

### Physiologie du développement

M. Alfred JOST, membre de l'Institut  
(Académie des Sciences), professeur

Le cours de cette année a été consacré à la différenciation du testicule et de certaines autres structures sexuelles. Des progrès récents rendent nécessaires un examen de l'état actuel de la question.

A côté des faits, une théorie émise par S. Wachtel et ses collaborateurs en 1975 et largement développée depuis par S. Ohno a suscité un grand nombre de travaux et de spéculations durant les cinq dernières années. Selon cette théorie, l'antigène d'histocompatibilité H-Y serait le produit codé par le gène de masculinisation des Mammifères, et induirait la différenciation des testicules ; chez les Vertébrés dont le sexe hétérogamétique est féminin, le même antigène H-Y encore appelé H-W serait responsable de la différenciation de l'ovaire.

Pour pouvoir formuler de manière précise une théorie faisant intervenir la molécule protéique (ou le complexe protéique) constituant l'antigène de surface H-Y dans la différenciation du testicule, il serait nécessaire de connaître les stades initiaux de la différenciation testiculaire et de déterminer quelles sont les premières cellules indifférenciées transformées dans le sens testiculaire.

\*  
\*\*

Or il est frappant de constater combien nos connaissances sont limitées en ce qui concerne les stades initiaux de la morphogenèse testiculaire. L'examen historique des techniques mises en œuvre et des interprétations successives émises depuis le début du XIX<sup>e</sup> siècle est fort instructif. En fait certains concepts ont été privilégiés depuis plusieurs décennies sans démonstration réelle ni vérification mettant en œuvre des moyens modernes précis.

L'analyse la plus rigoureuse des tout premiers stades de l'organogenèse testiculaire a été faite au Laboratoire sur le fœtus de rat, en microscopie

optique et électronique (Jost, 1972 ; Magre et Jost, 1980). Elle a été complétée par des cultures *in vitro*. Il est apparu que chez le fœtus de rat de 13 jours, la différenciation testiculaire est perceptible tout d'abord lorsque se différencient les premières cellules de Sertoli. L'agrégation de ces cellules aboutit à la morphogenèse des cordons séminifères. Les mécanismes aboutissant à la différenciation de ce nouveau type cellulaire dans l'ébauche sont encore inconnus ; il sera très important de les élucider puisqu'ils correspondent à la première expression du (ou des) gène(s) contrôlant la différenciation testiculaire. Dans le cas où l'antigène H-Y serait l'agent d'exécution, il conviendrait de rechercher son activité à ce niveau. Ceci n'a pas encore été fait. Il faudra aussi étudier les stades initiaux de la différenciation testiculaire dans d'autres espèces.

Dans l'analyse détaillée des processus qui président à l'apparition des premières cellules de type testiculaire, il y a sans doute lieu de tenir compte de l'origine, c'est-à-dire de l'histoire antérieure au cours du développement, des cellules du « blastème » dans lequel naissent les cordons testiculaires. Des travaux récents contradictoires ont fait revivre d'anciennes conceptions qui voyaient ces cellules provenir soit de structures déjà différenciées dans une autre voie dans le mésonéphros (Zamboni et collaborateurs, 1979, pour le mouton ; Upadhyay, 1979, pour la souris), soit de la surface de l'ébauche gonadique (Merchant, 1981, pour les Amphibiens). Peut-être l'emploi de marqueurs spécifiques permettra-t-il un jour de résoudre ces questions.

\*  
\*\*

Une deuxième partie du cours a été consacrée à l'état actuel de la théorie admettant que l'antigène H-Y est l'agent de la différenciation testiculaire chez les Mammifères (et les animaux à hétérogamétie mâle) ou des ovaires chez les Oiseaux (et les animaux à hétérogamétie femelle).

On a rappelé la découverte de l'antigène d'histocompatibilité H-Y, à la suite de greffes de peau chez la souris (Eichwald et Silmsner, 1955) et les méthodes de mise en évidence utilisées actuellement. Il s'agit généralement de techniques indirectes reposant sur l'emploi d'anticorps anti-H-Y préparés en injectant à la souris femelle des cellules spléniques de mâle syngénique. Cet anticorps lui-même est décelé grâce soit à des tests de cytotoxicité (sperme, cellules épidermiques), soit à des réactions immunologiques en cascade. Ces méthodes, dans l'état actuel, ne peuvent guère être considérées comme quantitatives. Ni la localisation chromosomique du gène codant pour l'antigène (on peut le faire apparaître sous l'influence des œstrogènes dans le sexe homogamétique des Oiseaux, Müller et collaborateurs, 1979), ni le polymorphisme ou le poly-allélisme de l'antigène ne sont des questions résolues.

Ohno et ses collaborateurs ont isolé l'antigène à partir du surnageant de cultures de cellules d'un lymphome de Burkitt, souche de Daudi, qui libère l'antigène dans le milieu de culture, au lieu de le retenir au niveau membranaire (déficit en  $\beta 2$  microglobuline, Fellous et collaborateurs, 1978). L'isolement a été réalisé grâce à la capacité des cellules ovariennes dissociées de fixer l'antigène H-Y. L'ensemble de ces recherches a conduit à attribuer à l'antigène un poids moléculaire de 18 000. D'autres auteurs, mettant en œuvre des techniques différentes trouvent un poids moléculaire un peu différent (Hall et Wachtel, 1980). Quoi qu'il en soit, en étudiant une souche mutante de cellules Daudi, Ohno et ses collaborateurs (1980) découvrent que l'antigène peut perdre sa capacité de se fixer aux « récepteurs » des cellules ovariennes (donc d'induire la différenciation testiculaire d'après la théorie) tout en conservant les sites immunologiquement décelables par les anticorps anti-H-Y. Une telle conception permet de donner une interprétation de certaines observations montrant la présence de l'antigène H-Y, décelable immunologiquement, chez des sujets porteurs d'ovaires. (Une autre interprétation suppose que la concentration en antigène H-Y au niveau de l'ébauche gonadique de l'embryon doit dépasser un seuil de concentration pour induire la différenciation testiculaire.) De telles complications du schéma initial sont devenues nécessaires pour que la théorie reste compatible avec diverses observations récentes.

Entre 1975 et 1977, une série d'observations confortaient la théorie, dans la mesure où il existait une concomitance entre la présence de l'antigène H-Y (cellules sanguines ou autres cellules) et celle de testicules : souris ou patients humains Tfm (féminisation testiculaire) ; souris XX, Sxr (sex reversed) ; mâles XX ; lemming des bois (*Myopus schisticolor*) porteur d'un X particulier supprimant à la fois l'expression de l'antigène H-Y et la formation de testicules, etc.

Ultérieurement, on a observé la présence d'antigène H-Y chez des femelles : chèvres femelles hétérozygotes pour le gène « polled » ; femmes, mères d'hommes XX ; jument XY féconde (Sharp et collaborateurs, 1980). Ces observations sont passibles d'interprétations théoriques citées plus haut.

La preuve cruciale du rôle de l'antigène H-Y nécessiterait deux sortes de démonstrations : 1) la présence de l'antigène H-Y dans l'ébauche gonadique au moment du début de la différenciation testiculaire ; cette preuve n'a pas encore été donnée ; 2) la preuve que l'ébauche ovarienne indifférenciée cultivée en présence d'antigène H-Y évolue en formant un testicule. Jusqu'ici les essais dans ce sens sont restés négatifs ou peu convaincants (Ohno et collaborateurs, 1979). On a aussi utilisé une technique différente dérivée des recherches de Moscona, à savoir la reconstitution d'une gonade *in vitro*, à partir de cellules gonadiques dissociées. Ainsi des cellules ovariennes cultivées en présence d'antigène H-Y auraient donné des réassociations de type testiculaire (Zenzen

et collaborateurs, 1978 ; Ohno et collaborateurs, 1979). Là encore les images fournies sont peu convaincantes.

On a réalisé des expériences similaires en cultivant des cellules dissociées de testicule de rat nouveau-né en présence d'anticorps anti-H-Y : en se réassociant les cellules formeraient des structures ovariennes (Zenzes et collaborateurs, 1978 ; Ohno et collaborateurs, 1978). Le résultat en question n'a pu être confirmé ultérieurement (Müller et Urban, 1981). Dans des expériences inédites faites au Laboratoire par Solange Magre, sur des cultures *in vitro* d'ébauches testiculaires indifférenciées en présence d'anticorps anti-H-Y monoclonaux (dons de G. Koo et de S. Wachtel), nous n'avons pas empêché la différenciation testiculaire.

L'expérimentation sur les Batraciens et les Oiseaux a apporté d'autres résultats difficilement conciliables avec la théorie initiale. Par exemple, la similitude des faits observés (inhibition ovarienne et éventuellement inversion sexuelle dans le sens femelle → mâle) dans le freemartinisme bovin (sexe mâle hétérogamétique) et dans le freemartinisme expérimental chez l'Axolotl et chez le *Xenopus* (sexe femelle hétérogamétique) n'est pas en accord avec la théorie (Jost, 1978, 1980). D'autre part, chez l'embryon de poulet génétiquement mâle (et homogamétique) l'oestradiol induit une inversion plus ou moins prononcée du sexe de la gonade et l'apparition de l'antigène X-Y.

De telles observations ont poussé les protagonistes de la théorie de l'antigène H-Y à admettre que cette théorie ne s'applique pas aux Vertébrés non mammaliens (Ohno, 1979 ; Wachtel et Bresler, 1980). Ces derniers auteurs admettent que chez les Vertébrés non mammaliens dits « inférieurs », l'antigène H-Y est induit par les hormones stéroïdes ; qu'ensuite il contrôlerait l'organogenèse gonadique. Cette nouvelle théorie se heurte naturellement à toutes les difficultés rencontrées de longue date par les conceptions qui faisaient jouer aux stéroïdes le rôle d'intermédiaires entre les gènes contrôlant le sexe de la gonade et l'expression de celui-ci. Même restreinte maintenant au cas des seuls Mammifères, la théorie de l'antigène H-Y comme premier agent d'exécution du contrôle génétique de la différenciation testiculaire, demande encore à être étayée par des preuves réelles avant de pouvoir être adoptée.

\*

\*\*

Dans la troisième partie du cours, on a étudié les modalités du développement de la prostate et de la mamelle de type masculin de la souris et du rat. En ce qui concerne le développement de la prostate, on savait depuis longtemps (cf. Jost, 1947) : 1) que le développement de la prostate dépend de l'androgène testiculaire ; 2) que l'androgène « marque » définitivement

le sinus urogénital, pour ce qui est de la production de bourgeons prostatiques, avant qu'aucune ébauche ne soit visible ; à partir d'un certain stade, l'organogenèse prostatique se poursuit en effet même si l'hormone mâle est supprimée ; 3) que les androgènes peuvent faire se différencier une prostate chez le fœtus femelle ; cependant ce processus de masculinisation n'est possible que pendant une phase précise et très limitée du développement (Jost, 1960). Toutes ces données ont été récemment confirmées dans des expériences de transplantation d'ébauches embryonnaires soit sous la capsule rénale de souris adultes (Cunha, 1973-1981) soit *in vitro* (Lasnitzki et Mizuno, 1977-1980). Ces recherches récentes ont le grand intérêt de montrer le rôle du mésenchyme du sinus urogénital embryonnaire qui induit la poussée de bourgeons prostatiques à partir de l'épithélium qui le surmonte, et peut agir de même sur divers épithéliums qui normalement n'auraient pas formé de prostate. De plus, le mésenchyme est le vrai « tissu récepteur » de l'hormone mâle, lors de la stimulation du développement prostatique par un androgène : en effet, la prostate ne se constitue pas si l'on associe un épithélium de type sauvage (+) avec un mésenchyme de sinus urogénital d'embryon portant le gène Tfm (gène responsable de l'absence de réponse aux androgènes, par suite de l'absence de la protéine cytosolique liant l'androgène, le « récepteur » cellulaire).

Des recherches similaires ont été faites au sujet du dimorphisme sexuel précoce de la glande mammaire de la souris et du rat. Dans ces espèces le bourgeon épidermique initial qui, chez la femelle, s'allonge et se ramifie, est, chez le mâle, rapidement coupé de la surface par le conjonctif voisin. Albert Raynaud et ses collaborateurs ont montré, à partir de 1947, que la morphogenèse de type mâle est imposée par l'hormone testiculaire et que la testostérone peut masculiniser les ébauches mammaires de la femelle. L'acétate de cyprotéron empêche cette masculinisation (Neumann, 1966). Les recherches de Kratochwil et Schwartz (1976) sur les ébauches mammaires de souris, cultivées *in vitro*, ont confirmé l'action des androgènes. De plus, en recombinaut après les avoir dissociés, l'épiderme et le mésenchyme mammaire de souris portant soit le gène de type sauvage (+), soit le gène Tfm, les auteurs montrent que l'androgène agit au niveau du mésenchyme. Cependant l'épithélium de la région mammaire est précocement déterminé comme épithélium mammaire. S'il est associé *in vitro* à du mésenchyme de glande salivaire, il subit une morphogenèse initiale de type salivaire, mais par la suite, sous contrôle hormonal approprié, il produira du lait (Sakakura et collaborateurs, 1976).

Les relations entre épithélium et mésenchyme, cruciales dans le développement de la prostate ou de la glande mammaire, semblent garder toute leur importance dans la physiologie de l'organe adulte. Enfin, revenant sur les faits analysés dans la première partie du cours, on peut se demander si dans

la formation initiale des cordons testiculaires les processus de différenciation épithéliale et sertolienne font aussi intervenir des relations épithélio-mésenchymateuses.

A. J.

## SÉMINAIRES

Les séminaires ont comporté la discussion de cinq problèmes au sujet desquels des spécialistes ont été appelés à résumer leurs expériences et leurs points de vue.

### 1) Développement du poumon

G.C. LIGGINS (Auckland, New Zealand) : Development of the lung.

J. BOURBON (Physiologie du Développement, Collège de France) : Métabolisme du glycogène dans le poumon fœtal.

### 2) Exemples de différenciation cellulaire

G. AILHAUD (Biochimie, Sciences, Nice) : Différenciation de la lignée préadipocytaire ob17 en adipocytes.

L. PICON (Université Paris VII) : Insuline et cellularité du tissu adipeux du rat.

B. CROIZAT (Biochimie Cellulaire, Collège de France) : Un nouvel inducteur de la différenciation du neuroblastome.

### 3) Différenciation des cellules corticosurrénales

J. SAEZ (U. 162, I.N.S.E.R.M., Lyon) : Régulation hormonale de la croissance et de la fonction surrénale *in vitro*.

C. FINAZ (U. 162, I.N.S.E.R.M., Lyon) : Un projet : hybridation de cellules testiculaires et surrénales : réponse à la stimulation par l'ACTH et les gonadostimulines.

P. DURAND (U. 162, I.N.S.E.R.M., Lyon) : Modifications biochimiques responsables de la maturation de la fonction corticosurrénale fœtale du mouton. Rôle de l'ACTH.

### 4) Cytosquelette, membrane et matrice externe

D. PAULIN (Institut Pasteur) : Expression des protéines du cytosquelette au cours de la différenciation.

J.P. THIERY (Institut d'Embryologie, Nogent-sur-Marne) : Mécanisme moléculaire de la migration et de l'agrégation des cellules de la crête neurale.

Y. COURTOIS (I.N.S.E.R.M., Paris) : Mécanisme d'action des facteurs de croissance permissifs.

### 5) *Acquisition de la polarité cellulaire*

D. LOUVARD (E.M.B.O., Heidelberg) : Mécanismes impliqués dans l'acquisition de la polarité des cellules épithéliales en culture.

Y. CROISILLE (Institut d'Embryologie, Nogent-sur-Marne) : Différenciation au sein du blastème rénal.

J. MAUCHAMP (Biochimie médicale, Marseille) : La polarisation cellulaire et l'expression d'une fonction : le problème thyroïdien.

### TRAVAUX DU LABORATOIRE

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

#### I. - *Développement de l'appareil génital et spécialement des gonades*

(R. AGELOPOULOU, A.M. BEVILACQUA, I. CHARTRAIN, C. GIBELLO, A. JOST, S. MAGRE, J. PRÉPIN avec la collaboration de J. HOFFBECK, O. LOCQUET, M. MAINGOURD, S. PERLMAN et O. VALENTINO).

#### a) *Développement du testicule*

Dans l'annuaire de l'an passé on a résumé l'essentiel des observations relatives au développement normal du testicule du fœtus de rat. Les recherches antérieures ont maintenant été publiées et on les a complétées grâce à de nouvelles observations et expériences.

Le fait que la formation initiale des cordons séminifères débute, au voisinage du mésonéphros, par la différenciation d'un type cellulaire nouveau, les cellules de Sertoli, et que ces cellules s'agrègent progressivement pour réaliser la morphogenèse des futurs tubes séminifères a été confirmé. *In vitro* le sérum de fœtus de veau (ou d'autres sérums) empêche plus ou moins complètement cette agrégation. L'étude en cours révèle qu'il y a lieu de distinguer : 1) la différenciation morphologique des cellules de Sertoli, qui en microscopie électronique, montrent, outre un cytoplasme abondant et peu

dense aux électrons, un réticulum granuleux formé de lames et de nombreuses vésicules remplies d'un contenu floconneux ; 2) la différenciation physiologique de ces cellules qui produisent le facteur inhibiteur des canaux de Müller ; 3) la morphogenèse des cordons séminifères.

En présence de sérum les deux premiers aspects de la différenciation ont lieu, le troisième étant à peu près totalement supprimé.

La séparation à partir de sérum de veau d'une fraction capable d'empêcher la morphogenèse des cordons séminifères a progressé. Les résultats en seront rapportés ultérieurement.

Un autre facteur de la différenciation testiculaire méritait d'être étudié, à savoir le rôle éventuel des cellules germinales primordiales. Pour ce faire, nous avons repris un protocole expérimental classique (destruction des cellules germinales par le Busulfan) en l'adaptant au problème. On a injecté une dose subtoxique de Busulfan à des rattes gestantes entre les jours 9 et 11 de la gestation et on a tout d'abord précisé qu'à 12 jours, c'est-à-dire avant que ne débute la différenciation testiculaire, la région gonadique (et d'ailleurs le reste du fœtus aussi) ne contient pas de cellule germinale primitive. On a vérifié aussi qu'il n'y a pas de cellules germinales à 12,5, à 13,5 et à 14 jours. Ce genre de vérification n'avait pas été fait jusqu'à présent.

Malgré l'absence de cellules germinales, chez les fœtus de sexe masculin les stades initiaux de la différenciation des cordons séminifères surviennent, tels qu'on peut les reconnaître au stade de 14 jours. Mais les gonades en question sont particulièrement petites. Il semble donc que les cellules germinales ne sont pas indispensables à la différenciation initiale des cordons séminifères, mais on ne peut exclure qu'elles favorisent le développement volumétrique de la gonade.

Ces recherches commencées lors du séjour du Professeur A. Fajer de Baltimore, seront publiées incessamment.

#### b) Méiose dans l'ovaire fœtal

On a poursuivi les recherches entreprises antérieurement en cultivant *in vitro* l'ovaire fœtal de rat (avec le mésonéphros adjacent). Les cellules germinales sont étudiées de deux manières, soit sur coupes histologiques (dénombrement des cellules germinales) soit après dissociation des cellules ovariennes et choc hypotonique permettant l'examen des chromosomes. On a comparé les premiers stades de la méiose tels qu'ils surviennent *in vivo*, en culture dans un milieu synthétique, ou en culture en présence de testicule fœtal de rat. Dans ces dernières conditions, le nombre des cellules germinales présentes dans l'ovaire est nettement diminué, ce qui résulte de plusieurs facteurs, en particulier d'une atteinte de la phase de multiplication et d'une

disparition des cellules germinales ayant atteint le stade zygotène. Le détail de ces résultats sera rapporté prochainement.

#### PUBLICATIONS

A. JOST, *Fetal sexual differentiation* (In : *Biomedical and Social Bases of Pediatrics*, Kretchmer & Brasel, eds., p. 39-48, Masson Inc., 1981).

A. JOST et S. MAGRE, *Un problème clé : la différenciation des gonades et spécialement celle des testicules* (*Ann. Endocrinol.*, 41, 303, 1980 [résumé]).

S. MAGRE, R. AGELOPOULOU et A. JOST, *Cellules de Sertoli et organogénèse du testicule fœtal* (*Ann. Endocrinol.*, 41, 531-537, 1980).

S. MAGRE et A. JOST, *The initial phases of testicular organogenesis in the rat. An electron microscopy study* (*Arch. Anat. microsc. Morphol. exp.*, 69, 297-318, 1980).

S. MAGRE, R. AGELOPOULOU et A. JOST, *Action du sérum de veau sur la différenciation in vitro ou le maintien des cordons séminifères du testicule du fœtus de rat* (*C.R. Acad. Sci. Paris*, 292, 85-89, 1981).

A. JOST, S. MAGRE et R. AGELOPOULOU, *Early stages of testicular differentiation in the rat* (Kroc Foundation Symposium on : *Errors of Sex Determination*, déc. 1980 ; *Human Genet.*, 58, 59-63, 1981).

S. MAGRE, R. AGELOPOULOU, A. JOST et O. LOCQUET, *Influence du sérum de fœtus de veau sur la différenciation du testicule fœtal de rat in vitro* (*Biology of the cell*, 41, 15 a, 1981 [résumé]).

## II. - Régulation de la sécrétion d'insuline et d'hormone somatotrope (A. KERVRAN et M. RIEUTORT).

### a) Insuline

On a poursuivi l'analyse *in vitro* de la maturation fonctionnelle de la cellule  $\beta$  du pancréas en précisant les modalités du développement du type de sécrétion biphasique d'insuline en réponse à une hyperglycémie. Alors que la première phase est établie d'une manière caractéristique dès la fin de la vie fœtale, l'amplitude de la deuxième phase ne devient semblable à celle de l'adulte qu'à la fin de la première semaine postnatale.

Nous avons aussi entrepris en collaboration avec le Professeur R. Assan une expérimentation *in vitro* destinée à vérifier si, conformément à une

hypothèse récente, le sérum de sujet diabétique inhibe la sécrétion d'insuline par des îlots isolés.

b) *Somatostatine et hormone de croissance*

On avait constaté antérieurement que la somatostatine n'inhibe pas la sécrétion d'hormone de croissance par l'hypophyse du fœtus de rat ; cette inhibition ne peut être obtenue qu'à partir de l'âge de 3 à 4 jours après la naissance.

Dans une étude en cours, en collaboration avec A. Enjalbert, J. Epelbaum et L. Tapia Arancibia, on a étudié la liaison spécifique de la somatostatine aux protéines hypophysaires. Le nombre de sites par mg de protéine, très faible à la naissance, augmente nettement entre 3 et 7 jours après la naissance.

PUBLICATIONS

A. KERVRAN, J. RANDON et A. JOST, *Development of insulin release by the pancreas of the rat fetus : in vivo and in vitro studies* (In : *Fetal Growth Retardation*, Van Assche & Robertson, eds., Churchill Livingstone, Edinburgh, 1981, sous presse).

M. RIEUTORT, *Ontogenic development of the inhibition of growth hormone release by somatostatin in the rat : in vivo and in vitro (perifusion) study* (*J. Endocrinol.*, 89, 1981).

III. - *Métabolisme du poumon fœtal* (J. BOURBON).

Le poumon fœtal accumule du glycogène (dans les cellules épithéliales) pendant une période déterminée de la gestation puis le dégrade peu avant la naissance. On a déjà indiqué antérieurement que la disparition du glycogène semble bien relever de deux processus : d'une part, activation de la phosphorylase (sans doute aidée par l'hormone de croissance), d'autre part, une augmentation de l'activité d'une enzyme lysosomiale, l'amyloglucosidase acide (en relation avec les corticostéroïdes).

On a entrepris des recherches destinées à vérifier si le glycogène est utilisé pour réaliser la synthèse du surfactant : marquage par le  $^{14}\text{C}$  du glycogène *in vivo* (à 18,5 jours), puis synthèse de phospholipides *in vitro* pendant 48 heures. Le glycogène apparaît bien comme un précurseur des phospholipides du surfactant.

PUBLICATION

J. BOURBON et A. JOST, *Control of glycogen metabolism in the developing fetal lung (Pediat. Res., sous presse).*

IV. - *Métabolisme énergétique du nouveau-né* (P. DUÉE, L. EL MANOUBI, P. FERRÉ, J. GIRARD, P. SATABIN, P. TURLAN).

Les recherches sur les hépatocytes isolés de rat et de lapin ont été poursuivies en étudiant plus particulièrement trois aspects :

1) Les interactions acides-gras-gluconéogénèse.

Les études effectuées sur les hépatocytes de rat et de lapin ont montré qu'une oxydation active d'acides gras est absolument nécessaire au maintien d'une activité gluconéogénétique normale.

2) Le rôle respectif de la phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK) mitochondriale et cytoplasmique dans la régulation de la gluconéogénèse chez le lapin nouveau-né.

Pendant presque toute la vie fœtale seule la forme mitochondriale de la PEPCK est présente dans le foie du lapin. La forme cytoplasmique apparaît dans le foie la veille de la naissance et son activité augmente considérablement pendant les 2 premiers jours de la vie postnatale. Afin de déterminer l'importance relative de la PEPCK cytoplasmique ou mitochondriale, nous avons étudié les effets de différents inhibiteurs du flux de carbones à travers la PEPCK cytoplasmique (quinolinate, aminooxyacétate) sur les hépatocytes isolés de lapins incubés en présence de lactate (10 mM). Ces études ont montré qu'une gluconéogénèse basale peut être assurée par la seule PEPCK mitochondriale mais que l'augmentation considérable de la gluconéogénèse après la naissance nécessite l'utilisation de la PEPCK cytoplasmique.

3) Régulation de la cétogénèse dans les hépatocytes isolés du lapin nouveau-né.

Ces études montrent que la cétogénèse à partir des lipides endogènes ou exogènes est très faible dans les hépatocytes isolés de fœtus de lapin et qu'elle augmente considérablement après la naissance. Chez le lapin les corps cétoniques sont essentiellement synthétisés à partir des acides gras libérés par l'hydrolyse des triglycérides intra-hépatiques. L'inhibition de la trigly-

céride lipase hépatique par la glycodiazine supprime complètement la céto-génèse hépatique. Des résultats préliminaires suggèrent que cette lipase est localisée dans les lysosomes.

#### PUBLICATIONS

J.R. GIRARD, *Influence of nutrients in metabolic adaptation of the newborn* (In : *Child Health Strategies*, R.S. Tonkin, ed., p. 27-36, Alpin Press, Vancouver, 1980).

S. CALLIKAN, P. FERRE, L. EL MANOUBI et J.R. GIRARD, *Interactions between gluconeogenesis and NEFA oxidation in hepatocytes from 1 day-old rats* (*Biochem. Soc. Transaction*, 8, 24, 1980).

P. FERRE, P. TURLAN et J.R. GIRARD, *Glucose turnover and glucose-lactate interrelations in the newborn rat* (*J. Develop. Physiol.*, 2, 373-387, 1980).

P. FERRE, S. CALLIKAN et J.R. GIRARD, *Développement et régulation de la gluconéogenèse chez le rat et chez l'enfant nouveau-né* (In : *Aspects de la Biologie du Développement*, A. Minkowski, ed., p. 106-117, Flammarion, Paris, 1981).

P. FERRE, J.P. PEGORIER, S. CALLIKAN, A. LETURQUE et J.R. GIRARD, *Factors affecting glucose metabolism in the newborn rat* (In : *Metabolic Adaptation to Extrauterine Life*, R. De Meyer, ed., p. 133-143, Martinus Nijhoff, The Hague, 1981).

J.R. GIRARD, J.P. PEGORIER, A. LETURQUE et P. FERRÉ, *Glucose homeostasis in the newborn rat* (In : *Physiological and Biochemical Basis for Perinatal Medicine*, M. Monset-Couchard & A. Minkowski, eds., p. 90-96, Karger, Basle, 1981).

J.R. GIRARD, *Fuel homeostasis during the perinatal period* (In : *Biology of Normal Human Growth*, M. Ritzen & A. Larsson, eds., p. 193-202, Raven Press, New York, 1981).

L. EL MANOUBI, P. FERRE et J.R. GIRARD, *Development of ketogenesis in the newborn rabbit : temporal studies in isolated hepatocytes* (*Biochem. Soc. Transaction*, 9, 53-54, 1981).

J.R. GIRARD, P. FERRE, L. EL MANOUBI et J.P. PEGORIER, *Ketone-body metabolism during the neonatal period* (*Biochem. Soc. Transaction*, 9, 344-345, 1981).

J.P. PEGORIER, A. LETURQUE, P. TURLAN, P. FERRE et J.R. GIRARD, *Effects of medium chain triglycerides in starved newborn rats* (*Pediat. Res.*, sous presse).

V. - *Métabolisme maternel au cours de la gestation et de la lactation*  
(A.F. BURNOL, P. FERRÉ, J. GIRARD, A. LETURQUE, P. SATABIN).

Les recherches ont été poursuivies en étudiant plus particulièrement deux aspects :

1) Résistance à l'insuline pendant la gestation

La sensibilité à l'insuline du muscle *soleus* de rattes vierges ou gestantes (19 jours de gestation) a été étudiée *in vitro*. Pour les différentes concentrations d'insuline étudiées (25 à 1 000  $\mu\text{U}/\text{ml}$ ), la stimulation du transport et du métabolisme (glycolyse et synthèse de glycogène) était identique chez les rattes vierges et les rattes gestantes. La résistance à l'insuline observée *in vivo* pendant la gestation ne semble donc pas résulter d'un défaut intrinsèque du métabolisme musculaire de glucose mais de la présence dans le plasma d'antagonistes de l'insuline (progestérone, hormone lactogène placentaire, corticostéroïdes). Des recherches sont en cours pour essayer de déterminer lequel de ces facteurs est responsable de la diminution de la sensibilité à l'insuline pendant la gestation.

2) Utilisation du glucose pendant la lactation

La lactation est une période durant laquelle les besoins énergétiques de la femelle sont augmentés de façon considérable. Avec l'aliment utilisé, la prise alimentaire journalière passe de 16 g/jour en fin de gestation à 40 g/jour dès le 2<sup>e</sup> jour de la lactation. Comme le glucose est le précurseur probable du lactose et des lipides synthétisés par la glande mammaire, nous avons étudié le métabolisme du glucose chez la ratte en pleine période de lactation (12 jours après la mise bas). Les rattes allaitantes ont une glycémie plus faible que les rattes non-allaitantes ( $4,2 \pm 0,8$  mM contre  $5,2 \pm 0,3$  mM). Le test de tolérance au glucose montre une accélération considérable de l'utilisation du glucose chez la ratte allaitante. Le coefficient d'utilisation du glucose est augmenté d'environ 2 fois. Le renouvellement du glucose mesuré en état stationnaire à l'aide de glucose  $6\text{-}^3\text{H}$  est multiplié par 2 chez la ratte allaitante en période postabsorptive ( $20 \pm 3$   $\mu\text{mol}/\text{min}$  contre  $10 \pm 1$   $\mu\text{mol}/\text{min}$  chez la ratte non allaitante). La clairance métabolique du glucose est aussi augmentée de 240 % chez les rattes allaitantes. L'utilisation massive de glucose par la glande mammaire pendant la lactation est donc compensée en partie par une augmentation de la production hépatique de glucose. Les facteurs hormonaux ou métaboliques responsables de l'augmentation de la production de glucose sont en cours d'étude.

PUBLICATIONS

N. FREUND, A. KERVRAN, R. ASSAN, J.P. GELOSO et J.R. GIRARD, *Fetal metabolic response to phloridzin-induced hypoglycemia in pregnant rats* (*Biol. Neonate*, 38, 321-327, 1980).

A. LETURQUE, P. FERRE, P. SATABIN, A. KERVRAN et J.R. GIRARD, *In vivo insulin resistance during pregnancy in the rat* (*Diabetologia*, 19, 524-528, 1980).

A. LETURQUE, P. SATABIN, P. FERRE et J.R. GIRARD, *Résistance à l'insuline pendant la gestation* (*Ann. Endocrinol.*, 41, 573-578, 1980).

A. LETURQUE, M. GILBERT et J.R. GIRARD, *Glucose turnover during pregnancy in anaesthetized post-absorptive rats* (*Biochem. J.*, 196, 633-636, 1981).

ACTIVITÉS DIVERSES

M. Alfred JOST a été invité à prononcer la « Gregory Pincus Memorial Lecture » à la Worcester Foundation for experimental Biology, à Worcester (Mass., U.S.A.) (octobre 1980) ; il a reçu une médaille commémorative. Il a aussi été invité à donner la « Sandoz Lecture » lors de la réunion de l'American Fertility Society, à Atlanta (Georgia, U.S.A.) (mars 1981). Il a participé au Symposium « Errors of Sex Determination », organisé par la Kroc Foundation à Santa Inez Valley (Californie, U.S.A.) (décembre 1980).

M. Jean GIRARD a été invité à faire des exposés aux réunions suivantes : Symposium sur « Intrauterine Development : Physiology & Pathology » (Madrid, septembre 1980) ; Congrès Français d'Endocrinologie (Montpellier, septembre 1980) ; Journées Rhône-Alpes de Biologie du Développement (Lyon, décembre 1980) ; Colloque de la Biochemical Society sur « The Regulation of Ketone Body Metabolism » (Londres, décembre 1980) ; Symposium CIBA sur « The Fetus & Independent Life » (Londres, avril 1981) ; Postgraduate Course on Perinatal Biochemistry (Madrid, juin 1981). Il a été reçu comme « Visiting Professor » à l'Université de Colorado à Denver (U.S.A.) en mai et juin 1981. Il a été nommé chargé de mission auprès de la direction scientifique des Sciences de la Vie du C.N.R.S. en octobre 1980.

M<sup>lle</sup> Solange MAGRE, Maître Assistant au Collège de France, a participé à une table ronde sur la différenciation du sexe au Premier Congrès Français d'Endocrinologie ; elle a présenté de nouveaux résultats au Colloque de la Société Française de Microscopie Electronique. (mai 1981).

M. Jacques BOURBON a effectué un stage de trois mois dans le laboratoire du Professeur Philip M. Farrell, Department of Pediatrics, University of Wisconsin, Madison, U.S.A. (septembre-novembre 1980). Il a participé à la Réunion sur le poumon organisée par le Professeur A. Minkowski (mai 1981).

M. Pascal FERRÉ a été invité à faire une conférence aux Journées Rhône-Alpes de Biologie du Développement (Lyon, décembre 1980).

M. Marc GILBERT a passé l'année scolaire dans le laboratoire du Professeur Frederick Battaglia, à l'Université de Denver (Colorado, U.S.A.).

M. Alain KERVRAN a participé au Symposium « Fetal Growth, Fetal Growth Retardation » (Louvain, Belgique, octobre 1980).

M<sup>lles</sup> Armelle LETURQUE et Leila EL MANOUBI et M. Pascal FERRÉ ont présenté leurs résultats à la réunion annuelle de la Biochemical Society (Londres, décembre 1980) et de l'Association Européenne pour l'étude du diabète (Athènes, septembre 1980).

M. Jacques PRÉPIN a été invité pour un séjour de trois semaines (juin-juillet 1980) dans le Département de Physiologie de l'Université du Maryland (U.S.A.) (Professeur Abram Fajer).

#### CHERCHEURS ÉTRANGERS

Le Dr Roxane AGELOPOULOU de l'Université d'Athènes et M<sup>lle</sup> Leila EL MANOUBI de Tunis ont passé l'année au Laboratoire.

Le Dr Fernando ESCRIVA PONS, de l'Université de Madrid, a fait un stage de 3 mois au Laboratoire.

#### THÈSES

M. Pascal FERRÉ a soutenu en février 1981, sa thèse de Doctorat d'Etat intitulée : *La gluconéogenèse pendant la période néonatale chez le rat : son importance quantitative et le rôle régulateur des acides gras* (Université Paris VI).

M<sup>lle</sup> Leila EL MANOUBI a soutenu en mai 1981, sa thèse de Doctorat de 3<sup>e</sup> cycle (Endocrinologie) intitulée : *Développement et régulation de la gluconéogenèse et de la céto-genèse dans les hépatocytes isolés de rat et de lapin* (Université Paris VI).