

Physiologie du développement

M. Alfred Jost, professeur

Le cours de cette année a été consacré à l'étude de certains « problèmes d'endocrinologie fœtale et néonatale » qui ont fait l'objet de progrès récents. Des biologistes ou des médecins préoccupés par la physiologie du développement ont découvert l'intervention de diverses hormones dans la maturation d'organes variés, qui n'avaient guère retenu l'attention des endocrinologistes jusqu'ici. Il en est ainsi de la maturation du poumon et de l'intestin, entre autres. Au contraire, le rôle des hormones dans le développement d'autres structures, comme l'appareil génital, est classiquement reconnu depuis de nombreuses années ; il n'en a pas moins fait l'objet de recherches récentes en pleine activité.

*
**

La physiologie du *développement du poumon* soulève une série de problèmes qui ont été étudiés au cours d'expérimentations diverses, les relations éventuelles entre les différents aspects restant à envisager.

En examinant les poumons de fœtus de lapin décapités dont la trachée avait été obturée, à un stade précoce de l'organogenèse pulmonaire, on a trouvé vers la fin de la gestation ces poumons volumineux et distendus de liquide. Cette observation a suggéré l'idée que le poumon fœtal sécrète activement du liquide qui contribue à la production du liquide amniotique (Jost et Policard, 1948). Cette donnée a été confirmée dans différentes espèces et l'on a fait sur le fœtus de mouton des mesures de débit : les hormones de la corticosurrénale qui agissent sur d'autres caractéristiques fonctionnelles du poumon fœtal ne modifient pas le volume de liquide produit (Mescher et coll., 1975). A la naissance cette production de liquide doit cesser pour que le poumon puisse jouer son rôle. Walters et Oliver (1978), employant une méthode ingénieuse sur le fœtus de mouton, viennent de montrer que l'adrénaline arrête cette sécrétion. Il y a là un nouvel aspect intéressant des remaniements survenant chez le petit au moment de la parturition.

D'autre part, Claude Bernard avait montré en 1859 que durant « une période assez limitée de la vie embryonnaire » le poumon contient une quantité appréciable de glycogène. Cette donnée a été confirmée de nombreuses fois depuis, en réalisant des dosages ou en examinant le poumon au microscope électronique. Cette dernière technique montre bien que le glycogène est localisé dans l'épithélium des voies respiratoires et dans les grandes cellules du revêtement alvéolaire, dans lesquelles apparaîtront les « corps osmiophiles lamellaires ». Or des recherches *in vitro* (Alescio et Dani, 1972) ou *in vivo* (Kikkawa et coll., 1971) indiquent que les corticostéroïdes accélèrent le dépôt du glycogène, puis hâtent sa disparition. Chez des fœtus de rat décapités la diminution du glycogène pulmonaire est retardée. La comparaison de l'évolution du contenu en glycogène du foie et du poumon des mêmes fœtus pose d'intéressants problèmes à l'endocrinologiste. Jacques Bourbon en a entrepris l'étude au laboratoire.

Diverses observations montrent qu'il y a une relation temporelle entre la disparition du glycogène et l'apparition des corps osmiophiles lamellaires, puis du surfactant. Il est possible que le glycogène soit utilisé sur place pour la synthèse du surfactant.

**

Les recherches initiales de Pattle sur les propriétés de moussage du liquide intrapulmonaire et sur la stabilité des bulles produites par un barbotage gazeux dans le liquide recueilli par lavage intrapulmonaire, ont été et restent fort importantes. Les mesures de tension superficielle en surface variable introduites par Clements ont été non moins importantes dans l'étude du surfactant. Il s'agit de constituants qui disposés en film sur de l'eau abaissent profondément la tension superficielle du contact air-eau. Cette tension est d'autant plus abaissée pour une même quantité de produit que la surface sur laquelle elle est répartie est plus grande. On conçoit l'importance physiologique de cette observation, la distension des alvéoles n'étant possible que si les forces de tension superficielle de sa surface interne sont suffisamment faibles. Le défaut de surfactant est responsable de la détresse respiratoire du nouveau-né, et éventuellement d'une atelectasie pulmonaire plus ou moins complète.

De nombreuses recherches ont été consacrées à la nature chimique du surfactant. On s'est vite aperçu que les lécithines en sont l'un des constituants essentiels et d'une manière plus précise les dipalmitates de phosphatidylcholine. Mais phosphatidyléthanolamine et phosphatidylglycérol sont d'autres constituants importants. On doit cependant reconnaître qu'à l'heure actuelle il n'est pas possible de donner une définition chimique précise de ce qu'est le mélange appelé surfactant. C'est la raison pour laquelle, même à une

époque où l'on préfère les dosages chimiques de corps bien définis, les tests physiologiques tout simples gardent un très grand intérêt.

On a fait de nombreuses recherches en analysant l'incorporation de choline, de méthionine ou d'éthanolamine dans les lécithines de la surface interne du poumon, ou en dosant des activités enzymatiques. Mais les mesures basées sur la persistance des mousses dans le liquide pulmonaire, sur la tension superficielle du liquide de lavage pulmonaire ou les courbes de distension du poumon en fonction de la pression, ou le volume d'air résiduel évaluent des grandeurs physiologiques d'importance vitale et restent indispensables à considérer.

A ces données s'ajoutent naturellement les études histologiques en microscopie optique ou électronique de la formation des alvéoles et de la différenciation de leurs parois.

En 1968, C.G. Liggins induit la parturition prématurée de fœtus de mouton en leur infusant un glucocorticoïde : l'agneau se révèle viable bien que prématuré d'un mois. D'une rencontre conjointe des Sociétés d'Obstétrique et de Pédiatrie en Nouvelle-Zélande naît l'hypothèse que les corticostéroïdes jouent un rôle dans la maturation du poumon. Un très grand nombre de travaux ont été rapportés durant ces dix dernières années portant sur le lapin, le rat, le mouton, le singe, en même temps que des essais cliniques chez les enfants prématurés.

Il serait trop long de résumer ici l'ensemble des travaux examinés au cours des leçons de l'année, en tenant compte des paramètres variés retenus par les divers auteurs étudiant diverses espèces. On retiendra, par exemple, que chez le fœtus de mouton la maturation pulmonaire survient avant l'augmentation de la concentration plasmatique en corticostéroïdes (Mescher et coll., 1975). Une telle observation laisse penser que dans cette espèce le premier phénomène n'est pas la conséquence du second.

D'autres recherches ont été consacrées à l'action d'autres hormones sur le poumon fœtal. Des faits très nets ont été rapportés en ce qui concerne les hormones thyroïdiennes (Wu et coll., 1973). Un certain nombre de travaux récents suggèrent que ces hormones influencent davantage la morphogénèse pulmonaire que la synthèse du surfactant. Mais il est encore difficile de faire le point exact. Quoi qu'il en soit, on retiendra que plusieurs publications de ces cinq dernières années signalent un lien possible entre l'hypothyroïdisme congénital et la détresse respiratoire. La question mérite d'être examinée de près.

Plus récemment, un certain nombre d'auteurs ont envisagé le rôle de la prolactine dans la maturation du poumon du fœtus de mouton ou du fœtus humain (Hamosh, 1977 ; Hauth et coll., 1978). Il faut bien dire que leurs

données restent peu contraignantes pour le moment. Nous nous sommes nous-mêmes demandé, au laboratoire, si l'hormone de croissance intervient ; la question est à l'étude.

Enfin, plusieurs recherches *in vitro* ou *in vivo* suggèrent un effet adverse de l'insuline sur la synthèse de surfactant. On a aussi insisté sur le risque de détresse respiratoire des enfants de mère diabétique.

L'ensemble des recherches de ces dernières années reste assez malaisé à interpréter de manière simple. La place exacte et la nature des facteurs endocriniens dans la maturation pulmonaire normale demandent à être mieux élucidées.

*
**

L'intestin est une autre structure dont le développement prénatal et post-natal pose d'intéressants problèmes. Au moment de la naissance, l'équipement enzymatique doit permettre la digestion du lait. Vers l'époque du sevrage, avec le changement de régime alimentaire, surviennent des changements enzymatiques. Le rôle respectif d'une induction enzymatique directe par les substrats ou de facteurs de corrélation, comme les hormones, dans ces changements demande à être précisé.

Les études expérimentales relatives à l'intervention des glandes endocrines dans la maturation enzymatique de l'intestin, ouvertes en 1953 par Florence Moog au sujet des phosphatases alcalines, ont été surtout poursuivies au sujet de la lactase, de la maltase et de la sucrase. Chez la jeune souris l'activité de la lactase dans l'intestin est élevée jusqu'à 16 jours, elle diminue ensuite rapidement. La sucrase et la maltase, faibles jusqu'à 14 jours, augmentent ensuite rapidement. Les recherches de N. Kretchmer et de ses collaborateurs, ainsi que d'autres auteurs, ont établi le rôle des corticostéroïdes dans ces changements. Or l'injection de cortisone permet d'obtenir l'augmentation de la sucrase chez des souris de 8 jours, mais pas chez celles de 4 jours (F. Moog et coll., 1973). L'étude des « récepteurs » tissulaires pour les glucocorticoides ne suffit guère à expliquer cette différence.

L'un des problèmes intéressants de l'action de la cortisone sur l'activité de la sucrase intestinale est relatif à la multiplication et à la migration des cellules épithéliales depuis le fond des cryptes vers la surface. L'hormone augmente surtout l'activité des cellules nouvellement formées (Koldovsky).

D'autres hormones interviennent probablement. Les expériences de S. Henning (1978) indiquent que chez le rat la thyroxine ne réussit pas à élever précocement l'activité de la sucrase jéjunale, mais qu'elle est nécessaire à l'action du cortisol : elle semble jouer un rôle « permissif ».

Chez de jeunes rats hypophysectomisés à 6 jours, ni la prolactine ni l'hormone de croissance n'augmentent l'activité de la sucrase.

Ici encore, le rôle exact et la nature des hormones intervenant dans la maturation de l'intestin, de même que leur mode d'action, posent d'importantes questions qui restent à résoudre.

**

Enfin, on a évoqué d'autres systèmes dans la maturation desquels les corticostéroïdes interviennent normalement. L'un des modèles ayant donné lieu à des recherches passionnantes, récemment, est la *rétilne de l'embryon de poulet* qui répond aux corticostéroïdes par la synthèse de glutamine synthétase à 12 jours, mais pas à 7 jours (Sarkar et coll., 1978). Cette différence ne tient pas à des changements dans le nombre ou la nature des récepteurs pour les corticostéroïdes, mais à la maturation d'une étape suivante de la physiologie cellulaire, la production d'ARN messager en réponse à l'hormone.

**

Dans la partie terminale des leçons de cette année, on a analysé les recherches de ces deux dernières années effectuées en France (Mauléon et coll.) ou aux Etats-Unis (Wilson et coll., Sholl et Goy, 1978) montrant que l'*ovaire fœtal* produit très précocement des œstrogènes, bien avant que la structure ovarienne typique avec des follicules ovariens ne soit réalisée. Les implications de ces recherches devront encore faire l'objet de nouvelles études.

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) *Réponse à l'insuline et résistance à l'insuline*

B. JEANRENAUD (Université de Genève) : *De l'hyperinsulinémie à la résistance à l'insuline* ;

M^{me} Cl. CORREZE (Unité de recherches sur la glande thyroïde et la régulation hormonale, I.N.S.E.R.M.) : *Réponse à l'insuline des adipocytes d'animaux hypothyroïdiens* ;

M^{me} M.T. SUTTER (Université de Bordeaux) : *Rôle de la progestérone dans l'insulino-résistance pendant la gestation chez la ratte* ;

M^{me} M. LAVAU (Groupe de recherches sur la physiopathologie de la nutrition, I.N.S.E.R.M., Paris) : *Modulation de la réponse de l'adipocyte à l'insuline par un régime hyperlipidique*.

2) Antigène HY et différenciation du sexe

M. FELLOUS (Hôpital Saint-Louis, Paris) : *Etude génétique et biochimique de l'antigène HY chez l'homme. Son expression dans certaines dysgénésies gonadiques* ;

A. JOST (Collège de France) : *Différenciation sexuelle dans des combinaisons embryonnaires hétérosexuelles : relation avec l'antigène HY* ;

P. ZABORSKI (Centre de Cytologie expérimentale, C.N.R.S., Ivry) : *L'antigène HY chez les Vertébrés inférieurs : relations avec la différenciation sexuelle*.

3) Utérus maternel et fœtus pendant l'accouchement

Cl. SUREAU (Clinique Obstétricale et de Physiopathologie de la reproduction, Baudelocque) : *Introduction : l'activité utérine chez la femme pendant le travail et son retentissement sur l'état fœtal* ;

G. GERMAIN et D. CABROL : *Aspects électrophysiologiques de l'activité utérine* ;

S. UZAN et B. MARIA : *La mesure en continu du pH tissulaire fœtal* ;

P. BLOT et G. BREART : *Déclenchement artificiel du travail* ;

G. BARBIER : *Remarques sur les effets maternels et fœtaux des substances analgésiques et anesthésiques. Etude plus particulière de la Pethidine*.

4) Données récentes relatives aux somatomédines

S. VAN BUUL et J.L. VAN DEN BRANDE (Université de Rotterdam) : *Effets d'une préparation contenant de l'activité somatomédine chez la souris naine* ;

M. BINOUX (Groupe de recherches sur la physiologie endocrinienne infantile, I.N.S.E.R.M., U. 142) : *Production d'une protéine liant spécifiquement les somatomédines par des explants hépatiques de rat, en culture. Utilisation de cette protéine en vue d'un dosage par compétition des somatomédines* ;

M.Th. CORVOL (Unité de recherches sur les maladies du métabolisme chez l'enfant, I.N.S.E.R.M., U. 30) : *Mise en évidence, dans le liquide amniotique, d'une protéine inhibitrice de l'activité somatomédine.*

TRAVAUX DE LABORATOIRE

Les recherches du laboratoire ont porté sur divers aspects de physiologie du développement.

I. - *Développement de l'appareil génital* (R. AGELOPOULOU, M.C. DELORT, C. GIBELLO, A. JOST, S. MAGRE, J. PREPIN, B. VIGIER, avec la collaboration technique de M. BACONAT, J. HOFFBECK, O. LOCQUET, S. PERLMAN et O. VALENTINO).

En continuité avec les efforts précédents, les recherches de cette année ont été poussées dans trois directions, dans une tentative d'analyse des faits biologiques observés.

1) Cultures *in vitro* d'ébauches gonadiques indifférenciées de fœtus de rat : ces cultures ont été effectuées en vue d'obtenir la différenciation testiculaire (ou ovarienne) *in vitro* et d'utiliser un tel système sur le plan expérimental. Etant donné que les gonades du fœtus de rat se différencient en testicule au cours de la 13^e nuit qui suit la fécondation (JOST, 1972), on a mis en culture des ébauches de 12 jours et demi, leur « sexe génétique » étant reconnu grâce à l'étude de la chromatine sexuelle dans la membrane amniotique. Dans de telles cultures, on obtient en trois jours les premiers stades caractéristiques du développement testiculaire, en particulier la différenciation des cellules de Sertoli primitives. Certains facteurs sériques, contenus dans le sérum de fœtus de veau, ont sur cette différenciation une action adverse qui devra être étudiée, ouvrant ainsi l'étude des facteurs qui favorisent ou défavorisent la différenciation testiculaire initiale.

2) La culture *in vitro* de cellules de Sertoli isolées du testicule fœtal de rat ou de veau (VIGIER et LOUNANA, 1978), entreprise l'an passé avait montré qu'on peut poursuivre de telles cultures pendant plusieurs semaines ou plusieurs mois : il apparaît au cours des nouvelles expériences que la production du facteur d'inhibition des canaux de Müller par ces cultures reste faible et assez difficile à mettre en évidence. Dans l'état actuel de la question, on ne peut guère utiliser de telles cultures comme source de la substance inhibitrice du testicule, dans la perspective d'une étude des propriétés physiologiques de cette hormone.

3) Etude de la prophase méiotique dans l'ovaire fœtal. Dans le cadre des études sur les fœtus de veau freemartins, utilisés comme modèle de pathologie de la différenciation de l'appareil génital, on a, cette année, porté l'attention spécialement sur la méiose. Une étude des coupes histologiques des gonades (ce qui n'est pas une technique à recommander) d'une série de fœtus freemartins, a permis plusieurs observations. On a commencé, par ailleurs, à soumettre à l'expérimentation certaines des interprétations suggérées par ces observations. Chez les fœtus freemartins le nombre de cellules germinales comptées dans les deux gonades n'augmente plus après 50 jours environ; après trois mois, ce nombre ira en diminuant.

On peut observer des figures de prophase méiotique dans les gonades de certains fœtus freemartins entre 77 et 130 jours. Mais il apparaît trois différences au moins par rapport aux femelles témoins : 1) le nombre total de cellules germinales est beaucoup plus faible; 2) le pourcentage de cellules germinales entrant en méiose chez les freemartins, quel que soit leur âge, est beaucoup plus faible que chez les témoins. Chez certains freemartins aucune cellule germinale (ou presque) n'entre en méiose; en effet : 3) il n'y a pas de cellule germinale en méiose dans les gonades dans lesquelles se sont différenciés des tubes séminifères; les cellules en prophase méiotique ne se trouvent que dans des gonades n'ayant pas formé de cordons séminifères, mais il n'y en a pas dans toutes.

Pour vérifier les hypothèses qu'inspirent ces observations, on a entrepris une analyse *in vitro* et en employant des gonades de fœtus de rat. On cultive côte à côte des testicules et des ovaires, et l'on détermine le degré d'inhibition de la méiose dans les cultures après avoir isolé et dispersé les cellules ovariennes et en établissant la proportion de cellules germinales ayant atteint le stade leptotène, zygotène, pachytène, etc. (technique inédite de Fajer). Les résultats préliminaires obtenus semblent bien montrer l'action adverse du testicule sur la méiose. Cette étude qui s'avère pleine d'intérêt nous occupe activement (expérimentation de J. Prépin et C. Gibello).

PUBLICATIONS

PREPIN J., VIGIER B. et JOST A., *Meiosis in fetal freemartins gonads and in Rat fetal ovaries in vitro* (*Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 1979, 49, sous presse).

Les références de deux revues générales de A. JOST, encore sous presse, seront indiquées ultérieurement.

II. - Régulation de la sécrétion d'insuline et d'hormone de croissance chez le fœtus

1) Contrôle de la sécrétion d'insuline par le pancréas du fœtus de rat (A. KERVRAN et J. RANDON)

Lorsque l'on dose l'insuline plasmatique des fœtus de rat dont la mère est soumise à une hyperglycémie, on constate que les cellules β du pancréas endocrine du fœtus répondent à cette hyperglycémie en sécrétant de l'insuline dès 18 jours de gestation. Le développement de la réponse des cellules β à l'hyperglycémie ne dépend pas de la présence d'un système hypothalamo-hypophysaire fonctionnel : il se produit de la même manière chez des fœtus de 21 jours décapités *in utero* à 17 jours de gestation. Au contraire une hypothermie maternelle, induite sous anesthésie au pentobarbital sans précautions pour réchauffer l'animal, diminue de façon importante la sécrétion d'insuline par le pancréas du fœtus de 21 jours en réponse à l'hyperglycémie. Cette observation permet de comprendre pourquoi d'autres auteurs ont conclu de leur expérimentation que la cellule β du fœtus de rat est insensible au glucose.

L'utilisation d'un dispositif de « périfusion » a permis d'étudier *in vitro* le développement de la sécrétion d'insuline induite par le glucose par des fragments de pancréas de fœtus. Aux stades de 19, 20 et 21 jours, cette sécrétion est biphasique ; la théophylline ou un mélange de 12 acides aminés à concentration physiologique (9 mM) potentialisent les deux phases de la libération d'insuline induites par le glucose. Aux stades plus précoces de 17 et 18 jours la sécrétion comporte seulement une phase courte de sécrétion dont la durée n'excède pas 10 minutes ; la théophylline ne modifie pas le cours temporel de cette réponse au glucose, mais le mélange d'acides aminés fait apparaître une deuxième phase de sécrétion d'insuline qui se maintient pendant toute la stimulation.

La courbe de sécrétion d'insuline par le pancréas de fœtus à terme obtenue pour des concentrations croissantes de glucose présente une forme sigmoïde. Le seuil de réponse, la sécrétion maximale d'insuline et la constante d'activation des cellules β correspondent à des concentrations de glucose très voisines de celles rapportées pour l'adulte. L'addition du mélange d'acides aminés (9 mM) diminue la valeur de la constante d'activation. Sur le plan physiologique, il est de grand intérêt de noter que les concentrations plasmatiques élevées en acides aminés pendant la vie fœtale, permettent une modulation de la libération d'insuline pour de faibles variations de la glycémie.

En vue de préciser davantage les caractéristiques métaboliques des cellules β du fœtus de rat on a entrepris l'étude *in vitro* de la sécrétion d'insuline par les îlots de Langerhans isolés par la collagénase. Des résultats préliminaires ont été obtenus.

PUBLICATIONS

KERVAN A., GUILLAUME M. et JOST A., *The endocrine pancreas of the fetus from diabetic pregnant rats (Diabetologia, 1978, 15, 387-393).*

KERVAN A., RANDON J. et MALTIER J.P., *Effets de la température ambiante sur les sécrétions hormonales pancréatiques à la naissance (Journées de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 1979, p. 165-174).*

KERVAN A., RANDON J. et GIRARD J.R., *Dynamics of glucose induced plasma insulin increase in the rat fetus at different stages of gestation. Effects of maternal hypothermia and fetal decapitation (Biol. Neonate, sous presse).*

2) *Régulation de la sécrétion de l'hormone de croissance (M. RIEUTORT et A. JOST)*

On a poursuivi l'étude du développement des relations fonctionnelles hypothalamo-hypophysaires, en envisageant l'acquisition de la sensibilité des cellules somatotropes à la somatostatine, chez le rat. Des expériences antérieures suggéraient que le système nerveux central du fœtus avait surtout une action stimulante sur la sécrétion de GH puisqu'après encéphalotomie, les taux de GH plasmatiques étaient très diminués par rapport à ceux des fœtus ayant subi une opération simulée. On pouvait se demander si l'hypothalamus n'élabore pas de somatostatine avant la naissance ou si l'hypophyse fœtale n'est pas sensible à celle-ci.

Dans une étude menée *in vivo* et *in vitro* (pérfusion), on a pu démontrer une insensibilité de l'hypophyse à la somatostatine jusqu'au 3^e ou 4^e jour après la naissance. L'hypophyse fœtale ou néonatale sécrète de l'hormone de croissance même en présence de concentrations élevées de somatostatine (10 µg/ml *in vitro* et 5 µg/g *in vivo*), la somatostatine n'inhibe la sécrétion d'hormone de croissance qu'après le 5^e jour postnatal.

Par ailleurs, dans le cadre de l'étude de la régulation endocrinienne du métabolisme glucidique du fœtus de lapin, on a dosé la concentration en hormone somatotrope du fœtus de lapin en fonction de l'âge. Cette concentration augmente considérablement après 25 jours, au moment où la teneur du foie en glycogène augmente elle aussi. Or d'autres recherches sur des fœtus de lapin décapités ou décapités et injectés d'hormone somatotrope avaient montré la nécessité d'une hormone hypophysaire du type de l'hormone somatotrope pour obtenir le dépôt de glycogène dans le foie après 25 jours.

PUBLICATIONS

RIEUTORT M., *Développement de la sensibilité des cellules somatotropes du rat à la somatostatine : étude in vitro (J. Physiologie, sous presse).*

RIEUTORT M., *Developmental change in the somatostatin inhibition of growth hormone (GH) release from the pituitary : an animal approach. (International Symposium on Fetal Medicine, Venice, June 1979, sous presse).*

JOST A., RIEUTORT M. et BOURBON J., *Hormone de croissance plasmatique chez le fœtus de lapin. Relations avec la maturation du foie et du poumon (C.R. Acad. Sci., Paris, 1979, 288, 347-349).*

II. - *Métabolisme du glycogène dans le foie et le poumon du fœtus*
(J. BOURBON, M. GILBERT, A. JOST et M. RIEUTORT)

Au cours de la gestation, le contenu en glycogène du foie et du poumon des fœtus des mammifères subissent une évolution inverse. Le foie accumule des quantités importantes de glycogène qui constituent une réserve énergétique pour le nouveau-né. Pendant la même période, dans le poumon le glycogène accumulé antérieurement disparaît et sert peut-être à la synthèse du surfactant.

Foie : Le dépôt du glycogène dans le foie fœtal dépend d'un double contrôle hormonal par les corticostéroïdes et par une hormone hypophysaire (cas du lapin) ou placentaire (cas du rat). Chez le fœtus de lapin décapité, le dépôt de glycogène n'a pas lieu. Il peut être obtenu en administrant au fœtus décapité, du cortisol et soit de la prolactine, soit de l'hormone de croissance. On a tenté de déterminer quelle hormone hypophysaire intervient effectivement au cours du développement en dosant les taux hormonaux plasmatiques. La prolactine fœtale reste faible jusque vers la fin de la gestation (28 jours) (dosages effectués par A.S. McNeilly). Au contraire, l'hormone de croissance immunoréactive, augmente considérablement dans le sang fœtal entre 24 et 26 jours de gestation, juste avant que le foie ne commence à accumuler du glycogène. Il est raisonnable d'admettre que l'hormone somatotrope est impliquée dans la charge du foie en glycogène.

En vue d'analyser le rôle des corticostéroïdes et de l'hormone somatotrope, on a étudié la liaison spécifique de ces hormones à des protéines cytosoliques du foie du fœtus. Le nombre de sites récepteurs aux corticostéroïdes dans le cytosol des cellules hépatiques ne varie guère entre 22 et 29 jours de gestation; l'affinité des récepteurs pour l'hormone augmente légèrement entre 22 et 24 jours et reste ensuite constante. Chez les fœtus décapités à 22 jours et étudiés à 29 jours, l'affinité des récepteurs pour l'hor-

mone est semblable à celle des témoins, mais la concentration des sites de récepteurs est légèrement réduite. Cette différence semble faible pour expliquer l'absence d'accumulation du glycogène dans le foie des fœtus décapités ; et il est peu probable que l'hormone somatotrope agisse par le biais d'une modification de la réceptivité aux corticostéroïdes.

On a aussi mis en évidence des récepteurs spécifiques à l'hormone somatotrope dans le foie du fœtus de lapin, mais la concentration des sites ne change pas beaucoup entre 20 et 30 jours de gestation.

L'étude des « récepteurs » aux hormones n'a donc pas été bien instructive, comme d'autres auteurs étudiant l'endocrinologie du développement l'ont constaté avant nous dans l'analyse d'autres systèmes.

Poumon : D'autres auteurs ont montré que chez le rat la décapitation du fœtus *in utero* retarde la diminution du glycogène pulmonaire. Nous avons constaté que normalement l'activité de la glycogène phosphorylase augmente dans le poumon avant la disparition du glycogène, et que la décapitation prévient cette augmentation à condition d'être faite avant 18 jours (stade critique). Le rôle de l'hormone de croissance dans ces changements est à l'étude.

PUBLICATIONS

BOURBON J., *Glycogène, glycogène-synthétase et phosphorylase dans le poumon du fœtus de rat (J. Physiologie, Paris, 1978, 74, 22 A).*

BOURBON J., GILBERT M. and JOST A., *Glucocorticosteroid receptors in the liver of the normal or decapitated rabbit foetus (J. Endocrinology, 1979, 81, 291-297).*

BOURBON J., GIRARD J. and JOST A., *Hormonal control of carbohydrate metabolism in the perinatal period.* In : « *Clinical Perinatology* » (S. Aladjem, A. Brown et C. Sureau, eds.) C.V. Mosby et Co, St. Louis, Mo., U.S.A. (sous presse).

Voir aussi JOST, A., RIEUTORT M. et BOURBON J. (§ II).

IV. - Métabolisme maternel et fœtal au cours de la gestation

Ces recherches ont été poursuivies par Frederick BATTAGLIA de l'Université du Colorado à Denver en année sabbatique dans le laboratoire avec John SPARKS et J. TAYLOR, en collaboration avec les chercheurs du laboratoire.

A) Besoins caloriques du fœtus pour sa croissance

Les besoins caloriques de la croissance fœtale sont représentés par l'équivalent calorique des nouveaux tissus synthétisés par le fœtus pendant la gestation, additionné des calories nécessaires à la dépense calorique. Jusqu'ici on n'avait guère d'information sur la valeur en calories du fœtus, excepté en ce qui concerne des mesures faites sur le fœtus de mouton. Dans aucune étude antérieure, on n'avait comparé la valeur du fœtus en calories établie par le calcul à des mesures directes à la bombe calorimétrique. De telles recherches ont été entreprises sur le cobaye. Cette espèce est particulièrement intéressante parce qu'à la naissance le poids des fœtus peut devenir égal à 40 % de celui de la mère ou même davantage. On a fait sur le corps entier des fœtus d'âge varié (depuis la conception) les mesures suivantes : 1) poids frais et poids sec ; 2) pourcentage de graisse ; 3) carbone et azote totaux ; 4) acides aminés totaux ; 5) mesures à la bombe calorimétrique.

De cette manière on peut comparer la valeur calorique du fœtus calculée à partir des graisses, des protéines et des autres constituants, à celle mesurée à la bombe. Par ailleurs la connaissance du carbone total et de l'azote total pourra être utilisée comme référence dans l'étude du transfert placentaire des nutriments.

Dans un travail parallèle, on a utilisé la même méthode pour calculer les besoins caloriques du fœtus humain en utilisant les données de la littérature pour ce qui est de la composition corporelle du fœtus. Il apparaît que contrairement à des opinions exprimées antérieurement dans la littérature, l'accrétion calorique au cours de la croissance du fœtus humain est bien plus élevée qu'on ne le pensait. Cela résulte du taux très élevé de dépôt de graisse durant la dernière partie de la gestation. Pendant les cinq dernières semaines de la gestation le fœtus humain a besoin d'environ $40 \text{ kCal.kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$; or 35 kCal correspondent à un dépôt de graisse. Le dépôt de graisse représente plus de la moitié de l'accrétion exprimée en calories entre la 27^e semaine de gestation et le terme.

Par suite de sa très forte concentration en graisse (16 % à la naissance), le fœtus humain présente un taux d'accrétion calorique plus élevé que le fœtus de mouton, qui cependant a un taux de croissance trois fois plus élevé.

B) Réalisation de préparations chroniques, par cathétérisation vasculaire, chez le cobaye

Des préparations dites chroniques d'animaux portant pour une durée prolongée des cathéters dans certains vaisseaux, permettant soit des prélèvements sanguins, soit des injections de substances étrangères, ont été réalisées jusqu'ici sur des animaux de grande taille, comme le mouton, la vache ou

le cheval. Ces préparations qui permettent d'étudier la composition du sang circulant en dehors de tout stress chirurgical, n'avaient pas jusqu'ici été réalisées sur les animaux de petite taille communs dans les laboratoires. Au cours du présent travail, on a mis au point des techniques chirurgicales permettant de mettre en place des cathéters dans les artères fémorale et carotide sur des femelles de cobaye gestantes. Ces cathéters ont été maintenus fonctionnels pour des durées atteignant trois semaines.

Les cathéters de l'artère carotide ont été placés juste au-dessus des valves carotidiennes de manière à permettre l'injection de microsphères radioactives dans une région de flot turbulent. Ces microsphères, dont le diamètre est tel qu'elles sont bloquées par les capillaires, permettent de déterminer le flux sanguin. On a étudié deux aspects : 1) effets du stress chirurgical : on a mesuré les concentrations plasmatiques du glucose, des corps cétoniques, des acides gras libres, du lactate et du pyruvate, durant les jours suivant la mise en place des cathéters. L'état d'équilibre des substrats est atteint 2 à 3 jours après l'acte chirurgical ; 2) effet de l'âge de la gestation : la concentration artérielle des divers substrats n'est pas modifiée par la gestation, à l'exception du glucose. La femelle du cobaye devient assez nettement hypoglycémique durant la fin de la gestation, même si elle est bien nourrie. L'influence du jeûne sur la glycémie fait l'objet de recherches en cours.

C) *Mesure du débit sanguin utérin chez le cobaye dans des conditions d'équilibre*

La technique des microsphères a été utilisée pour mesurer le débit sanguin utérin et placentaire à divers stades de gestation. Il s'agit d'une part de mesurer la courbe de débit sanguin utérin en fonction de l'âge de la gestation. Et d'autre part, de voir s'il y a une relation entre le flux sanguin placentaire et le poids soit du fœtus, soit du placenta. Jusqu'ici on n'avait pas étudié dans des conditions d'équilibre et sans « stress » expérimental le flux sanguin placentaire chez de petits mammifères dont les cornes utérines portent plusieurs fœtus. Ces mesures de flux sanguin sont accompagnées de mesures de consommation de glucose, de lactate, d'acides gras libres et de corps cétoniques par l'utérus à l'aide d'une double cathétérisation de la carotide et de la veine utérine.

D) *Renouvellement et recyclage du glucose chez des cobayes non anesthésiés et non stressés*

Pour étudier le taux de renouvellement (« turnover ») du glucose chez la femelle de cobaye pleine, on a infusé du ^{14}C -U-glucose et du ^3H -6-glucose, et mesuré le ^{14}C et le ^3H dans des échantillons de sang pris toutes les 15 minutes pendant 105 minutes chez des animaux en préparation chronique.

Le renouvellement est déduit de l'activité spécifique du glucose plasmatique à l'équilibre et du taux d'infusion de glucose. Les taux de renouvellement des deux formes de glucose marqué utilisées ont été les mêmes, ce qui suggère qu'il y a peu de recyclage du glucose dans les conditions de l'étude.

PUBLICATION

Une seule publication a été rédigée jusqu'ici sur les recherches résumées ci-dessus.

SPARKS J., GIRARD J. et BATTAGLIA F.C., *An estimate of the caloric requirements of the human fetus (Biol. Neonate, sous presse).*

V. - Métabolisme énergétique du nouveau-né

(S. CALLIKAN, L. EL MANOUBI, P. FERRE, J. GIRARD, A. LETURQUE et J.P. PEGORIER)

Les recherches ont été poursuivies cette année en étudiant plus particulièrement trois aspects :

1) *Rôle des acides gras et des corps cétoniques dans la production des substrats gluconéogéniques par les tissus périphériques du Rat nouveau-né.*

Les études effectuées précédemment montraient qu'une oxydation active des acides gras était nécessaire au maintien d'une gluconéogenèse intense chez le nouveau-né allaité. En plus de leur rôle dans la régulation hépatique, les acides gras libres semblent contrôler la production périphérique de substrats glucoformateurs (lactate, pyruvate, alanine) en inhibant la pyruvate déshydrogénase (PDH). En effet, l'injection de dichloroacétate (un activateur de la PDH) aux rats nouveau-nés allaités produit une chute immédiate du lactate, du pyruvate et de l'alanine, puis une hypoglycémie sévère (chute de 5 mmol/l à 1 mmol/l en 6 heures). L'utilisation du glucose n'est pas modifiée par le dichloroacétate. L'hypoglycémie induite par le dichloroacétate peut être corrigée en injectant des substrats gluconéogéniques aux nouveau-nés allaités. Ces études montrent que la forte activité gluconéogénique observée chez le rat nouveau-né allaité est soutenue par une augmentation de la production périphérique de lactate, d'alanine et de pyruvate, secondairement à une inhibition de la PDH par les acides gras ou les corps cétoniques.

2) *Mécanisme d'action des acides gras dans la régulation de la gluconéogenèse hépatique chez le Rat nouveau-né.*

Les interactions métaboliques entre l'oxydation des acides gras et la gluconéogenèse ont été étudiées *in vivo* sur des rats nouveau-nés âgés de 16 heures,

dans différentes conditions nutritionnelles. Les mesures des différents intermédiaires métaboliques de la gluconéogenèse après congélation rapide du foie dans l'azote liquide permet de déterminer les étapes limitantes ou régulatrices de cette voie métabolique. Lorsque le Rat nouveau-né est mis à jeûn dès la naissance, l'oxydation hépatique des acides gras est très faible, car il ne possède pas de tissu adipeux et donc pas de réserves lipidiques mobilisables; la gluconéogenèse hépatique est réduite par rapport à celle des nouveau-nés allaités et qui reçoivent des acides gras par l'intermédiaire du lait. Chez le nouveau-né à jeûn les étapes limitantes sont les réactions catalysées par la pyruvate carboxylase et la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase. Ces inhibitions sont rapidement corrigées lorsqu'on administre des lipides par voie orale aux nouveau-nés à jeûn. L'inhibition de l'oxydation des acides gras, par l'injection d'acide penténoïque aux nouveau-nés allaités, reproduit les effets du jeûne sur ces deux étapes enzymatiques. Ces études montrent qu'*in vivo* l'oxydation hépatique des acides gras augmente le flux gluconogénique en fournissant l'acétyl CoA nécessaire à l'activation de la pyruvate carboxylase, et les équivalents réduits (NADH) indispensables pour déplacer la réaction d'équilibre catalysée par la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase dans la direction de la gluconéogenèse.

3) Développement des enzymes de la gluconéogenèse dans le foie du lapin

L'activité des 4 enzymes spécifiques de la gluconéogenèse a été mesurée dans le foie du fœtus (22 à 32 jours de gestation) et du nouveau-né (1 et 2 jours) nourri ou à jeûn. Entre 25 et 31 jours de gestation la fructose-diphosphatase et la PEPCK mitochondriale ont une activité qui est 50 % de celle de l'adulte, alors que la pyruvate carboxylase a une activité semblable à celle de l'adulte. La glucose-6-phosphatase a une activité faible; la PEPCK cytoplasmique est absente du foie fœtal jusqu'à 30 jours de gestation et elle se développe le jour précédant la naissance. L'activité de toutes ces enzymes augmente encore après la naissance, indépendamment de l'état nutritionnel (nourri ou à jeûn). Ces études montrent que, contrairement à d'autres espèces comme le rat, le lapin est déjà bien équipé pour effectuer une gluconéogenèse active *in utero* au moins un jour avant la naissance.

PUBLICATIONS

CALLIKAN S. et GIRARD J.R., *Perinatal development of gluconeogenic enzymes in the liver of the rabbit (Bioch. Soc. Transac., 1978, 6, 1314-1315).*

FERRE P., PEGORIER J.P., WILLIAMSON D.H. et GIRARD J.R., *Metabolic interactions between hepatic fatty acid oxidation and gluconeogenesis in the newborn rat (Bioch. Soc. Transac., 1978, 6, 1323-1324).*

FERRE P., PEGORIER J.P., WILLIAMSON D.H. et GIRARD J.R., *The development of ketogenesis at birth in the rat* (*Biochem. J.*, 1978, 176, 759-765).

PEGORIER J.P., FERRE P., LETURQUE A. et GIRARD J.R., *The metabolic effects of sodium dichloroacetate in the suckling newborn rat* (*Diabetologia*, 1978, 15, 459-463).

GIRARD J., PINTADO E. et FERRE P., *Fuel metabolism in the mammalian fetus* (*Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 1979, 19, 181-197).

GIRARD J. et PEGORIER J.P., *Régulation de la cétogenèse hépatique* (*Journées de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, Flammarion Médecine-Sciences*, Paris, 1979, p. 233-245).

GIRARD J.R., FERRE P., PEGORIER J.P., LETURQUE A. et CALLIKAN S., *Factors involved in the development of hypoglycemia in fasting newborn rats*. In : « *2nd European Symposium on Hypoglycemia* » (D. Andreani, P. Lefebvre et V. Marks, eds.), *Acad. Press*, 1979 (sous presse).

ACTIVITÉS DIVERSES

M. Alfred JOST a participé à la réunion de l'European Society for Pediatric Endocrinology à Athènes en septembre 1978. Il a fait des exposés aux réunions suivantes :

— « 4th Workshop on the development and maturation of the reproductive organs and functions » (Luynes, oct. 1978).

— Réunion sur « Ontogenetic influences of exogenous estrogens : experimental studies », organisée par le Département d'Obstétrique et de Gynécologie de la « Louisiana State University » à New Orleans, les 16-18 novembre 1978.

— « Southwestern Gynecologic Assembly » réunie à Dallas, Texas (7-9 déc. 1978), autour du thème « Human sexual Differentiation and Function ». A cette occasion il a aussi donné une conférence à l'Université du Texas à Dallas le 6 déc. 1978 sur le dépôt du glycogène dans le foie fœtal et son contrôle hormonal.

Il a été invité à donner une conférence à la réunion conjointe de la « Pediatric Society » et de la « Society for Pediatric Research », à l'occasion de l'Année internationale de l'Enfance, à Atlanta (1-3 mai 1979).

Il a aussi fait des exposés à la réunion « Endocrinologie du Développement » organisée par l'I.N.R.A. à Theix (Puy-de-Dôme) les 17 et 18 mai 1979 et au « International Symposium on Fetal Medicine » à Venise, juin 1979.

Il a aussi participé aux « Journées de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu » (mai 1979).

M. Alfred JOST a été élu membre de l'Académie des Sciences.

M. Jean GIRARD a été invité à faire des conférences aux réunions scientifiques suivantes :

— Séminaire « Prenatal Nutrition » organisé par l' « International Pediatric Association », Ankara (Turquie), (octobre 1978).

— Symposium européen sur l'hypoglycémie à Rome (Italie), (janvier 1979).

— Symposium sur « Fetal Development in the Infant of Diabetic Mother » organisé par la « Juvenile Diabetes Foundation », à Atlanta (U.S.A.), (février 1979).

Il a également participé aux réunions de la « Biochemical Society » (Oxford, septembre 1978) et de l'European Association for study of Diabetes (Zagreb, septembre 1978).

Il a été invité par la Société Canadienne de Nutrition à donner la conférence Hoffman La Roche 1979 (Québec, avril 1979). Dans le cadre de l'Année internationale de l'Enfance, il a été reçu comme professeur invité par l'Université de Colombie britannique (Vancouver, avril 1979).

Enfin, M. Jean GIRARD a reçu le prix Organon 1979 pour ses travaux sur le métabolisme énergétique au cours du développement.

M. Alain KERVRAN a été invité à donner un exposé aux « Journées de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu » à Paris, en mai 1979.

M. Soomant CALLIKAN a présenté ses résultats à la réunion de la Biochemical Society (Oxford, septembre 1978) et MM. Jacques PREPIN et Bernard VIGIER ont participé au « IVth Workshop on the development and maturation of the reproductive organs and functions » (18-20 octobre 1978 à Luynes).

M. Pascal FERRE a été nommé attaché de recherches au C.N.R.S. Il a reçu le prix Maurice-Uzan (1979) pour ses recherches sur le rôle des acides gras dans la régulation de la glycémie chez le rat nouveau-né.

THÈSES

M. Marc GILBERT a soutenu, en octobre 1978, sa thèse de Doctorat d'Etat intitulée : « *Etudes sur le métabolisme glucidique de la ratte gestante et de ses fœtus* » (Université Pierre et Marie Curie).

M^{lle} Martine GUILLAUME a soutenu sa thèse de Doctorat de 3^e cycle (Endocrinologie) intitulée : « *Effets d'un diabète maternel sur la maturation fonctionnelle du pancréas et la sécrétion d'hormone somatotrope du fœtus de rat* » (Université Pierre et Marie Curie, 31 mars 1979).



Le laboratoire a accueilli cette année les chercheurs étrangers suivants : le Professeur Frederick BATTAGLIA de l'Université du Colorado à Denver, en année sabbatique, et ses collaborateurs, John SPARKS et J. TAYLOR ; M^{lle} Leila EL MANOUBI (Tunisie) ; M. Soomant CALLIKAN (Ile Maurice) et M^{lle} Roxane AGELOPOULOU (Grèce).