sites along the nephron (VIth International Congress of Nephrology, Abstract, n° 46, juin 8-12, 1975).*

D. CHABARDES, M. IMBERT and F. MOREL, *Presence and localization of beta adrenergic receptors along the nephron (VIth International Congress of Nephrology, Abstract, n° 47, juin 8-12, Firenze, 1975).*

P. POUJEOL, D. CHABARDES, N. ROINEL and C. de ROUFFIGNAC, *Influence of acute NaCl loading on the handling of Na, Ca, Mg and P in the rat nephron (VIth International Congress of Nephrology, Abstract, n° 74, juin 8-12, Firenze, 1975).*

C. de ROUFFIGNAC, M. IMBERT and N. ROINEL, *Movements of Na, K, Cl, Mg, Ca, P and Urea along the papillary collecting ducts (CD) of Psammomys obesus (VIth International Congress of Nephrology, Abstract, n° 78, juin 8-12, Firenze, 1975).*

F. MOREL, *Isolated kidney tubule : Introduction (Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies, eds. J.M. Tager, H.D. Söling and J.R. Williamson, p. 373-374, 1976).*

F. MOREL, M. IMBERT and D. CHABARDES, *Adenylate cyclase activity measurements in isolated single pieces of kidney tubules (Proceedings of F.E.B.S. Advanced course, n° 38, july 27-28 in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies, it idem p. 375-377, 1976).*

F. MOREL, D. CHABARDES, M. IMBERT, *Hétérogénéité fonctionnelle du tubule distal des reins de Mammifères (Journal de Physiologie, t. 71, n° 2, p. 301 A, 1975).*

D. CHABARDES, M. IMBERT et F. MOREL, *Mise en évidence de segments sensibles aux catécholamines le long des néphrons du Lapin* (*Journal de Physiologie*, t. 71, n° 2, p. 270 A, 1975).

D. CHABARDES, M. IMBERT and F. MOREL, *Localization of PTH action sites along the rabbit nephron* (*International Workshop on Phosphate*, juin 5-6, 1975, Paris).

P. CHAMPEIL, F. BASTIDE, C. TAUPIN and C.M. GARY-BOBO, *Spin labelled sarcoplasmic reticulum vesicles :  $Ca^{2+}$  — induced spectral changes* (*F.E.B.S. Letters*, 63, n° 2, p. 270-272, 1976).

J.L. RIGAUD and C.M. GARY-BOBO, *Hydration effect on fatty acids lateral diffusion in lecithin water lamellar phases* (Comm. au Vth International Biophysics congress, 1975, Copenhagen).

J.L. RIGAUD and C.M. GARY-BOBO, *Hydration effect on fatty acids lateral diffusion in lecithin water lamellar phases* (Colloques internationaux du C.N.R.S., n° 24, « Participation énergétique de l'eau solvant aux interactions spécifiques dans les systèmes biologiques », 1976).

J. BOCKAERT, M. H. DUNN and L. BIRNBAUMER, *Hormone-stimulated desensitization of hormone-dependent adenylyl cyclase. Dual action of luteinizing hormone on pig Graafian follicle membranes* (*J. Biol. Chem.*, 1976).

J. PREMONT, J.P. TASSIN, A.M. THIERRY, J. GLOWINSKI and J. BOCKAERT, *Supersensitivity of dopaminergic and beta adrenergic receptors of rat caudate nucleus and cerebral cortex* (*Experimental Brain Research*, Vol. 23, 165, 1975).

M. HAMON, S. BOURGOIN, A. ENJALBERT, J. BOCKAERT and J. GLOWINSKI, *The effects of quipazine on 5-HT metabolism in the rat brain* (*Nauny-Schmiedebergs 'Arch. Pharmacol*, sous presse).

T. BARTH, N.C. LE BARS, C. ROY and S. JARD, *Hydro-osmotic activity of oxytocin and 8-arginine vasopressin on frog (*rana esculenta*) bladder* (*Eur. J. Pharmacol.*, t. 32, p. 214-220, 1975).

S. JARD, J. BOCKAERT, D. BUTLEN, R. RAJERISON and ROY, *Vasopressin sensitive adenylate cyclase from the mammalian kidney proceedings* (*Sixth International Congress of Pharmacology*, Helsinki, vol. 1, Receptors and cellular pharmacology, Klinge, E., editor, p. 121-130, 1975).

S. JARD and J. BOCKAERT, *Stimulus-response coupling in neurohypophysial peptide target cells* (*Physiological Review*, t. 55, p. 489-536, 1975).

S. JARD, C. ROY, T. BARTH, R. RAJERISON and J. BOCKAERT, *Antidiuretic hormone-sensitive kidney adenylate cyclase* (*Advances in cyclic nucleotide research*, Vol. 5, edited by G. I. Drummond, P. Greengard and G. A. Robison, Raven Press, New York, p. 31-52, 1975).

C. ROY, R. RAJERISON, J. BOCKAERT and S. JARD, *Solubilization of the 8-lysine-vasopressin receptor and adenylate cyclase from pig kidney plasma membranes* (*J. Biol. Chem.*, t. 250, p. 7885-7893, 1975).

J. PENIT, J. HUOT and S. JARD, *Neuroblastoma cell adenylate cyclase : direct activation by adenosine and prostaglandins* (*J. Neurochem.*, t. 26, p. 265-273, 1976).

R.M. RAJERISON, D. BUTLEN and S. JARD, *Ontogenic development of anti-diuretic hormone receptors in rat kidney : comparison of hormonal binding and adenylate cyclase activation* (*Mol. Cell. Endocrinol.*, t. 4, p. 271-285, 1976).

C. ROY, *Vasopressin-sensitive kidney adenylate cyclase : modulation of the hormonal response* (*J. Supramolecular Structure*, t. 4, p. 289-249 - 303 (263), 1976).

#### PUBLICATIONS DES GROUPES RATTACHÉS AU LABORATOIRE

A. TIXIER-VIDAL, C. TOUGARD, B. KERDELHUE and M. JUTISZ, *Light and electron microscopic studies on immunocytochemical localization of gonadotropic hormones in rat pituitary using antisera against ovine FSH, ovine LH and its two subunits* (*Annals of the New York Academy of Sciences*, t. 254, p. 433-461, 1975).

A. TIXIER-VIDAL, D. GOURDJI, P. PRADELLES, J.L. MORGAT, P. FROMAGEOT and B. KERDELHUE, *A cell culture approach to the study of TRH receptors* (*International Symposium on Hypothalamic Hormones*, M. Motta, P.G. Grognani and L. Martini, Eds., Academic Press, p. 89-108, 1975).

A. TIXIER-VIDAL, C. TOUGARD and R. PICART, *Subcellular localization of some protein and glycoprotein hormones of the hypothalamo-hypophyseal axis as revealed by the peroxidase labeled antibody method* (First International Symposium on immunoenzymatic techniques, I.N.S.E.R.M., Hôpital Beaujon, 2-4 avril 1975, Clichy (France), Elsevier, Amsterdam).

P. BENDA, F. de VITRY, R. PICART and A. TIXIER-VIDAL, *Dissociated cell cultures from fetal mouse hypothalamus patterns of organization and ultrastructural features* (*Exp. Brain Res.*, t. 23, p. 29-47, 1975).

A. TIXIER-VIDAL and F. de VITRY, *Studies on hypothalamic cell lines* (First European Neurosciences Meeting, Munich, 1975, Experimental Brain Research, suppl. vol. 23, p. 230, 1975).

D. GOURDJI, A. TIXIER-VIDAL, J. KRAICER and D. GROUSELLE, *Effect of TRH on kinetics of GH and PRL release by a rat pituitary continuous cell line.*

*Interaction with precooling and/or cycloheximide pretreatment (International Symposium on Growth Hormone and related peptides, Milan, sept. 1975, suppl. n° 1, p. 61).*

A. MORIN, A. TIXIER-VIDAL, D. GOURDJI, B. KERDELHUE and D. GROUSELLE, *Effect of Thyrotrope Releasing Hormone (TRH) on prolactin turnover in culture (Molecular and Cellular Endocrinology, t. 3, p. 351-373, 1975).*

A. FAIVRE-BAUMAN, D. GOURDJI, D. GROUSELLE and A. TIXIER-VIDAL, *Binding of Thyrotropin Releasing Hormone and prolactin release by synchronized GH3 rat pituitary cell lines (Biochem. Biophys. Res. Comm., t. 67, p. 50-57, 1975).*

C. TOUGARD et A. TIXIER-VIDAL, *La localisation des activités gonadotropes dans l'antéhypophyse du rat. Etude immunocytochimique aux microscopes photonique et électronique (Extrait des rapports de la XIII<sup>e</sup> Réunion des Endocrinologistes de Langue Française (Tunis) sur la fonction gonadotrope, Annales d'Endocrinologie, p. 13-24, 1975).*