

Physiologie cellulaire

M. François MOREL, professeur

Dans le cadre du sujet général abordé dans le cours de l'année précédente, « reconnaissance et transduction des signaux hormonaux par les membranes cellulaires », nous avons discuté cette année les résultats obtenus pour une hormone particulière, la vasopressine. Des raisons d'ordres divers justifient en effet que cette hormone polypeptidique ait été à l'origine d'un nombre important de travaux expérimentaux : a) les modalités de son action biologique ont été particulièrement bien analysées par les méthodes de la biologie cellulaire et de la physiologie, au moins sur certains types de systèmes récepteurs qui se prêtent à l'expérimentation en survie *in vitro* ; b) plusieurs centaines d'analogues de structures de l'hormone ont été synthétisés et leur activité biologique étudiée ; c) il est possible d'obtenir de la vasopressine marquée par le tritium à une haute radioactivité spécifique dans des conditions qui n'entraînent pas de dénaturation de l'hormone décelable soit par des critères biochimiques, soit par des critères pharmacologiques ; d) enfin les principales cellules « réceptrices » de la vasopressine répondent à son action par le mécanisme décrit par Sutherland, c'est-à-dire via la production intracellulaire d'AMP cyclique. Il existe donc dans les membranes plasmiques de ces cellules des récepteurs moléculaires couplés à une adénylate-cyclase.

*

**

Mais avant de discuter les données qui ont été acquises grâce à l'étude de systèmes membranaires possédant des récepteurs de la vasopressine couplés à l'adénylate-cyclase, telles les membranes des cellules de la médullaire rénale par exemple, il a été rappelé que sur d'autres systèmes, la même vasopressine semble agir par un mécanisme différent. Sur les hépatocytes de rat en survie, par exemple, de nombreuses hormones ajoutées au milieu activent la glycogénolyse : le glucagon, les agonistes beta adrénergiques, mais aussi les agonistes alpha adrénergiques, l'angiotensine et la vasopressine. Dans tous les cas, la réponse glycogénolytique résulte d'une activation de la phosphorylase et d'une inhibition de la glycogène synthétase. Dans le cas du glucagon et des agonistes beta adrénergiques, l'activation de ces enzymes est

déclenchée par la production d'AMP cyclique et l'activation par phosphorylation de la phosphorylase kinase selon le schéma aujourd'hui bien établi. Dans le cas des agonistes alpha, de l'angiotensine et de la vasopressine par contre, la production d'AMP cyclique n'augmente pas ni la phosphorylation de la phosphorylase kinase. Un autre mécanisme est impliqué. L'action de ce deuxième groupe d'hormones ne se produit que s'il existe des ions calcium dans le milieu externe. En présence de calcium marqué ajouté au milieu, l'addition de l'une de ces hormones augmente le flux de calcium entrant dans la cellule. L'adjonction d'ionophores spécifiques du calcium au lieu de l'hormone non seulement augmente également le flux de calcium, mais produit une activation de la glycogénolyse semblable à celle produite par l'hormone. Ces différents résultats expérimentaux, joints à de nombreux autres, démontrent que l'action stimulante de la vasopressine sur la glycogénolyse dans le foie de rat utilise comme médiateur intracellulaire l'ion calcium et non l'AMP cyclique comme c'est le cas pour l'action du glucagon sur la même structure. La membrane des hépatocytes du rat doit donc contenir des récepteurs stéréospécifiques des différentes hormones énumérées ci-dessus et couplés fonctionnellement soit à des « canaux » sélectivement perméables aux ions calcium, soit à une adénylate-cyclase. Une question se pose dès lors : comment expliquer que, dans cette membrane particulière, la vasopressine n'active pas l'adénylate-cyclase (comme elle le fait ailleurs) puisque le récepteur spécifique et l'unité catalytique y sont présents ? Il apparaît nécessaire d'admettre une ségrégation spatiale de ces éléments au sein de la membrane (mosaïque) pour rendre compte de cette dissociation.

Quant au mécanisme par lequel, dans la cellule, le calcium active la phosphorylase, il a été établi ; il s'exerce sur la forme active, phosphorylée, de la phosphorylase B kinase, dont l'activité enzymatique est calcium-dépendante.

*
**

Avant de discuter les caractéristiques du couplage entre récepteurs hormonaux et adénylate-cyclase sur des préparations de membranes cellulaires rénales purifiées, il importe de s'assurer que les sites de liaison de l'hormone que l'on peut mettre en évidence en utilisant la vasopressine tritiée sont bien identifiables aux récepteurs physiologiquement impliqués dans la réponse. Ceci a pu être vérifié indirectement en utilisant, sur des cellules intactes en survie *in vitro*, trois critères indépendants : a) On observe d'abord que la réponse biologique se produit dans un domaine de concentrations hormonales pour lequel une catégorie de sites de liaison de haute affinité lie l'hormone ; l'effet biologique maximal est obtenu à la saturation de ces sites ; le K_A de la réponse et le K_D de la liaison sur ces sites ont des valeurs comparables. b) Lorsque l'hormone est ensuite enlevée du milieu, réversibilité de la réponse biologique et réversibilité de la liaison hormonale suivent le même décours temporel. c) Enfin, l'aptitude de divers analogues de structure de

l'hormone à entrer en compétition avec l'hormone marquée pour se fixer sur ces sites est en bonne corrélation avec leur activité intrinsèque à induire la réponse biologique.

Mais il faut ajouter que ces systèmes cellulaires intacts sont également capables de fixer l'hormone marquée sur des sites non spécifiques de faible affinité et de grande capacité; ils sont encore capables de la dégrader rapidement et d'incorporer la tyrosine tritiée dans les protéines néosynthétisées; enfin une partie de la radioactivité de l'hormone se lie irréversiblement aux protéines cellulaires par formation de ponts disulfures mixtes. Tous ces processus rendent difficile l'utilisation de cellules intactes pour une étude précise et détaillée des premières étapes du mécanisme d'action de cette hormone.

*

**

Le recours à des fractions membranaires partiellement purifiées (préparées notamment à partir des régions médullaires du rein de porc) permet d'éviter la plupart de ces inconvénients, puisque de telles fractions n'inactivent ou ne dégradent pratiquement pas l'hormone.

Les résultats publiés au cours de ces dernières années sur de telles préparations membranaires et qui étaient en rapport avec la caractérisation et les propriétés des récepteurs moléculaires des hormones neuro-hypophysaires ont été alors passés en revue. Mais la discussion a surtout porté sur les études effectuées avec la vasopressine tritiée sur le rein, car les résultats, précis, documentés et approfondis permettent de tirer diverses conclusions de portée générale.

I. — La cinétique temporelle de liaison spécifique de l'hormone marquée sur les membranes, de même que la cinétique temporelle de dissociation du complexe formé (lorsqu'on enlève l'hormone) sont toutes deux des fonctions exponentielles du temps compatibles avec l'existence d'une seule classe homogène de sites identiques et indépendants (absence de coopérativité). Les courbes de liaison et de dissociation en fonction du temps permettent de calculer les constantes de vitesse d'association (K_1) et de dissociation (K_{-1}) de la réaction de liaison, de même que la constante d'affinité correspondante ($K_D = K_{-1}/K_1$).

II. — La cinétique de liaison de l'hormone à l'équilibre est une fonction hyperbolique de la concentration utilisée; elle permet de calculer le nombre total de sites récepteurs (de l'ordre de quelques dixièmes de picomoles par mg de protéines membranaires) ainsi que la constante de dissociation de la réaction (K_D). Les valeurs de K_D obtenues par les deux méthodes sont bien identiques.

III. — Sur les mêmes fractions membranaires, on mesure par ailleurs l'activation de l'adénylate-cyclase induite par l'hormone. La cinétique temporelle d'activation de l'enzyme après addition de l'hormone au milieu est superposable à la cinétique de liaison de l'hormone marquée (au moins lorsque la concentration utilisée est de l'ordre du K_D de la réaction). Cette observation indique, en première approximation, que l'activation de la cyclase est fonction du degré d'occupation des sites récepteurs et non pas du nombre d'interactions entre molécules d'hormones et de récepteurs par unité de temps (rate theory).

IV. — Pour une très longue série d'analogues de structure de l'hormone, on observe une excellente corrélation entre la constante d'inhibition de la liaison de la vasopressine tritiée (K_I) et la constante d'activation de l'adénylate cyclase. Les exigences conformationnelles requises pour la liaison sur les récepteurs et l'activation de l'enzyme sont donc les mêmes, ce qui démontre bien que la liaison est une étape impliquée dans l'activation.

V. — La cinétique d'activation de l'enzyme à l'équilibre n'est pas une fonction hyperbolique de la concentration de l'hormone. On observe une coopérativité négative marquée dans le cas de la vasopressine (N de Hill compris entre 0,4 et 0,5). Dans le cas des analogues de structure utilisés, la coopérativité négative est en général d'autant moins marquée que l'activité intrinsèque de l'agoniste est basse (le N de Hill tend vers 1). Il résulte de cette propriété que le K_A d'activation de l'enzyme est plus faible que le K_D d'occupation des sites, au moins dans le cas des agonistes les plus actifs et particulièrement de la vasopressine elle-même.

VI. — Lorsque, pour chaque concentration d'hormone et pour l'équilibre, on porte le pourcentage d'activation de la cyclase en fonction du pourcentage correspondant d'occupation des sites, on obtient pour la vasopressine *une courbe non linéaire*. La saturation est obtenue avec la même concentration dans les deux cas. Mais, aux faibles concentrations, l'activation de la cyclase est proportionnellement beaucoup plus élevée que l'occupation correspondante, puisque, par exemple, l'occupation de 5 à 10 % des sites suffit pour obtenir 70 à 85 % de l'activité adénylate-cyclasique maximale. *La transduction du signal hormonal dans la membrane n'est pas un phénomène proportionnel à son intensité* (couplage non linéaire). Sur le plan physiologique, la non-linéarité observée assure un double rôle : abaissement du seuil et amplification des effets. Sur le plan moléculaire, la non-linéarité observée suggère que le processus de couplage est complexe et indique que l'occupation d'une molécule de récepteur doit être capable d'activer plusieurs molécules d'enzyme.

VII. — Enfin l'emploi de détergents non ioniques appropriés a permis de solubiliser et de séparer les sites de liaison de l'hormone d'une part,

l'adénylate-cyclase d'autre part. L'enzyme solubilisé n'est plus activable par l'hormone. Il s'agit donc bien de deux entités moléculaires discrètes.

*

**

Des travaux tout récents effectués sur des membranes de rein de bœuf ont pleinement confirmé les résultats rapportés ci-dessus pour le porc, à des détails près. L'interprétation de ces données quantitatives en termes de mécanismes moléculaires s'avère difficile si l'on a recours aux modèles utilisés en cinétique enzymatique classique. La structure lipoprotéique des membranes, la nature amphiphile des protéines impliquées dans les processus étudiés ici (nature amphiphile qui les cantonne aux interfaces lipide-eau), l'organisation fonctionnellement assymétrique du double feuillet lipidique, sont autant de contraintes qui interdisent de considérer que les cinétiques enzymatiques valables en phase aqueuse homogène puissent s'appliquer ici. D'ailleurs les constantes de temps (pour atteindre les vitesses d'équilibre) sont grands sur ces systèmes membranaires et se comptent en minutes.

Une approche différente a été proposée récemment par Hechter qui consiste à considérer les deux interfaces lipides-eau de la membrane comme deux matrices planes dans lesquelles les molécules de récepteurs (pour l'une), les molécules de cyclase (pour l'autre), pourraient diffuser dans deux directions seulement (celles du plan). Sur l'une des surfaces, l'interaction hormone-récepteur se produirait selon les modalités habituelles d'une réaction bimoléculaire simple. L'activité adénylate-cyclasique, à l'autre interface, aurait également les caractéristiques des cinétiques enzymatiques habituelles. Mais l'activation de l'enzyme par le complexe hormone-récepteur impliquerait des modalités très particulières, liées aux contraintes imposées par la structure. Le modèle proposé suppose notamment qu'une molécule de complexes hormone-récepteur serait capable d'activer plusieurs molécules d'enzymes. Moyennant certaines hypothèses complémentaires, ce modèle matriciel peut permettre de rendre compte qualitativement et quantitativement des propriétés principales expérimentalement observées, et notamment de la non-linéarité de couplage. La très bonne concordance générale entre les prédictions par ce type de modélisation et les données expérimentales a justifié qu'une assez longue discussion lui soit consacrée en conclusion du cours.

F. M.

SÉMINAIRES

Quatre séances de séminaires ont été organisées portant sur des sujets précis et complémentaires de celui traité au cours. Chacune de ces séances,

d'une durée de deux heures, a comporté la contribution de quatre à cinq orateurs.

La première séance (10 janvier) a été consacrée au sujet suivant :

« Récepteurs hormonaux couplés à une adénylate-cyclase : fonctionnement, régulation intrinsèque, isolement des constituants. »

Elle a comporté un exposé de J. HANOUNE et des communications de MM. POCHE, R. SALESSE et G. GUILLON.

La deuxième séance (17 janvier) a été consacrée au sujet suivant :

« Régulation extrinsèque du système de reconnaissance et de transduction des signaux hormonaux dans les membranes. »

Elle a comporté un exposé de S. JARD et des communications de A. MORERRA, J. DJIANE et DESBUQUOIS.

La troisième séance (24 janvier) a été consacrée au sujet suivant :

« Rôle des protéines kinases dépendantes de l'AMP cyclique et leur régulation dans le mécanisme d'action des hormones. »

Elle a comporté un exposé de Mme S. HARBON et des communications de J. SAEZ, R. COUNIS et Mme CASTAGNA.

La quatrième séance (31 janvier) a été consacrée au sujet suivant :

« Rôle des microfilaments et des microtubules dans le mécanisme d'action des hormones. »

Elle a comporté des exposés de J. NUNEZ et J. DUMONT et des communications de J. CHEVALIER, M. OLLIVIER et Mme RAPPAPORT.

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

En dehors des travaux réalisés par l'équipe de neuroendocrinologie cellulaire rattachée à la chaire de Physiologie cellulaire, et qui sont résumés à la fin de ce chapitre, les recherches des divers groupes du laboratoire concernent les aspects biochimique, physiologique et pharmacologique d'une thématique commune : les mécanismes de reconnaissance et de transduction de l'information hormonale par les membranes des cellules cibles. Nous exposons ci-dessous les problèmes abordés et les résultats obtenus au cours de l'année par chacune de ces équipes.

1) *Equipe de physiologie rénale* (D. CHABARDÈS, A. DOUCET, M. IMBERT-TEBOUL, A. KATZ et F. MOREL)

Comme nous l'avons décrit dans nos précédents rapports, la mise au point au laboratoire d'une microméthode de mesure de l'activité adénylate-cyclasique hormone dépendante sur des échantillons contenant une quantité totale de protéines comprise entre 10 et 100 ng a permis d'établir la « cartographie » des sites d'action de diverses hormones (parathormone, calcitonine, vasopressine, agonistes bêta adrénergiques) le long des différents segments qui constituent les néphrons. Cette étude a d'abord été conduite chez le Lapin, puis le Rat et la Souris, enfin, tout récemment chez l'Homme. Le détail des résultats obtenus chez le Lapin a déjà été rapporté, de même que l'existence de différences systématiques d'une espèce à l'autre. Les résultats accumulés jusqu'ici permettent de faire un bilan, de dégager quelques remarques générales et de poser des problèmes à étudier pour l'avenir.

Rappelons d'abord que l'intérêt potentiel pour la physiologie d'une étude de ce type portant sur l'adénylate-cyclase, résulte du fait que cet enzyme occupe une position clé dans la régulation de l'activité fonctionnelle de chaque type cellulaire constituant les segments tubulaires, et par là dans le contrôle du rôle joué par chacun de ces segments dans le fonctionnement d'ensemble du rein. Or le rein est l'effecteur principal de l'homéostasie du milieu intérieur, et l'ajustement continu de son fonctionnement s'effectue pour partie au moins par l'intermédiaire d'une commande hormonale qui s'exerce via une modulation de l'activité adénylate-cyclasique.

L'observation, sur le rein des mammifères, de différences systématiques, selon les espèces, dans la distribution respective le long du néphron des sites d'action des mêmes hormones doit être interprétée dans la perspective qui vient d'être indiquée. Il est légitime d'admettre en effet que les différences observées d'une espèce à l'autre dans les modalités du contrôle endocrinien du fonctionnement rénal sont en rapport avec les différences et les spécificités qui caractérisent le métabolisme, la nutrition et l'écologie de chacune de ces espèces. Mais avant d'interpréter de façon complète la signification physiologique particulière à chacune des modalités rencontrées, il faut attendre que nous sachions exactement quelle est la nature des effets physiologiques produits par l'AMP cyclique (et donc par les hormones qui en stimulent la biosynthèse) dans chacun des types cellulaires qui constituent les néphrons.

Un deuxième type de problème a été étudié, celui de l'existence d'une régulation épigénétique du système de reconnaissance et de transduction hormonale. Deux souches mutantes ont été utilisées à cet effet. Les rats Brattleboro d'abord, porteurs d'un diabète insipide héréditaire par défaut de synthèse de vasopressine. Il a été observé chez eux une baisse systématique de la réponse de l'adénylcyclase à la vasopressine dans l'une seulement des

deux structures tubulaires qui répondent, dans le rein du Rat, à la vasopressine. Les souris Hyp ensuite, qui sont porteuses d'une mutation dominante liée au sexe; cette mutation entraîne une insuffisance de réabsorption de l'ion phosphate par le tubule proximal par déficience du système de cotransport passif $\text{Na}^+ - \text{HPO}_4^-$ dans la bordure en brosse. L'hyperphosphaturie qui en résulte entraîne une hypophosphatémie chronique et un rachitisme. Chez ces souris, de façon systématique, il a été observé que la réponse du tubule proximal à la parathormone était abaissée, alors qu'elle restait inchangée dans le tubule distal. Au contraire la réponse du tubule distal à la calcitonine est toujours fortement augmentée (en moyenne 7,5 fois). Dans les deux souches mutantes étudiées, on observe donc des variations de réponse spécifiques de certaines hormones et qui touchent sélectivement certains segments sensibles à cette hormone et non les autres. Dans tous les cas, la variation observée intéresse probablement le nombre des récepteurs présents et non leur conformation (on note en effet une variation de V_{max} sans changement du K_A pour l'hormone). Il s'agit donc d'une régulation épigénétique, spécifique de l'hormone et de la cible, et dont les mécanismes restent à préciser.

Un troisième type de problème est en cours d'étude, celui de l'ontogénèse de ces réponses au cours du développement postnatal. Le rein est un matériel de choix pour ce type d'approche, en raison du fait que sa croissance se poursuit pendant une assez longue période après la naissance par formation *de novo* en surface du rein de nouvelles générations de néphrons. Il est donc possible de suivre l'apparition ou le développement des réponses des différents segments aux diverses hormones non seulement en fonction de l'âge des animaux mais également, pour un âge donné, en fonction du développement ontogénique des différentes générations de néphrons. Les résultats obtenus jusqu'ici sont encore trop incomplets pour autoriser une interprétation valable. Disons seulement, que chez le Rat, et pour les segments médullaires sensibles à la vasopressine, la maturation de la réponse est plus précoce et progressive dans le tubule collecteur que dans le segment médullaire de l'anse large ascendante, où elle s'accroît rapidement à partir de la 4^e semaine seulement, c'est-à-dire lorsque se développe le pouvoir de concentration de l'urine par le rein.

2) *Equipe d'Endocrinologie moléculaire* (S. JARD, D. BUTLEN, B. CANTAU, G. GUILLON, J. PENIT, R. RAJERISON, C. ROY)

Les recherches sur le mécanisme d'action de l'hormone antidiurétique sur le rein ont essentiellement porté sur la détermination des paramètres hydrodynamiques du récepteur hormonal, la caractérisation cinétique du récepteur du rein de Rat et l'analyse des propriétés pharmacologiques d'une nouvelle série d'analogues structuraux de l'hormone.

Les paramètres hydrodynamiques du récepteur de l'hormone antidiurétique du rein de porc ont été déduits de l'étude du comportement sur tamis moléculaire et en gradient de densité du récepteur extrait des membranes sous l'action de détergents non ioniques. Des études comparatives ont été réalisées sur le récepteur libre et le complexe hormone-récepteur formé avant solubilisation des membranes. Le récepteur libre et le complexe hormono-récepteur ont des comportements identiques. Les caractéristiques du récepteur (PM 100 000 daltons, Rayon de Stokes 59 Å, volume partiel spécifique 0,76 et rapport d'assymétrie 1,9) le distinguent sans ambiguïté de l'adénylate-cyclase à laquelle il est fonctionnellement couplé dans la membrane.

Contrairement aux résultats obtenus antérieurement avec le récepteur du rein de porc, l'interaction de l'hormone antidiurétique avec le récepteur du rein de Rat est hautement sensible à la présence de nucléotides triphosphates dans le milieu d'incubation (ATP, GTP ou GPP (NH)₂P, un analogue non hydrolysable de ce dernier). En l'absence du nucléotide, l'interaction peut être convenablement décrite par une réaction de pseudo premier ordre très lentement réversible.

En présence de nucléotides triphosphates, le décours temporel de l'interaction est biphasique : une observation suggérant l'existence d'une réaction d'isomérisation du récepteur est une forme rapidement réversible, responsable de l'activation de l'adénylate-cyclase. La mesure des aptitudes relatives d'une série de 11 analogues structuraux de la vasopressine à inhiber la fixation membranaire de vasopressine marquée et à activer l'adénylate-cyclase a clairement montré que les sites détectés sont les récepteurs impliqués dans l'activation de l'enzyme. Il a été montré d'autre part, qu'à la condition de tenir compte de la stabilité métabolique de l'hormone antidiurétique et de ses analogues, il existe une excellente corrélation entre les paramètres d'interaction déterminés *in vitro* sur des fractions membranaires et les activités biologiques *in vivo* mesurées par la réponse antidiurétique du rein. Parmi les analogues étudiés, un inhibiteur compétitif de l'activation de l'adénylate-cyclase par la vasopressine a été identifié. C'est l'inhibiteur le plus actif actuellement connu.

Sur des cellules de neuroblastome du clone NS 20, le récepteur membranaire de la prostaglandine PGE₁ (un agent activateur de l'adénylate-cyclase de ce type cellulaire) a été caractérisé. Dans ce système comme sur le rein de Rat, les caractéristiques cinétiques de l'interaction suggèrent l'existence d'une réaction d'isomérisation entre une forme de récepteur de haute affinité pour PGE₁ et une forme (vraisemblablement la forme active) de plus faible affinité. La conversion entre ces deux formes est sous contrôle de nucléotides triphosphates comme l'ATP ou le GTP. Les sites de fixation détectés ont les caractéristiques d'affinité et de spécificité attendues du récepteur couplé à l'adénylate-cyclase. L'exposition de cellules intactes de

neuroblastome à des prostaglandines exogènes entraîne une désensibilisation progressive qui se traduit au niveau du récepteur par une diminution du nombre de sites accessibles sans modification d'affinité et au niveau de l'adénylate-cyclase par une réduction de l'amplitude de la réponse maximale et un déplacement vers des valeurs plus élevées de la concentration (A50) produisant la demi-stimulation maximale. L'augmentation du A50 précède la diminution de la réponse maximale et est obtenue pour de plus faibles concentrations de prostaglandines exogènes. Il est aisé de rendre compte des caractéristiques de la désensibilisation de l'adénylate-cyclase par une seule diminution du nombre des récepteurs dans un schéma d'activation de l'enzyme impliquant une interaction entre un complexe prostaglandine-récepteur et l'adénylate-cyclase.

Une augmentation du A50 d'activation de l'adénylate-cyclase et une réduction du nombre des récepteurs à PGE sont observées dans des conditions expérimentales (carence partielle en sérum, addition d'AMP cyclique au milieu de culture) connues pour augmenter la synthèse de prostaglandines endogènes par les cellules de neuroblastome. Une telle observation suggère que les prostaglandines endogènes pourraient participer à la régulation de la sensibilité de l'adénylate-cyclase aux prostaglandines.

3) *Etude des récepteurs aux neurotransmetteurs* (J. BOCKAERT, M. LUCAS, J. PRÉMONT, A. DOLPHIN)

Dans le système nerveux central :

a) *les récepteurs à l'adénosine couplés à une adénylate-cyclase*

Il a été suggéré que l'adénosine ou ses dérivés phosphorylés (adénosine mono, di et triphosphate) pourraient être des neuromodulateurs dans le système nerveux central. L'adénosine est spécifiquement captée par des fractions synaptosomales du système nerveux central ; elle est également libérée des synaptosomes par une stimulation électrique ou par le K^+ . L'adénosine et ses dérivés phosphorylés inhibent l'activité électrique spontanée des neurones à Purkinje ou des neurones du cortex olfactif. De plus ces substances augmentent de façon considérable la concentration d'AMP cyclique des tranches de cerveau. Cependant le mécanisme de cette augmentation d'AMP cyclique sur tranches est difficile à analyser. L'adénosine peut accroître la concentration du « pool » d'ATP substrat de la réaction adényl-cyclasique, modifier les concentrations locales d'autres médiateurs ou celle des ions Ca^{++} , connus pour stimuler cette enzyme. Elle peut aussi stimuler directement une adényl-cyclase par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique. Nous avons donc recherché, dans des homogénats de striatum de Rat, une adényl-cyclase sensible à l'adénosine. Il en existe une mais l'adénosine présente

dans le milieu d'incubation est à une concentration suffisante pour la stimuler de façon maximale. L'adénosine présente dans l'essai provient de l'homogénat, mais surtout de l'hydrolyse de l'ATP (concentration 0,5 mM) durant l'incubation. La concentration d'adénosine atteinte est de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-5} M et suffit à stimuler de façon maximale l'adényl-cyclase sensible à l'adénosine (K_m apparent d'activation = 5×10^{-7} M). Les méthylxanthines sont des inhibiteurs compétitifs des récepteurs à l'adénosine (K_1 app = 20 M). L'adénosine présente dans l'essai adényl-cyclasique peut être éliminée par l'adénosine-déaminase. On peut alors stimuler l'adényl-cyclase sensible à l'adénosine par des analogues résistants à cette enzyme comme la 2 chloro-adénosine. Le récepteur impliqué est très spécifique : l'adénine, l'inosine, le 5'-AMP, l'ADP et l'ATP ne sont ni agonistes ni antagonistes. L'adénosine est le seul dérivé purinergique capable de stimuler cette adényl-cyclase.

b) *Les récepteurs beta adrénergiques du système nerveux central*

Nous avons mis au point la mesure de l'adényl-cyclase sensible aux agents beta adrénergiques dans les homogénats du cortex cérébral de Rat. Cette méthode permet une étude plus directe du récepteur beta adrénergique que les méthodes précédentes consistant à mesurer l'accumulation d'AMP cyclique dans des tranches de cortex cérébral. Nous avons montré que le récepteur beta adrénergique impliqué dans cette stimulation est du type β_1 et que sa répartition topographique dans le cortex cérébral est complètement différente de celle du récepteur dopaminergique. Nous avons également étudié le récepteur beta adrénergique en utilisant un antagoniste beta adrénergique marqué : le dihydroal-prénolol. Ces deux mesures nous ont permis de faire une analyse détaillée du mode d'action du LSD sur le récepteur beta adrénergique. Cette drogue s'avère être un bon antagoniste compétitif ($K_1 = 1,9 \times 10^{-7}$ M). Cette observation est cohérente avec le fait que certains comportements aberrants produits par le LSD chez le Rat sont bloqués par le propranolol. Il est aussi intéressant de constater que le LSD est capable de bloquer un grand nombre de récepteurs aux monoamines (récepteur α adrénergique, histaminergique, sérotoninergique) et qu'il est un agoniste partiel du récepteur dopaminergique comme nous l'avons montré précédemment. Il est donc probable que les effets complexes du LSD soient dus à une action pléiotropique sur l'ensemble de ces récepteurs.

Les récepteurs beta adrénergiques des cellules gliales en culture

Nous avons poursuivi l'étude du récepteur beta adrénergique des cellules gliales en culture. Dans le but de préparer un marqueur irréversible du récepteur beta adrénergique, nous avons entrepris de rechercher la présence de groupements réactifs sur la molécule réceptrice. Les propriétés de liaison du récepteur beta adrénergique ne sont pas modifiées par les agents bloquants des ponts

SH. Par contre, le dithiothréitol, le mercaptoéthanol et la cystéine modifient considérablement ces propriétés. Ils diminuent de 10 fois l'affinité des agonistes beta adrénergiques pour l'activation de l'adényl-cyclase des membranes de cellules gliales mais aussi des membranes de cellules hépatiques ou des érythrocytes d'oiseau. Ces agents réducteurs des ponts disulfures ne modifient pas l'affinité du glucagon pour ses récepteurs. Ils diminuent aussi de 10 fois l'affinité du récepteur beta adrénergique pour un antagoniste marqué : le dihydroalprénolol. Le nombre total de sites n'est pas modifié. L'addition de dithiothréitol à des cellules gliales intactes ou des membranes isolées produit le même effet. Le récepteur « réduit » peut être réoxydé par une simple exposition à l'air des cellules pendant une période de 2 heures. La baisse d'affinité d'un facteur 10 du récepteur beta adrénergique pour les agonistes et les antagonistes est due à la fois à une augmentation d'un facteur 3 à 4 de la constante de dissociation et à une réduction d'un facteur 2 à 3 de la constante d'association. L'ouverture d'un pont disulfure change vraisemblablement la configuration spatiale du récepteur car elle diminue davantage l'affinité pour les isomères (+) (25 fois) que pour les isomères (—) (10 fois). Nous espérons que les groupements SH formés au cours de cette réduction pourront être alkylés par un marqueur d'affinité dérivé des antagonistes beta adrénergiques.

4) *Groupe de Biophysique* (C.M. GARY-BOBO, M. BENYOUCEF, P. CHAMPEIL, J.L. RIGAUD, H. GOUDEAU, J. WIETZERBIN)

L'année 1977 a été marquée pour le groupe de Biophysique par d'importantes transformations liées à la fois à l'achèvement relatif de certains programmes de recherche et à la mise en route de nouveaux, et surtout par son départ du Collège de France et son installation au Département de Biologie du C.E.A. à Saclay, intervenue en mars 1978.

Les recherches menées sur les systèmes modèles se sont orientées, avec l'arrivée dans le groupe de M. Y. PRINGENT, maître assistant à Paris VI, vers l'étude de la perméabilité des systèmes liposomiaux, en particulier celle de l'étude des gradients de pH transmembranaire par RMN du phosphore. Cette étude est couplée à celle des interactions d'interface des têtes polaires des phospholipides par RMN du carbone 13.

Dans le domaine de recherche relatif à l'étude de l'ATPase de transport du Ca^{++} du réticulum sarcoplasmique, M. P. CHAMPEIL a poursuivi son étude par résonance paramagnétique électronique des changements de conformation de l'enzyme, sous l'influence de ses ligands (Ca^{++} , nucléotides). En collaboration avec M. F. GUILLAIN, l'étude du cycle enzymatique par cinétique rapide est en cours de développement. Avec la soutenance de thèse en septembre 1977 de M. J. WIETZERBIN, les recherches sur la régulation de la

perméabilité à l'eau et au sodium des épithéliums d'amphibiens, a atteint un certain degré d'achèvement. En collaboration avec M. H. GOUDEAU les recherches se poursuivent sur deux plans :

— étude électrophysiologique de la membrane apicale par voltage-clamp, en collaboration avec le Pr NAGEL de Munich ;

— poursuite des recherches de modélisation en collaboration avec le Pr R.C. MIKULECKY de Richemond, U.S.A.

Equipes rattachées au Laboratoire de physiologie cellulaire

Les recherches du groupe de Neuroendocrinologie cellulaire dirigé par Mme TIXIER-VIDAL se sont poursuivies dans trois directions :

1) *Aspects morphologiques et moléculaires de la régulation de la sécrétion de prolactine par des lignées continues de cellules antéhypophysaires de Rat.*

L'étude de l'interaction de l'oestradiol 17 β et du TRH (thyroïdolibérine) sur la sécrétion de prolactine par les cellules de la lignée GH3 s'est poursuivie en utilisant un modèle expérimental établi antérieurement. On compare l'effet sur divers paramètres de la sécrétion hormonale de la préculture pendant 7 jours sur trois types de milieux différant entre eux par le fait que les sérums sont, ou non, extraits au charbon-dextran et supplémentés, ou non, par une quantité connue d'oestradiol 17 β . Dans ces conditions, l'oestradiol stimule la synthèse de prolactine et réduit la synthèse d'hormone de croissance. Il accroît le nombre des sites de liaison du TRH sans modifier leur affinité pour ce ligand, au moins pour les doses physiologiques (Kd_1 non modifié). Il potentialise l'effet biologique du TRH sur la libération de la prolactine comme de l'hormone de croissance, faisant ainsi apparaître une augmentation de l'affinité apparente pour ce ligand. D'autre part, la culture continue pendant plusieurs mois des cellules GH3 sur un milieu préparé à partir de sérums extraits au charbon-dextran modifie considérablement leurs propriétés, sans pour autant induire leur dédifférenciation. La production hormonale décroît d'une forte amplitude en même temps que le rapport prolactine/hormone de croissance est inversé par rapport à sa valeur dans les cellules GH3 normales. Ces cellules GH3/CDL possèdent 50 à 80 fois moins de sites de liaison du TRH que les GH3 normales. Cette liaison est en grande partie non compatible, donc théoriquement non spécifique. L'effet biologique du THR sur la libération hormonale en 30 mn a effectivement disparu. Cependant, son action stimulante à long terme sur la sécrétion hormonale est maintenue. Les recherches se poursuivent sur le mécanisme de l'interaction oestradiol-TRH étudié à l'aide de ces différents modèles, ainsi que sur la mise au point de milieux sans sérum, à composition plus rigoureusement définie que ceux utilisés jusqu'à présent (N. BRUNET, D. GOURDJI et A. TIXIER-VIDAL).

Les recherches sur les modifications membranaires induites par le TRH lors de son interaction avec les cellules à prolactine de la lignée SD1 se sont poursuivies. En utilisant la concanavoline A comme marqueur des glycoprotéines de surface et la technique à la peroxydase d'AVRAMEAS et coll. pour quantifier la liaison de cette lectine, on montre que la préexposition au TRH induit une augmentation (50 à 100 %) des glycoprotéines de surface. Cet effet nécessite que la liaison du TRH soit effectuée dans les conditions de l'équilibre de liaison (30 mn) et du maximum de saturation des sites biologiquement actifs (27nM). Il est spécifique du TRH. La liaison préalable ou simultanée de la Con A n'interfère pas sur la liaison du TRH. D'autre part, le devenir de la membrane plasmique de cellules SD1 préalablement revêtues du « sandwich » Con A-peroxydase a été suivi au microscope électronique. On constate une importante « internalisation » de la membrane plasmique qui aboutit à l'accumulation de citernes lisses dans la région périnucléaire. Ce phénomène n'altère pas la cinétique de liaison du ^3H -TRH; il décroît de 25 % le nombre de molécules liées et respecte la stimulation correspondante de la sécrétion de prolactine. Des études quantitatives se poursuivent, afin de déceler un rôle stimulant éventuel du TRH sur l'intensité de l'endocytose (N. BRUNET et A. TIXIER-VIDAL).

2) *Etude in vivo et in vitro de la différenciation hypothalamique chez la Souris*

L'étude des lignées continues de cellules hypothalamiques de Souris transformées par le SV 40 s'est poursuivie. L'analyse électrophysiologique d'un clone neurosécréteur révèle que ces cellules possèdent un potentiel de repos très bas, une faible résistance membranaire et sont dépourvues d'activité électrique spontanée. Elles ne forment pas de potentiels d'action en réponse à la stimulation électrique comme à l'application de certains neurotransmetteurs. La dopamine et l'acide γ -amino butyrique exercent un léger effet hyperpolarisant. Dans l'ensemble, cette faible activité électrique va de pair avec l'incapacité apparente de ces cellules à libérer la vasopressine et l'absence de différenciation axonale vraie. Elle peut être liée à l'absence de cellules cibles dans la culture ou à une modification membranaire résultant de la transformation virale (F. DE VITRY, en collaboration avec B. BIOLAC et J.D. VINCENT).

D'autre part, dans le cadre des recherches sur la différenciation *in vivo* et *in vitro* du TRH dans l'hypothalamus de la Souris, un anticorps anti-TRH de haute spécificité et de titre élevé (1/22 000) a été obtenu au laboratoire par D. GROUSSELLE et A. FAIVRE-BAUMAN (constante d'affinité par le TRH : 10^{-9}M). Il a été utilisé pour la mise au point d'un dosage radioimmunologique plus sensible (4 pg) que le dosage radiorécepteur préalablement établi et tout aussi spécifique. Il apporte un outil spécifique et sensible pour l'étude quantitative et immunocytochimique de la différenciation du THR *in vivo* et en culture primaire.

3) *Etude d'immunocytochimie ultrastructurale sur l'origine cellulaire des hormones gonadotropes LH et FSH dans l'antéhypophyse du Rat*

Les recherches que Claude TOUGARD poursuit depuis plusieurs années sur ce thème se sont achevées par la soutenance de sa thèse. Un nouvel argument important en faveur de l'origine cellulaire commune des deux hormones gonadotropes a été apporté grâce à l'emploi d'anticorps spécifiques des sous-unités α et β de la LH et de la FSH de Rat obtenus du N.I.H. (U.S.A.). Les anticorps spécifiques de la sous-unité β de chacune de ces deux hormones reconnaissent les mêmes types cellulaires et les mêmes sites subcellulaires. En outre, une comparaison rigoureuse des diverses approches techniques de l'immunocytochimie ultrastructurale pratiquées parallèlement sur un même matériel conclut en faveur de la méthode « avant enrobage dans les résines » du point de vue de la spécificité et de la richesse d'informations.

MISSIONS, CONFÉRENCES ET CONGRÈS SUR INVITATION

M. François MOREL a eu la responsabilité d'organiser le programme scientifique d'une des sections du Congrès international de Physiologie de Paris (juillet 1977), la section consacrée à la Physiologie rénale. Il a été invité à un colloque de physiologie rénale à Reisensburg (R.F.A.). Il a fait une conférence sur invitation au I^{er} Congrès mondial de réanimation à Paris, septembre 1977. Il a fait des exposés sur invitation à Bischofshausen, au II^e Symposium européen « Hormone and cell regulation » ainsi qu'à la conférence de l'I.N.S.E.R.M. de Blois sur l'endocrinologie en novembre 1977. Il a été invité à faire un exposé dans le cadre de la commémoration du centenaire de l'année de la mort de Claude Bernard à l'Université de Stanford, février 1978.

Mlle D. CHABARDÈS a été invitée à présenter des contributions à la III^e « Workshop » sur les phosphates à Vancouver, juin 1977 ; à cette occasion, elle a effectué une mission de coopération à Montréal. En octobre, elle a présenté une communication au symposium « Biochemical aspects of kidney function » (R.F.A.). Mme IMBERT-TEBOUL a été invitée à faire un exposé dans un des symposiums du Congrès international de physiologie et à en présenter un autre à la réunion annuelle de la Société allemande de néphrologie à Bonn. M. JARD a été organisateur d'une des sections du Congrès international de physiologie de Paris et a participé comme conférencier aux cours du N.A.T.O. sur les nucléotides cycliques à Milan, Italie, ainsi qu'au XII^e F.E.B.S., meeting à Dresde, R.F.A. M. J. BOCKAERT a fait un exposé sur invitation aux Congrès de physiologie de Paris. Il a présenté une communication au Congrès organisé par l'O.T.A.N. sur le thème « Molecular Biology

and Pharmacology of cyclic Nucleotides » ainsi qu'au Congrès de neurobiologie organisé par l'I.N.S.E.R.M. à Seillac. M. LUCAS a présenté une communication au Congrès international sur les nucléotides cycliques à la Nouvelle-Orléans (U.S.A.).

Mme TIXIER-VIDAL et/ou certains de ses collaborateurs ont participé et présenté une communication aux réunions suivantes : réunion de l'Association de neurobiologie ontogénétique, près de Paris ; Colloque international du C.N.R.S. sur la biologie cellulaire des processus neurosécrétoires à Bordeaux ; 2nd European Round Table on Neuroendocrinology, Pays-Bas ; International Symposium on Prolactin à Nice ; International Symposium on Radioimmunoassay and related procedures in medicine, Berlin-Ouest ; VI^e Congrès des onco D.N.A. virologistes aux Embiez et IInd french german Neuroendocrine Round Table, Sainte-Odile.

THÈSES

Mme J. PÉNIT et M. C. ROY ont soutenu leur thèse de doctorat d'Etat.

PUBLICATIONS

F. MOREL, *Renal transport of organic compounds : Mechanisms and energization. (In Proceedings of the Australian Physiol. and Pharmac. Society, 8, p. 97-99, 1977.)*

M.G. GAGNAN-BRUNETTE, D. CHABARDÈS, M. IMBERT-TEBOUL, A. CLIQUE, M. MONTÉGUT, and F. MOREL, *Hormone-sensitive adenylate-cyclase activity along the nephron of genetic hypophosphatemic. (10th Annual meeting of the American Society of Nephrology, Washington, nov. 1977.)*

D. CHABARDÈS, M. IMBERT-TREBOUL, M. GAGNAN-BRUNETTE and F. MOREL, *Different hormonal target sites along the mouse and rabbit nephrons. (Symposium, Reisenburg, 1977, in press.)*

F. MOREL, D. CHABARDÈS and M. IMBERT-TEBOUL, *Methodology for enzymatic studies of isolated tubular segments : adenylate cyclase. (In Methods in pharmacology volume 4B, Renal Pharmacology, ed. Martinez-Maldonado, p. 297-334, 1977.)*

F. MOREL, D. CHABARDÈS and M. IMBERT-TEBOUL, *Distribution of hormone-dependent adenylate-cyclase activity along the rabbit nephron. (In Hormones and cell regulation, volume 2, ed. J. Dumont and J. Nunez, p. 149-160, 1977.)*

M. IMBERT-TEBOUL, D. CHABARDÈS, M. MONTÉGUT, A. CLIQUE and F. MOREL, *Vasopressin-dependent adenylate-cyclase activities in the Rat kidney Medulla : evidence for two separate sites of action.* (*Endocrinology*, 102, p. 1254-1261, 1978.)

D. CHABARDÈS, M. IMBERT-TEBOUL, M. GAGNAN-BRUNETTE, F. MOREL, *Distribution of adenylate-cyclase - linked hormone receptors in the nephron.* (*Proceedings of the sixth Parathyroid conference*, Vancouver, Canada, June 12-17, 1977.)

F. MOREL, *Mode of action of hormones on the kidney.* (*Intensive Care Medicine*, 3, p. 231-232, 1977.)

F. MOREL, *Osmoregulation and water handling by the kidney in mammals.* (*Symposium Claude Bernard*, Stanford University, February 1978.)

C. ROY, N. LE BARS and S. JARD, *Vasopressin-sensitive kidney adenylate-cyclase. Differential effects of monovalent ions on stimulation by fluoride, vasopressin and guanylyl 5'-imidodiphosphate.* (*Europ. J. Biochem.*, 78, p. 325-332, 1977.)

C. ROY, G. GUILLON and S. JARD, *Specific effects of sulfate ion on vasopressin sensitive adenylate-cyclase : a reevaluation of the magnesium regulatory role.* (*Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 78, p. 67-73.)

R. RAJERISON, D. BUTLEN and S. JARD, *Effects of in vivo treatment with vasopressin and analogues on renal adenylate cyclase responsiveness to vasopressin stimulation in vitro.* (*Endocrinology*, 101, p. 1-12, 1977.)

S. JARD, C. ROY, R. RAJERISON, D. BUTLEN and G. GUILLON, *Vasopressin-sensitive adenylate-cyclase from the mammalian kidney : mechanisms of activation.* (*In « Structural and kinetic approach to plasma membrane functions »*. C. Nicolau and A. Paraf, Eds., Springer Verlag, Heidelberg - Berlin, p. 173-187, 1977.)

S. JARD, D. BUTLEN, R. RAJERISON and C. ROY, *The vasopressin-sensitive adenylate-cyclase from the mammalian kidney. Regulation of enzyme responsiveness to hormonal stimulation.* (*« Neurohypophysis. » Int. Conf. Key Biscayne, Fla.*, p. 211-219, 1977.)

S. JARD, G. GUILLON and C. ROY, *Solubilized adenylate-cyclase.* (*In Mole-Eds*, Elsevier/North - Holland, p. 17-31, 1978.)

ular Biology and pharmacology of cyclic nucleotides, C. Forca and R. Paoletti, J. PREMONT, M. PEREZ, J. BOCKAERT, *Adenosine-sensitive adenylate-cyclase in rat striatal homogenates.* (*F.E.B.S. Letters*, 75, p. 209-212, 1977.)

J. PRÉMONT, M. PÉREZ and J. BOCKAERT, *Adenosine-sensitive adenylate-cyclase in rat striatal homogenates and its relationship to dopamine and Ca⁺⁺ sensitive adenylate cyclases.* (*Molecular Pharmacology*, 13, p. 662-670, 1977.)

F. JAVOY, C. EVRARD, A. HERBERT, J. BOCKAERT, A. ENJALBERT and Y. AGID, *Lack of involvement of dopaminergic and Gaba-neurons in the inhibitory effect of harmaline on the activity of striatal cholinergic neurones in the rat.* (*Naunyl-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 297, p. 233-239, 1977.)

A. ENJALBERT, S. BOURGOIN, M. HAMON, J. ADRIEN, J. BOCKAERT, *Post-synaptic serotonin-sensitive adenylate-cyclase in the central nervous system. I. Development and distribution of serotonin and dopamine sensitive adenylate cyclase in rat and guinea pig brain.* (*Molecular Pharmacology*, 14, p. 2-10, 1978.)

A. ENJALBERT, M. HAMON, S. BOURGOIN, J. BOCKAERT, *Post-synaptic serotonin-sensitive adenylate-cyclase with central nervous system. II. Comparison with dopamine and isoproterenol-sensitive adenylate-cyclase in rat brain.* (*Molecular Pharmacology*, 14, p. 11-23, 1978.)

A. DOLPHIN, A. ENJALBERT, J.P. TASSIN, M. LUCAS and J. BOCKAERT, *Direct interaction of LSD with central beta adrenergic receptors.* (*Life Sciences*, 22, p. 345-352, 1978.)

M. LUCAS, J. HANOUNE, J. BOCKAERT, *Chemical modification of the beta-adrenergic receptors coupled with adenylate-cyclase by disulfide bridge-reducing agents.* (*Molecular Pharmacology*, 14, p. 227-237, 1978.)

P. CHAMPEIL, S. BUSCHLEN-BOUCLY and C.M. GARY-BOBO, *Ca²⁺ dependent differential reactivity of some classes of SH groups in sarcoplasmic reticulum fragments as evidence by spin-labelling studies.* (*Comm. 11th FEBS Meeting, Copenhagen*, 1977.)

M. BENYOUCEF, J.L. RIGAUD and C.M. GARY-BOBO, *Selective diffusion of carboxylic anions in pore models : lecithin-water lamellar bases.* (*Comm. XXVII^e Congrès intern. des Sciences physiologiques, Paris*, 1977.)

J. WIETZERBIN, H. GOUDEAU and C.M. GARY-BOBO, *Influence of membrane polarization and hormonal stimulation on the action of lanthanum on frog skin sodium permeability.* (*Pflügers Arch.*, 370, p. 145-153, 1977.)

J. WIETZERBIN, H. GOUDEAU and C.M. GARY-BOBO, *Action of La⁺⁺⁺ on the frog skin s.c.c. Influence of the polarized state of the apical membrane.* (*Comm. XXVII^e Congrès Intern. of Physiol. Sci., Paris*, 1977.)

J.L. RIGAUD and C.M. GARY-BOBO, *Cation diffusion selectivity in a pore model. The phosphatidylcholine/water lamellar phase.* (*Biochim. et Biophys. Acta*, 469, p. 236-256, 1977.)

J.P. DENEFLÉ and H. GOUDEAU, *Organ culture of the frog skin. Persistence of cell renewal and of active sodium transport.* (*Biologie cellulaire*, 29, p. 113-122, 1977.)

M. BENYUCEF, J.L. RIGAUD and C.M. GARY-BOBO, *Anion diffusion selectivity in a pore model. The phosphatidylcholine-water lamellar phase.* (*Biochim. Biophys. Acta*, p. 219-229, 1978.)

P. CHAMPEIL, S. BUSCHELEN-BOUCLY, F. BASTIDE and C.M. GARY-BOBO, *Sarcoplasmic reticulum ATPase. Spin labeling detection of ligand -induced changes in the relative reactivities of certain sulfhydryl group.* (*J. Biol. Chem.*, 253, p. 1179-1186, 1978.)

C.M. GARY-BOBO, D.C. MIKULECKY, S.R. THOMAS, H. GOUDEAU and J. WIETZERBIN, *A network thermodynamic model for short-circuit current transient in frog skin during low concentration pulses of NaCl against a zero Na⁺ background.* (*Comm. FASEB Meeting, Atlanta*, 1978.)

PUBLICATIONS DES GROUPES RATTACHÉS AU LABORATOIRE
DE PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

C. TOUGARD, R. PICARD et A. TIXIER-VIDAL, *Cytogenesis of immunoreactive gonadotropic cells in the fetal rat pituitary at light and electron microscope levels.* (*Developmental Biology*, t. 58, p. 148-163, 1977.)

D. BONNE, P. NICOLAS, M. LAUBER, M. CAMIER, A. TIXIER-VIDAL et P. COHEN, *Evidence for an adenylate-cyclase activity in neurosecretory granule membranes from bovine neurohypophysis.* (*Eur. J. Biochem.*, t. 78, p. 337-342, 1977.)

A. FAIVRE-BAUMAN, D. GOURDJI et A. TIXIER-VIDAL, *Dosage de la thyroli-bérine (TRH) par radio-récepteur.* (*Annales d'Endocrinologie*, t. 38, p. 265-271, 1977.)

F. BOURNAUD, D. GOURDJI, S. MONGONGU et A. TIXIER-VIDAL, *³H-thyroliberin (TRH) binding to nuclei isolated from a pituitary clonal cell line (GHA).* (*Neuroendocrinology*, t. 24, p. 183-194, 1977.)

D. GROUSELLE, A. FAIVRE-BAUMAN et A. TIXIER-VIDAL, *A radioimmunoassay for thyroliberin (THR). Comparison with a radio-receptor assay.* (*Neurosciences Letters*, t. 7, p. 7-15, 1978.)

A. TIXIER-VIDAL, N. BRUNET and D. GOURDJI, *Morphological and molecular aspects of the regulation of prolactin secretion by rat pituitary cell lines.* (*In « International Symposium on prolactin »*. Ed. by C. Robyn and M. Harter, Elsevier North Holland, p. 29-43, 1977.)

B. BIOLAC, B. DUFY, F. DE VITRY, H. FLEURY, A. TIXIER-VIDAL and J.D. VINCENT, *Intracellular recording from hypothalamic neurosecretory cells in tissue culture (clone HT9-C7).* (*Neuroscience Letters*, t. 4, p. 257-262, 1977.)

N. BRUNET et A. TIXIER-VIDAL, *Modifications de surfaces induites par le TRH sur les cellules à prolactine (lignée SD1). Mise en évidence d'une augmentation du nombre de sites de liaison de la concanavaleine A.* (*Biologie cellulaire*, t. 30, p. 4a, 1977.)