

Physiologie du développement

M. Alfred JOST, professeur

Le cours a porté sur la « Biologie des cellules germinales et somatiques des gonades ». Les questions nombreuses et complexes posées par la biologie des divers types cellulaires constituant les gonades, peuvent être regroupées selon deux orientations prédominantes, concernant l'une la production de gamètes et l'autre la sécrétion des hormones sexuelles. Le cours de cette année a porté sur l'origine et sur la nature des propriétés particulières qui distinguent les cellules germinales des cellules somatiques. Les aspects endocrinologiques seront envisagés ultérieurement.

D'une manière très générale, les cellules germinales des Vertébrés présentent des caractéristiques morphologiques qui les distinguent des cellules somatiques, dès les stades les plus précoces de l'organogenèse des gonades. Il s'agit en particulier de leur grande taille, de leur forme ronde et éventuellement de leur richesse prolongée en vitellus (Batraciens), de leur teneur en glycogène (Oiseaux) ou en phosphatase alcaline (nombreux Mammifères). De tels critères ont été fort utiles pour démontrer l'origine extra-gonadique des cellules germinales depuis John Beard qui étudiait la raie, en 1900, et pour rejeter l'idée que ces cellules dérivent de cellules somatiques de la gonade. Mais aucun de ces critères n'a rien de spécifique, même s'ils continuent à être utilisés souvent, faute de mieux. L'expérimentation, commencée il y a fort longtemps a permis de démontrer la continuité de la lignée des cellules germinales à partir des cellules germinales primordiales embryonnaires. Chez l'embryon de poulet, on a détruit ces cellules dans leur localisation encore extra-gonadique (croissant génital) par divers moyens, tels que l'excision chirurgicale, l'irradiation par l'ultra-violet, par les rayons γ du radium, par les rayons X et récemment par le laser. Chez l'embryon de souris, de rat ou de lapin, certains produits alcoylants cytotoxiques, comme le busulfan ou la cyclophosphamide, provoquent la disparition précoce des cellules germinales, entraînant la stérilité complète des gonades chez l'adulte. Une dégénérescence similaire des cellules germinales primordiales est contrôlée génétiquement dans plusieurs lignées de souris (par exemple les souris WW)

ou chez les sujets humains ayant la constitution chromosomique 46, XO. Les mécanismes cellulaires responsables de l'élimination des cellules germinales sont à l'étude.

De belles recherches, dont les premières sont déjà anciennes (travaux de Boveri sur l'*Ascaris*, de Hegner sur les insectes, de Bounoure sur la grenouille) ont montré que dans certaines espèces l'œuf renferme une région cytoplasmique particulière constituant le « déterminant germinal ». Les blastomères qui reçoivent ce déterminant deviendront les « initiales germinales ».

Durant ces dernières années plusieurs laboratoires ont étudié le déterminant germinal de l'œuf de *Drosophile* et de *Xénope*. Ce plasmé germinal prélevé dans un œuf de *Drosophile* et greffé dans un autre œuf dont le déterminant avait été détruit, ou dans la région antérieure de l'œuf non destinée à fournir des cellules germinales, induit la formation d'une lignée germinale. Cette méthode d'étude a permis de montrer que le plasmé germinal existe déjà dans l'ovocyte de *Drosophile* avant sa maturation et avant l'ovulation. L'information concernant le développement futur de la lignée germinale est donc stockée précocement dans une région particulière du cytoplasme de l'ovocyte (K. Illmensee et coll., 1976). Il est probable qu'il en est de même chez les Batraciens. L'étude au microscope électronique du cytoplasme particulier qui contient le déterminant germinal de la *Drosophile* ou des Batraciens a mis en évidence des similitudes très nettes des caractéristiques ultrastructurales.

Bien que chez les Mammifères on n'ait pu réaliser une expérimentation semblable, on peut cependant se demander si la lignée germinale est également marquée par un « déterminant germinal ». La question a été abordée en essayant d'identifier dans les cellules germinales des structures semblables ou homologues à celles reconnues chez les Insectes et les Batraciens. L'étude rapportée par E. M. Eddy en 1974, sur les cellules germinales du rat, depuis le stade embryonnaire où elles sont encore incluses dans la paroi de l'intestin, jusqu'au stade adulte, est fort intéressante et permet sans doute de coordonner diverses observations antérieures dispersées. Eddy décrit, dans la lignée germinale des deux sexes, des amas de matériel fibreux, souvent associé à des mitochondries et probablement à des grains d'ARN, ressemblant au plasma polaire des Insectes et des Batraciens. De telles structures avaient déjà été reconnues et décrites chez les Mammifères à divers stades, sous des noms divers. Eddy adopte le nom de « nuage » proposé par J. André. Dans les deux sexes le nuage n'est guère absent des cellules germinales que pendant les stades précédant la méiose. K. O. Söderström (1977) étudiant les mêmes formations sous le nom de « corps chromatoides » des spermatides du rat, démontre qu'elles incorporent de l'uridine et suggère qu'elles pourraient contenir de l'ARN messager à longue durée de vie.

*

**

Les cellules germinales et les cellules somatiques des Mammifères se distinguent également par l'activité des chromosomes X. Dans les cellules somatiques femelles un seul chromosome X est actif, comme l'ont montré d'une part les modalités de l'expression des caractères du pelage transmis par des gènes liés au chromosome X chez la souris, d'autre part la transmission d'autres caractéristiques liées à l'X comme l'activité de la glucose-6-phosphate-deshydrogénase (G6PD). Chez les Mammifères placentaires c'est tantôt l'X paternel, tantôt l'X maternel qui est « inactivé » selon les clones cellulaires considérés (Mary Lyon) ; chez les Marsupiaux d'Australie l'inactivation frappe le chromosome X paternel (G. B. Sharman). Or toute une série de recherches concordantes ont montré que dans les ovocytes les deux X sont actifs : ainsi selon C. J. Epstein (1968), les ovocytes XX de l'ovaire adulte de souris ont une activité G6PD deux fois plus forte que les ovocytes XO (il n'y a pas de différence pour l'activité lactico-deshydrogénase contrôlée par un gène autosomique). Dans l'espèce humaine, on a étudié des ovocytes et des tissus somatiques hétérozygotes pour deux variants (rapide = « fast » et lent = « slow ») de la G6PD liés au chromosome X.

On a généralement admis que durant le début de la prophase méiotique l'un des chromosomes X est temporairement inactivé ; mais selon le travail le plus récent sur le sujet (B. Migeon et ses collaborateurs en 1977), les deux chromosomes X seraient actifs dès les stades le plus précoces étudiés (8 semaines).

Dans les spermatocytes, pendant le début de la prophase méiotique, les deux chromosomes X et Y forment une masse hétérochromatique souvent appelée « vésicule sexuelle ». Cette « vésicule » n'incorpore guère d'uridine et ne synthétise guère d'ARN pendant la prophase méiotique ; le chromosome X semble rester inactif durant cette phase.

On peut se demander s'il y a un rapport entre la disparition du « nuage » signalé par Eddy (1974), au début de la méiose et l'inactivation de l'un des chromosomes X à ce moment, et d'une manière générale si l'existence du « nuage » est en relation avec l'activité des chromosomes X ou avec le déterminisme de la méiose.

*
**

Les cellules issues de l'œuf sont, en règle générale, capables de réaliser tous les types cellulaires nécessaires au développement de l'organisme, indépendamment de leurs hétérochromosomes. Dans le cas des gamètes, cela signifierait que spermatozoïdes ou ovules pourraient se différencier indifféremment à partir de cellules mâles ou femelles. Il en est ainsi chez certains Batraciens, chez le Xénope, par exemple. Les cellules germinales peuvent être induites expérimentalement à se différencier en spermatozoïdes ou en

ovules fertiles quels que soient les hétérochromosomes qu'elles contiennent et qu'elles transmettent. Des résultats semblables ont été obtenus chez un certain nombre d'autres Urodèles ou Anoures, mais il n'est pas certain qu'il s'agisse d'une règle générale dans cette classe de Vertébrés.

Chez les Oiseaux et chez les Mammifères les exemples connus d'une telle contradiction entre le contenu en hétérochromosomes de la cellule germinale et sa différenciation sont exceptionnels. On ne peut guère citer que deux exemples de cellules hétérozygotiques (XY) ayant différencié des gamètes du type conforme au sexe homozygotique (XX) : spermatozoïdes se différenciant dans la gonade droite rudimentaire de la poulette après ablation de l'ovaire gauche ; rares ovocytes XY découverts chez la souris par Charles Ford et par ses collaborateurs en 1975 et 1977. Ces ovocytes semblent être fécondables et capables de se développer. En revanche, on n'a jamais observé de cellule XX se transformant en spermatozoïde chez un Mammifère jusqu'ici. Bien plus, plusieurs observations montrent que les cellules germinales XX dégénèrent plus ou moins précocement si elles se trouvent dans un environnement testiculaire. Il en est ainsi des cellules germinales des freemartins que nous avons étudiés au laboratoire avec J. Prépın et B. Vigier, ou dans d'autres cas particuliers, chez des sujets différenciant des testicules malgré leur constitution chromosomique XX : chèvres XX, homozygotes également pour le gène autosomique « polled » (absence de cornes) ; souris XX porteuses du gène autosomique Sxr (« sex reversed ») ou de certains sujets XX humains. La très grande majorité des souris chimères résultant de la fusion d'œufs XX et XY forment des testicules, mais les cellules germinales XX semblent précocement éliminées. Un petit nombre de chercheurs ont pensé apercevoir des spermatocytes XX dans le testicule des taurillons frères de freemartins ou des ouistiti mâles qui se sont développés en parabiose avec des femelles ; ces données difficiles à démontrer, sont mises en doute par d'autres spécialistes.

*

**

Dans certaines espèces exceptionnelles de Mammifères les cellules germinales se distinguent des cellules somatiques par leur assortiment en hétérochromosomes. Le premier cas de ce genre a été décrit par S. Ohno et par ses collaborateurs en 1963, chez un campagnol (*Microtus oregoni*) dont les cellules germinales des mâles (OY) diffèrent des cellules somatiques (XY) par la perte d'un Y ; les cellules germinales des femelles (XX), issues d'un œuf XO par doublement de l'X, sont portées par un soma XO. D'autres cas exceptionnels présentant des anomalies similaires ont été rapportés chez les Marsupiaux ou les Mammifères placentaires. Chez le Lemming des bois (*Myopus schisticolor*) bien étudié récemment par K. Fredga, A. Gropp et par leurs collaborateurs certaines femelles portent sur le chromosome X

un gène qui empêche le chromosome Y d'induire la formation des testicules. Les sujets XY sont donc des femelles dont la gamétogenèse anormale ne fournit que des ovules portant un X, produisant tous des femelles. Les espèces animales présentant de telles singularités chromosomiques, peuvent être étudiées comme des modèles biologiques dont on peut espérer qu'ils aideront à élucider des mécanismes génétiques contrôlant le sexe.

*
**

La caractéristique essentielle des cellules germinales est, naturellement, le fait que seules elles subissent la méiose et se différencient en gamètes. Discuter de la méiose c'est ouvrir un volumineux dossier dont l'étude peut être abordée sous des angles divers. Le déroulement de la méiose est très différent dans les deux sexes. Dans le sexe féminin la prophase de la première division méiotique débute à un stade défini de la vie prénatale (espèce humaine, rat, etc.) ou néonatale (lapin), puis s'arrête longuement jusqu'au moment de l'ovulation. Chez le mâle au contraire, la méiose ne commence que vers la puberté et se déroule d'une manière continue depuis le stade spermatogonie jusqu'au stade de la spermatide sans interruption prolongée de la prophase.

Les questions à résoudre sont multiples. Pourquoi la cellule germinale entre-t-elle en méiose à un moment donné plutôt qu'en mitose ? Le « déterminant germinal » mentionné plus haut joue-t-il un rôle dans cette orientation ? La question reste encore sans réponse. Par ailleurs, existe-t-il dans l'ébauche ovarienne un facteur qui déclenche précocement la prophase méiotique ? La méiose est-elle au contraire inhibée dans le testicule jusqu'à la prépuberté ? On pense à une influence possible des cellules de Sertoli.

La prophase méiotique de l'ovaire ne dépend pas d'influences lointaines comme celle de l'hypophyse : elle survient dans l'ébauche ovarienne prélevée avec le mésonephros sur lequel elle se différencie et cultivée dans un milieu de culture dépourvu d'hormones ou de sérum sanguin, comme nous l'avons vérifié au laboratoire. Si de telles expériences écartent la possibilité d'un contrôle de la méiose par des facteurs plasmatiques généraux, elles n'excluent pas la possibilité d'influences locales. Selon A. G. Byskov (1975), les cellules destinées à constituer le *rete ovarii* de l'ovaire sécrèteraient une substance qui déclencherait la prophase méiotique des ovocytes et pourrait même la provoquer dans un testicule fœtal cultivé *in vitro* à son contact. Cette intéressante conception demande encore à être étayée, en particulier par une démonstration plus claire des stades méiotiques obtenus ; les aspects de la méiose sont en effet assez difficiles à bien définir sur les coupes faites avec des méthodes histologiques banales.

Chez l'embryon de poulet, selon les expériences publiées par G. Erickson en 1974, le début de la prophase méiotique résulterait d'une influence exercée sur les cellules germinales par les cellules du « cortex » de l'ovaire en formation.

La raison pour laquelle la prophase méiotique s'interrompt au stade diplotène pour une longue période de quiescence n'est pas connue avec précision. Mais les coïncidences chronologiques suggèrent que les cellules folliculaires qui englobent l'ovocyte jusqu'à l'ovulation en ont la responsabilité.

Dans le testicule la méiose est un processus dont la durée, mesurée par exemple entre les stades de spermatogonie B et de spermatide, est variable selon les espèces, mais est toujours longue. On n'a pas obtenu le déroulement complet de la méiose et de la spermatogenèse *in vitro*. Mais la prophase méiotique survient dans des fragments de testicule ou, dans des tubes séminifères isolés *in vitro*.

Il semble souhaitable de pouvoir un jour étudier la méiose dans des cultures de cellules germinales isolées de la gonade et cultivées *in vitro*, de manière à déterminer les facteurs susceptibles de la provoquer ou de l'empêcher. Les tentatives faites à ce sujet jusqu'ici n'ont pas réussi, parce que les conditions favorables à la culture des cellules germinales isolées restent encore à préciser.

*
**

Dans l'étude des interrelations entre les cellules somatiques et les cellules germinales, il convient de retenir que ces cellules sont sexualisées de par leur constitution génétique même. Les cellules somatiques contenant le chromosome Y portent un antigène d'histocompatibilité HY, découvert à l'occasion de greffes de peau entre souris syngéniques mâles et femelles. On ne sait pas pour le moment si les cellules germinales produisent le même antigène. En 1975, S. Wachtel et S. Ohno ont émis l'hypothèse que l'antigène HY pourrait jouer le rôle d'une protéine de surface responsable de la différenciation testiculaire chez les fœtus mâles. Un antigène immunologiquement semblable a été retrouvé dans le sexe hétérogamétique chez les Batraciens, les Oiseaux et les Mammifères, en particulier l'Homme. Les auteurs admettent que la molécule protéique en question serait restée identique à elle-même au cours de l'évolution et qu'elle serait responsable de la différenciation de la gonade dans le sexe hétérogamétique (testicule chez les Mammifères, ovaire chez le Batracien *Xenopus laevis* ou chez les Oiseaux). De nombreuses observations faites chez l'homme et chez les Mammifères sont compatibles avec cette conception ; d'autres le sont moins, en particulier l'explication donnée du freemartinisme des bovidés, qui ne rend pas compte de résultats obtenus dans notre laboratoire. D'autres faits enfin, sont en opposition avec

la théorie, par exemple la masculinisation des femelles hétérogamétiques d'Amblystome ou de *Xenopus* par des greffes testiculaires homogamétiques de la même espèce.

Cette intéressante théorie a eu le mérite de susciter de nouvelles observations et de nouvelles réflexions ; il est cependant encore trop tôt pour en évaluer la valeur explicative exacte. Le mécanisme initial de la différenciation sexuelle des gonades est donc une autre question fondamentale non résolue de la biologie de la reproduction.

A. J.

SÉMINAIRES

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

1) *Métabolisme fœtal et croissance du fœtus*

F. C. BATTAGLIA (University of Colorado, Medical Center, Denver, U.S.A.) : *Principal substrates for fetal metabolism and fetal growth.*

2) *L'hormone mâle pendant la période néonatale*

J. ROFFI (Université Paris XI-Orsay) : *Activité testiculaire chez le rat à la naissance ;*

J. MANIEY (Université de Rennes) : *Testostérone néonatale et développement du système de rétro-contrôle de la sécrétion de LH chez le rat ;*

G. PELARDY (Université de Clermont-Ferrand) : *Les androgènes pendant la période périnatale chez le cobaye.*

3) *Hormones et maturation de l'ovocyte*

E. BAULIEU (Université de Paris-Sud) : *Progestérone et méiose de l'ovocyte de *Xenopus laevis* : surface et calcium ;*

R. OZON (Université Pierre et Marie Curie) : *Rôle de l'AMPc dans l'action de la progestérone sur l'ovocyte d'Amphibien.*

M^{me} SCHORDERET-SLATKINE (Université de Genève) a également fait état d'observations personnelles dans la discussion.

4) *Physiologie de l'hormone mâle*

Eberhard NIESCHLAG (Université de Münster, Rép. Féd. Allemagne) : *Endocrine testicular function in relation to sexuality* ;

P. MAUVAIS-JARVIS (Hôpital Necker-Enfants malades) : *Le dosage d'androstanediol : index d'androgénicité.*

TRAVAUX DU LABORATOIRE

Les recherches du laboratoire ont porté surtout sur certains aspects du développement de l'appareil génital, sur la croissance du fœtus et sur le métabolisme intra-utérin ou néonatal.

DÉVELOPPEMENT DE L'APPAREIL GÉNITAL ET DES FONCTIONS DE REPRODUCTION (A. JOST, J. LOUNANA, S. MAGRE, J. PREPIN, B. VIGIER, avec la collaboration technique de M^mes BACONAT, S. PERLMAN et O. VALENTINO).

Cette année les recherches sur le développement de l'appareil génital et des fonctions de reproduction ont progressé surtout dans deux directions, d'une part l'analyse des anomalies des freemartins et, d'autre part, l'étude *in vitro* de la physiologie de certains types cellulaires des gonades fœtales.

Freemartins. En ce qui concerne les fœtus freemartins, on a examiné en détail le nombre des cellules germinales que contiennent leurs gonades et la fréquence de la prophase méiotique. Le nombre des cellules germinales est sensiblement normal jusque vers 52 jours environ, date à laquelle débute l'inhibition des gonades et de la partie antérieure des canaux de Müller. Puis, jusque vers 70 à 80 jours, le nombre des cellules germinales reste à peu près constant au lieu d'augmenter comme chez les témoins. C'est à ce stade que se reconnaissent les images de prophase méiotique chez les femelles normales et que, chez les freemartins, le nombre des cellules germinales contenues dans les gonades commence à diminuer, pour aboutir à une stérilité complète en fin de gestation. Une proportion non négligeable de cellules germinales des freemartins montre des images de prophase méiotique. Cependant après 95-100 jours, les cellules germinales en méiose — lorsqu'il y en a — ne se trouvent que dans les gonades dépourvues de cordons séminifères. Les images de méiose sont complètement absentes chez les fœtus de plus de 150 jours.

Les recherches entreprises par ailleurs auront à préciser si l'hormone inhibitrice du testicule fœtal intervient dans les particularités présentées par les cellules germinales des freemartins.

Ohno et ses collaborateurs ont récemment donné une interprétation théorique du freemartinisme, selon laquelle des cellules venues du fœtus mâle et portant l'antigène de surface HY seraient responsables de la masculinisation des gonades. Cette conception ne rend pas compte de la phase d'inhibition gonadique par laquelle débute le freemartinisme chez les bovidés. A ce point de vue, il y a un parallélisme frappant entre le développement des anomalies du freemartin et de celles observées par R. R. Humphrey et par E. Witschi dans les gonades d'Amblystomes ou de Xénopes femelles portant une greffe testiculaire : dans les deux cas une longue phase d'inhibition de l'ovaire présomptif précède sa masculinisation. Or, chez les deux Batraciens en question ce sont les femelles qui sont hétérozygotes et qui, selon la théorie proposée, devraient féminiser les mâles contrairement au cas mammalien où le mâle l'emporte.

Ces données montrent que sous sa forme actuelle et très générale, la théorie selon laquelle l'antigène d'histocompatibilité du sexe hétérogamétique impose la différenciation de la gonade dans l'ensemble des Vertébrés, ne rend pas compte de tous les faits observés (A. JOST, mars 1978).

Cultures in vitro de cellules de Sertoli fœtales. Le but des recherches poursuivies est double : il s'agit d'une part de préciser la biologie des cellules de Sertoli et en particulier les modalités du passage d'un type de fonctionnement fœtal (sécrétion de l'hormone inhibitrice) au fonctionnement adulte, et d'autre part de rechercher l'action éventuelle de l'hormone inhibitrice du testicule fœtal sur la gonade en différenciation.

On a obtenu des cultures renfermant 75 à 95 % de cellules de Sertoli, à partir de testicules de fœtus de veau ou de rat ou de rats nouveau-nés. Ces cellules sécrètent dans le milieu de culture l'hormone inhibitrice qui est testée *in vitro* sur des canaux de Müller de fœtus de rat. La production du facteur inhibiteur a pu être suivie sur des cultures de trois semaines dans le cas du rat et de plusieurs mois dans le cas du veau (B. VIGIER et J. LOUNANA).

Les essais faits au cours de ces derniers mois pour cultiver *in vitro* des cellules germinales isolées des gonades fœtales de rat n'ont donné de résultat positif, jusqu'ici, que pour des cellules ayant dépassé un certain stade.

PUBLICATIONS

B. VIGIER, J. PREPIN, J. P. PERCELLET et A. JOST, *Développement de l'effet freemartin chez le fœtus de Veau (Ann. Méd. Vétér., 1977, t. 121, p. 521-536).*

J. PREPIN, A. JOST et B. VIGIER, *Les cellules germinales des freemartins* (*Ann. Méd. Vétér.*, 1977, t. 121, p. 537-545).

B. VIGIER, J. PREPIN, A. LOCATELLI, F. DU MESNIL DU BUISSON et A. JOST, *Le chimérisme XX/XY ne joue pas de rôle dans la phase initiale du freemartinisme chez les bovins* (III^e Colloque de Cytogénétique des Animaux Domestiques, Jouy-en-Josas). (*Ann. Génét. Sélect. Anim.*, 1977, t. 9, p. 532-533).

J. PREPIN, B. VIGIER et A. JOST, *Disparition des cellules germinales et déroulement anormal de la méiose chez les fœtus de veau freemartins* (III^e Colloque de Cytogénétique des Animaux Domestiques, Jouy-en-Josas). (*Ann. Génét. Sélect. Anim.*, 1977, t. 9, p. 531-532).

A. JOST, *Basic sexual trends in the development of Vertebrates* (*Ciba Foundation Symposium on « Sex, Hormones and Behaviour »*, mars 1978, sous presse).

B. VIGIER et J. LOUNANA, *Maintien d'une synthèse d'hormone inhibitrice des canaux de Müller dans les cultures de cellules de Sertoli fœtales ou périnatales* (*J. Physiol.*, 1978, sous presse).

FACTEURS HORMONAUX ET UTÉRINS DE LA CROISSANCE DU FŒTUS (A. JOST, J. M. GAREL, A. KERVRAN, M. RIEUTORT, S. PERLMAN et O. VALENTINO).

Reprenant des études antérieures sur le rôle éventuel des hormones fœtales dans la croissance du fœtus, on a thyroïdectomisé des fœtus de lapin *in utero* et étudié leur poids et leur squelette en fin de gestation. On a aussi entrepris le dosage des hormones thyroïdiennes dans le plasma de ces fœtus, grâce à l'aide de J. Leloup, de l'hormone somatotrope et de l'insuline de manière à établir un bilan hormonal sur ces animaux dont la croissance est normale. Dans cette série expérimentale les fœtus thyroïdectomisés avaient un poids plus élevé que la moyenne des témoins des mêmes portées. Cette différence tenait à ce que les fœtus thyroïdectomisés occupaient tous la même position dans l'utérus, la position la plus proche de l'ovaire, et que, comme nous l'avons vérifié, les fœtus se développant dans cette position sont favorisés. Ces différences dans la croissance des fœtus selon leur place dans l'utérus avaient déjà été étudiées par d'autres ; elles ne sont d'ailleurs pas les mêmes selon les espèces animales considérées (nous avons comparé lapins et rats). Il faut tenir compte de ces données dans un examen précis de la croissance des fœtus.

D'autres facteurs jouent un rôle important dans la croissance fœtale. La thyro-parathyroïdectomie de la rate pleine de 12 jours entraîne naturelle-

ment des troubles graves, en particulier des crises de tétanie. Au moment du terme les fœtus de ces femelles ont un poids réduit de près de 40 %, par rapport aux témoins : la croissance fœtale est rétablie à la normale si l'on greffe une parathyroïde à la mère ou si on lui administre un dérivé de la vitamine D₃, le 1 α -hydroxycholécalférol. Il est possible que la parathyroïde maternelle intervienne dans ces expériences par son effet sur le métabolisme de la vitamine D₃. On ne sait pas encore si le ou les dérivés du cholécalférol agissent directement sur le fœtus ou indirectement en améliorant le métabolisme maternel. Ces questions à l'étude ne manqueront pas d'être intéressantes.

PUBLICATIONS

A. JOST, *Le rôle des hormones fœtales dans la croissance du fœtus* (*J. Physiol.*, Paris, 1977, t. 73, p. 877-890).

— *Les facteurs endocriniens de la croissance prénatale et néonatale* (*Anales de la Real Academia de Farmacia*, Madrid, sous presse).

— *Fetal hormones and fetal growth* (*In Contributions to Obstetrics and Gynecology : Fetal Endocrinology*, L. H. Zondek & T. Zondek, eds., Karger A. G. Basel, sous presse).

A. JOST, S. PERLMAN et O. VALENTINO, *Hormones fœtales, croissance fœtale et parturition chez le lapin* (*Colloque I.N.S.E.R.M., Endocrinologie prénatale, motricité utérine et comportement fœtal pendant le travail*, mars 1978, sous presse).

J. M. GAREL et M. GILBERT, *Rôle des parathyroïdes maternelles et des métabolites de la vitamine D₃ dans la croissance fœtale et la mise en réserve du glycogène dans le foie maternel et fœtal chez le Rat* (*C.R. Acad. Sci.*, Paris, 1978, t. 286, p. 1459-1461).

CONTROLE DE LA SÉCRÉTION D'INSULINE PAR LE PANCRÉAS DU FŒTUS DE RAT (A. KERVRAN, J. RANDON et M. GUILLAUME).

Chez le fœtus de rat rendu hyperglycémique *in utero* (par hyperglycémie maternelle) et étudié à terme, la sécrétion d'insuline est augmentée. Cette réponse du pancréas fœtal comporte un pic de sécrétion rapide suivi par une sécrétion d'insuline plus tardive et soutenue pendant toute la durée de l'hyperglycémie. Cet aspect biphasique de la sécrétion d'insuline, net chez

les fœtus de 20 et 21 jours, n'existe pas encore à 19 jours. A ce stade l'augmentation provoquée de l'insuline dans le plasma est progressive.

En utilisant un dispositif de « périfusion » de fragments de pancréas fœtal *in vitro*, on a étudié le développement de la réponse au glucose en fonction de l'âge. Au stade de 18 jours, la sécrétion d'insuline par le pancréas ne montre qu'une phase courte de sécrétion, dont la durée n'excède pas 10 minutes, malgré le maintien d'une concentration élevée en glucose dans le milieu. Aux stades ultérieurs apparaît progressivement, à la suite de la première phase, une deuxième phase de sécrétion qui se maintient pendant toute la stimulation. L'amplitude de cette deuxième phase atteint chez les nouveau-nés de 4 à 6 jours celle observée chez l'adulte.

La théophylline ou un mélange d'acides aminés à concentration physiologique (9 mM) potentialisent la réponse du pancréas fœtal au glucose. La présence de concentrations élevées d'acides aminés dans le sang fœtal pendant les derniers jours de la gestation est un facteur favorisant *in vivo* la sécrétion d'insuline et probablement la croissance.

Chez les fœtus de rates rendues diabétiques avant la gestation par la streptozotocine, l'hyperglycémie maternelle — donc fœtale — ne s'accompagne d'hyperinsulinisme que si l'hyperglycémie de la mère est modérée. Lorsque la glycémie maternelle est supérieure à 3 g/l, les fœtus ont une insulinémie faible. Or le pancréas des fœtus des mères fortement hyperglycémiques étudié en périfusion *in vitro*, se montre insensible au glucose, même à concentration élevée (8 g/l). La cause de cette insensibilité reste à élucider.

PUBLICATION

A. KERVRAN, M. GUILLAUME et A. JOST, *The endocrine pancreas of the fetuses from diabetic pregnant rats (Diabetologia, sous presse).*

MÉTABOLISME DU GLYCOGÈNE DANS LE FOIE FŒTAL (J. BOURBON, M. GILBERT, M. C. WALTER).

Le foie du fœtus accumule du glycogène à partir d'un stade donné de la gestation. Plusieurs auteurs ont essayé de préciser, à l'aide de diverses techniques, si ce glycogène fait l'objet d'un renouvellement continu (la synthèse l'emportant sur la dégradation) ou s'il y a seulement synthèse et dépôt du glycogène. La technique mise en œuvre par M. Gilbert et

J. Bourbon consiste à administrer au fœtus de rat, par voie intraveineuse, une dose traceuse de glycérol $1\text{-}^{14}\text{C}$. Les recherches antérieures avaient en effet montré que dans ces conditions le glycérol est incorporé dans le glycogène hépatique du fœtus et ne quitte guère l'organisme fœtal, vers la mère. Le fait que dans une quantité de glycogène hépatique qui reste constante pendant les deux heures de l'expérimentation, la radioactivité incorporée augmente d'abord, puis diminue dans la deuxième heure, indique qu'il y a renouvellement du glycogène dans le foie fœtal. Ceci implique une activité simultanée de la glycogène synthétase et de la phosphorylase.

On a recherché si, au cours d'une expérience aiguë durant deux heures et demie, on peut modifier l'activité de ces enzymes, telle qu'elle est mesurée *in vitro*. En donnant à la mère une perfusion de glucose, on produit facilement une hyperglycémie fœtale ; celle-ci entraîne une diminution de l'activité de la phosphorylase suivie par une augmentation de la glycogène synthétase. Ce changement a pour conséquence une augmentation de près d'un tiers de la teneur du foie en glycogène. Au contraire, une hypoglycémie fœtale de même durée, produite en donnant de l'insuline à la mère, ne modifie pas l'activité des enzymes ou la teneur en glycogène.

Le dépôt du glycogène dans le foie fœtal dépend d'un contrôle hormonal et, chez le fœtus de lapin décapité, le foie n'accumule pas de glycogène. Pour analyser le rôle des corticostéroïdes, on a étudié les « récepteurs » aux glucocorticoïdes dans le foie du fœtus de lapin. Chez les fœtus décapités à 22 jours et étudiés à 29 jours, l'affinité des récepteurs pour la triamcinolone (mesure du coefficient de dissociation K_d) est semblable à ce qu'ils sont chez les témoins ; la concentration en sites récepteurs par mg de protéine est un peu réduite. Cette différence semble faible pour expliquer pourquoi le foie des fœtus décapités n'accumule pas de glycogène. Il faudra aussi étudier comment intervient l'hormone somatotrope, hormone dont dépend la charge du foie en glycogène chez le fœtus de lapin.

PUBLICATIONS

M. GILBERT et J. BOURBON, *Hyperglycémie et synthèse de glycogène dans le foie fœtal de rat* (*J. Physiologie*, 1977, t. 73, p. 108 A).

J. BOURBON, M. GILBERT et A. JOST, *Récepteurs aux corticostéroïdes dans le foie du fœtus de lapin* (*J. Physiologie*, 1977, t. 73, p. 93 A).

MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE DU NOUVEAU-NÉ (J. R. GIRARD, P. FERRE, J. P. PEGORIER, A. LETURQUE et E. PINTADO).

Les recherches sur le métabolisme énergétique du nouveau-né ont été poursuivies cette année en étudiant particulièrement deux aspects :

I) *Régulation de la gluconéogenèse chez le lapin nouveau-né*

Le lapin nouveau-né, contrairement au rat, possède d'importantes réserves lipidiques au moment de la naissance. On peut donc s'attendre à observer des mécanismes de régulations métaboliques très différents dans les deux espèces.

Une analyse des métabolites et des hormones circulants chez le lapin nouveau-né a montré : 1) Une augmentation du glucagon et une diminution de l'insuline plasmatiques ; ces variations sont semblables à celles observées chez le rat. 2) Une diminution de la glycémie dans l'heure qui suit la naissance ; elle passe de 0,8 g/l à 0,6 g/l puis garde cette valeur pendant 24 heures, bien que les réserves de glycogène hépatique aient été entièrement utilisées 6 heures après la naissance. Pendant les 24 heures qui suivent la naissance, la glycémie est maintenue grâce à une gluconéogenèse active, comme le montrent les mesures de conversion de lactate ^{14}C en glucose. 3) Si le nouveau-né reste à jeun 48 ou 72 heures, une hypoglycémie sévère se développe (0,2 g/l), secondairement à une déficience de la gluconéogenèse. Pendant cette période, la concentration sanguine très élevée des acides gras libres et des corps cétoniques reflète la mobilisation des réserves lipidiques du tissu adipeux. Par contre, la concentration sanguine des substrats gluconéogénétiques (lactate, pyruvate et acides aminés) devient très faible. L'injection sous-cutanée d'un mélange de substrats glucoformateurs (lactate, pyruvate, alanine, sérine, glutamine et glycine) aux lapins nouveau-nés à jeun depuis 48 heures, remonte en une heure leur glycémie de 0,3 à 1,1 g/l. L'hypoglycémie qui se développe au cours du jeûne chez le lapin nouveau-né semble donc liée seulement à un déficit en substrats gluconéogénétiques.

II) *Développement de la cétogenèse chez le rat nouveau-né*

L'étude de quelques facteurs pouvant influencer le développement post-natal de la cétogenèse a été effectuée chez le rat. Chez le rat nouveau-né normalement allaité, la cétogenèse se développe progressivement entre la naissance et l'âge de 12 heures. Entre 12 et 16 heures après la naissance survient une augmentation soudaine de la cétonémie. Comme la concentration plasmatique des acides gras libres et la teneur du foie en carnitine

(libre et estérifiée) s'élèvent brutalement au moment de la première tétée (environ 2 heures après la naissance), puis ne varient plus entre 2 et 24 heures, ces facteurs ne semblent pas responsables de l'apparition de la céto-genèse chez le rat. Lorsque le rat nouveau-né est maintenu à jeun immédiatement après la naissance, la concentration sanguine des corps cétoniques reste très faible. Ceci est lié au fait que le rat ne possède pas de réserves lipidiques à la naissance et qu'il n'a pas la possibilité de fournir au foie les acides gras nécessaires à la synthèse des corps cétoniques. Lorsque les rats nouveau-nés à jeun reçoivent par sonde gastrique une émulsion de triglycérides (acides gras à chaînes longues : 16 et 18 carbones) à différents temps après la naissance, le développement de la céto-genèse est identique à celle observée chez les rats normalement allaités ; elle est faible entre 0 et 6 heures et elle augmente entre 12 et 16 heures après la naissance. Si les rats nouveau-nés à jeun sont injectés par voie sous-cutanée avec du butyrate, un acide gras à chaîne courte (4 carbones), une céto-genèse intense est observée immédiatement après la naissance. Le butyrate contrairement aux acides gras à chaîne longue, entre librement dans la mitochondrie sans avoir recours à l'acylcarnitine transférase, et il est ensuite transformé en acetyl CoA puis en corps cétoniques. Nos études suggèrent que la capacité des mitochondries à transformer l'acetyl CoA en corps cétoniques est parfaitement développée dans le foie du rat à la naissance. La latence observée dans l'élévation des corps cétoniques après l'absorption des acides gras à chaînes longues contenus dans le lait ou l'émulsion des triglycérides est probablement liée au développement postnatal de l'acylcarnitine transférase, enzyme contrôlant l'entrée des acides gras à chaîne longue dans la mitochondrie.

PUBLICATIONS

P. FERRE, J. P. PEGORIER, J. R. GIRARD et E. B. MARLISS, *Evidence that fatty acid oxidation stimulates gluconeogenesis in newborn rats (Biochem. Soc. Transac., 1977, t. 5, p. 982-983).*

P. FERRE, J. P. PEGORIER et J. R. GIRARD, *Fasting hypoglycemia in the newborn rabbit : a gluconeogenic substrate deficiency (Proc. 11th F.E.B.S. meeting A1-3-057, 1977).*

P. FERRE, J. P. PEGORIER, E. B. MARLISS et J. R. GIRARD, *Influence of exogenous fat and gluconeogenic substrates on glucose homeostasis in the newborn rat (Am. J. Physiol., 1978, t. 234, p. E129-E136).*

P. FERRE, J. P. PEGORIER, R. ASSAN, E. B. MARLISS et J. R. GIRARD, *Influence of exogenous cortisol and triglyceride feeding on glucose homeostasis in the fasted newborn rat (Pediat. Res., 1978, t. 12, p. 751-756).*

P. FERRE, J. P. PEGORIER et J. R. GIRARD, *Influence of hormones and substrates in the regulation of gluconeogenesis in the newborn rat* (*Proc. 2nd European Meeting on Metabolism*, Padova, May 1977 ; G. Crepaldi, P. Lefebvre and K.G.M.M. Alberti, eds.). (Academic Press, N.Y., 1978, sous presse).

P. FERRE, J. P. PEGORIER, D. H. WILLIAMSON et J. R. GIRARD, *The development of ketogenesis at birth in the rat* (*Biochem. J.*, 1978, sous presse).

J. R. GIRARD, J. P. PEGORIER et P. FERRE, *Development of ketogenesis during the early postnatal period in the rat* (*Diabetologia*, 1977, t. 13, p. 395).

J. R. GIRARD, P. FERRE, A. KERVAN, J. P. PEGORIER et R. ASSAN, *Influence of insulin/glucagon ratio in the changes of metabolism during development of the rat* (*In Glucagon : its role in physiology and clinical medicine*, P. P. Foa, J. S. Bajaj & N. L. Foa, eds., Springer Verlag, New York, 1977, p. 563-581).

ACTIVITÉS DIVERSES

M. Alfred JOST a été nommé membre honoraire de la Section d'Endocrinologie de la Royal Society of Medicine à Londres, et invité par elle à prononcer une conférence (juillet 1977). Il a été invité par l'« Academia Real de Farmacia » (Madrid) à donner une conférence (octobre 1977). Il a participé au 27^e Congrès International des Sciences physiologiques (Paris, juillet 1977) et au Symposium de la Fondation Ciba intitulé « Sex, Hormones and Sex Behaviour » (mars 1978).

M. Jean GIRARD a été invité à participer aux réunions suivantes : 27^e Congrès International des Sciences physiologiques (Paris, juillet 1977) ; Conférence sur l'Endocrinologie organisée par l'I.N.S.E.R.M. (Blois, novembre 1977) ; Symposium de la Fondation Ciba sur « Diabetes, Pregnancy and the Fetus » (Londres, mars 1978) ; Journées Nationales de diététique (Marseille, avril 1978) ; Réunion du groupe Développement de l'I.N.R.A. : croissance foétale (Montpellier, mai 1978). Il a également participé aux réunions de la « Biochemical Society » (Cardiff, juillet 1977) ; du F.E.B.S. (Copenhague, août 1977) et de l'European Association for the Study of Diabetes (Genève, septembre 1977).

MM. Jacques PREPIN et Bernard VIGIER ont été invités à faire une conférence à l'Ecole de Médecine Vétérinaire de Bruxelles (mai 1977). Ils ont également participé au Colloque International de Cytogénétique des animaux domestiques (Jouy-en-Josas, juin 1977).

M. Alain KERVAN a participé à la 13^e réunion de l'European Association for the Study of Diabetes (Genève, septembre 1977).

M. Jean-Paul PEGORIER a soutenu une thèse de 3^e cycle de Biologie du Développement à l'Université Paris VII (décembre 1977).

M. Claude PETTER a été nommé Maître de Conférences à l'Université Pierre et Marie Curie.

M. Jean-Paul MALTIER s'est joint au groupe de recherches de Physiologie de la reproduction de l'Université Pierre et Marie Curie.

Un certain nombre de chercheurs ont fait un court stage au laboratoire pour se familiariser avec le dosage radioimmunologique d'insuline avec M. Alain Kervran ou d'hormone de croissance avec M. Michel Rieutort.

M. Edward ROBINSON, Professeur à l'Université Maquarie de Sydney en Australie, a fait un séjour de recherches au laboratoire de novembre 1977 à juin 1978.

Madame Elizabeth PINTADO SANJUAN de la Faculté de Médecine de Séville, poursuit actuellement un séjour de 6 mois au laboratoire (depuis février 1978).