

## Physiologie du développement

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

Le titre proposé pour le cours de cette année, était : « Le contrôle endocrinien du développement de l'appareil génital et des autres caractéristiques sexuelles (état actuel de la question) ». Il n'était pas possible de reprendre l'ensemble des problèmes, mais seulement de placer dans leur contexte quelques progrès récents.

Il est connu depuis fort longtemps, en particulier à la suite des recherches faites sur le fœtus de lapin par l'auteur du cours, que la différenciation de l'appareil génital du fœtus mâle est réalisée sous le contrôle de deux types de sécrétions testiculaires, d'une part le facteur inhibiteur des canaux de Müller (appelé Anti-Müllerian Hormone par N. Josso) et d'autre part des androgènes.

Les modalités de la régression des canaux de Müller ont été étudiées chez l'embryon de poulet et chez divers Mammifères. L'interprétation des travaux concernant les Oiseaux est parfois délicate car on n'a pas toujours distingué l'agénésie des canaux survenant dans certains cas (Gaarenstroom, Stoll), d'une involution survenant après leur mise en place. De même on n'a pas toujours tenu compte suffisamment des modalités différentes de l'action *in vitro* soit du testicule embryonnaire, soit des androgènes synthétiques. En ce qui concerne l'embryon des Oiseaux, la question mériterait d'être reprise en mettant à profit les possibilités expérimentales modernes, ce qui ferait certainement disparaître certaines des contradictions de la littérature.

Les études ont au contraire, progressé beaucoup plus en ce qui concerne l'embryon des Mammifères. A la suite des expériences *in vivo* (Jost, 1947-1955), J.P. Weniger (1962) réalisait *in vitro* l'inhibition du canal de Müller de l'embryon de souris par le testicule fœtal. C'est le test *in vitro*, utilisant le canal de Müller du fœtus de rat de 14 jours et demi et mis au point en 1969 par Régine Picon, qui allait permettre des progrès décisifs ultérieurs, en particulier, ceux réalisés par le D<sup>r</sup> Nathalie Josso avec ses collaborateurs (Jean-

Yves Picard et récemment Bernard Vigier). M<sup>me</sup> Josso a tout d'abord démontré que l'hormone anti-müllérienne est produite par les cellules de Sertoli. Les étapes successives de sa purification ont été ardues mais menées de manière parfaitement logique. En 1972, N. Josso, a indiqué, en utilisant des filtres, que l'hormone est une grosse molécule ou qu'elle est liée à une telle molécule. Puis venait la démonstration qu'il s'agit sans doute d'une protéine et que celle-ci peut être concentrée par filtration sur colonnes de gels. Or les poids moléculaires estimés soit par ultra-centrifugation, soit sur colonne de gel d'agarose présentaient des différences suggérant au spécialiste qu'un tel comportement pourrait être dû à une constitution glycoprotéique (Josso et collaborateurs, 1977). L'incorporation de fucose marqué, et l'emploi de lectines devaient permettre successivement de réaliser une concentration plus poussée, d'obtenir un anticorps monoclonal (Vigier et collaborateurs) et enfin de réaliser des colonnes d'immuno-affinité sur lesquelles l'hormone a pu être retenue, puis libérée pure. Le résultat de novembre 1981 apporte la preuve définitive de la production par le testicule fœtal d'un facteur particulier inhibant les canaux de Müller, il ouvre aussi la porte à une série de recherches que l'on peut prévoir fructueuses.

\*  
\*\*

On a décrit ces années dernières un nouveau type de pseudo-hermaphroditisme masculin, tout d'abord chez le rat « Vet » (= vestigial testes) (Stanley, Bardin et d'autres, 1973), puis chez l'homme (Berthezene et collaborateurs, 1976 ; Schwartz et collaborateurs, 1981) qui semble résulter de l'« agénésie » des cellules de Leydig. L'absence de masculinisation s'accompagne de l'absence des voies müllériennes (l'hormone anti-müllérienne a été sécrétée) et d'une élévation du taux plasmatique de LH.

De tels cas viennent à nouveau soulever la question du mode de différenciation des cellules de Leydig. Certains auteurs ont pensé que les gonadostimulines pourraient jouer un rôle dans leur formation. Des expériences anciennes suggérant que la différenciation initiale des cellules de Leydig ne nécessite pas de stimulation hypophysaire, ont été étayées par une expérimentation récente portant sur plusieurs espèces animales. La question a été abordée de plusieurs manières : on a essayé de stimuler la stéroïdogenèse dans le testicule fœtal *in vitro* par une hormone gonadostimulante 12 heures (rat) ou plusieurs jours (cobaye) avant son démarrage normal. L'expérience est négative. On a d'autre part, vérifié que le testicule isolé précocement *in vitro* acquiert la capacité de synthétiser de la testostérone et de différencier des cellules de Leydig (lapin, rat, cobaye). Il faudra donc, selon toute vraisemblance, chercher dans les corrélations intra-testiculaires les mécanismes aboutissant à la différenciation de ce type cellulaire.

\*  
\*\*

Dans les stades ultérieurs du développement, l'hypophyse stimule la production de l'hormone mâle, comme l'ont confirmé des expériences faites dans diverses espèces animales et utilisant des dosages radio-immunologiques. A partir d'un stade donné, s'établissent également les relations de rétroaction (feedback) entre le complexe hypothalamo-hypophysaire et le testicule. Ce point est particulièrement important dans la physiologie de l'hypophyse fœtale, puisqu'il se traduit par une différence dans le taux de sécrétion de LH entre les fœtus mâles et les fœtus femelles, au moins à certains stades du développement. Les premiers résultats rapportés par Madame Levina (1963) montrant, à l'aide de tests biologiques difficiles à mettre en œuvre, que le fœtus humain mâle produit moins de LH que le fœtus féminin, ont été confirmés à l'aide de dosages radioimmunologiques dans diverses espèces (fœtus humain, rat, souris, lapin, etc.). De même la première indication de Kuznetsova (1970) signalant que l'injection de testostérone diminue la production de LH par l'hypophyse du fœtus de rat femelle a été précisée et confirmée (R. Picon, 1981). De même, l'administration à la lapine pleine d'un anticorps anti-testostérone empêche la masculinisation de l'appareil génital des fœtus mâles et augmente énormément la teneur en testostérone (liée) dans le plasma, probablement à la suite d'une surproduction de LH (Bidlingmaier, 1977 ; Veysiere, 1978).

Il apparaît ainsi que le système hypothalamo-hypophysaire devient très tôt un caractère sexuel contrôlé par le testicule. Le détail des relations entre l'hypophyse et l'hypothalamus du fœtus demande encore à être mieux précisé. Ainsi, chez le fœtus de rat, Chiappa et Fink (1977) ont mis LH-RH en évidence à un stade précoce, sans cependant observer de différence entre les deux sexes, malgré la différence dans le taux de sécrétion de LH.

\*  
\*\*

Certaines parties du système nerveux sont, elles aussi, contrôlées par les hormones sexuelles, dès la vie fœtale dans certaines espèces et peu après la naissance dans d'autres. Les études ont beaucoup progressé depuis les travaux des pionniers dans ce domaine. On sait depuis C. Pfeiffer (1935-1936) que le type mâle de fonctionnement de l'hypophyse antérieure du rat (continu au lieu d'être cyclique comme chez la femelle) est imposé dès la naissance et pour la vie par l'hormone testiculaire, et l'on sait aussi qu'en fait cette action hormonale s'exerce surtout sur l'hypothalamus (et peu sur l'hypophyse), depuis les recherches de G. Harris et de C.A. Barraclough entre autres, dans les années cinquante. On a aussi appris en 1959 que le comportement sexuel du cobaye femelle adulte est profondément affecté si l'animal a subi l'action des androgènes au moment où il était encore un fœtus, vers le milieu de la gestation (C.H. Phoenix, R.W. Goy, A.A. Gerall et W. Young, 1959). Le rat est l'espèce animale la plus étudiée. En comparant des mâles castrés à la naissance ou des mâles castrés et injectés de testostérone

à la naissance, ou des femelles normales ou traitées par la testostérone à la naissance, on a bien mis en évidence trois sortes d'influences du testicule néonatal sur le fonctionnement du système nerveux adulte : suppression de la sécrétion cyclique de LH, suppression plus ou moins complète du réflexe de lordose, facilitation du comportement masculin de saillie de la femelle. Les deux premiers éléments consistent en une « déféminisation », le système nerveux suivant à ce point de vue, comme les autres caractéristiques sexuelles, un programme de base féminin si celui-ci n'est pas contrecarré par les hormones testiculaires. Or la « déféminisation » nerveuse comme la « masculinisation » du comportement sont, chez le rat produites non par la testostérone elle-même, mais par des œstrogènes produits, par une aromatisation de l'androgène, dans le système nerveux du nouveau-né lui-même (Ryan, Naftolin et d'autres). La dihydrotestostérone — non aromatisable *in vivo* — n'a donc pas le même effet que la testostérone. Cependant, chez le rat mâle castré à la naissance l'injection simultanée d'œstradiol et de dihydrotestostérone permet, lorsque le rat devient adulte, une meilleure expression du comportement mâle, sans doute parce qu'elle assure une meilleure réponse hormonale du pénis adulte (Beach). On admet donc que dans la régulation néonatale du comportement sexuel du rat mâle la testostérone intervient en subissant deux sortes de métabolismes différents : conversion en œstrogènes au niveau central, conversion en dihydrotestostérone au niveau périphérique.

Il existe dans l'hypothalamus des sites de liaison (« récepteurs ») des œstrogènes ou des androgènes dès les jours qui précèdent la naissance et l'on s'est demandé si le testicule du fœtus de rat modifiait le système nerveux déjà avant la naissance. La réponse ne semble pas encore claire, mais les données de Roffi et Corbier (1981) établissent que durant les toutes premières heures suivant la naissance une décharge de testostérone agit sur le système nerveux.

Aux modifications fonctionnelles du système nerveux établies pour la vie, pendant une période critique du développement, correspondent sans doute des modifications de la structure. Parmi celles qui ont été découvertes, les plus faciles à voir sont celles qu'a mises en évidence R. Gorski (1978) dans l'aire préoptique médiane. Il est d'ailleurs fort intéressant que des différences sexuelles similaires aient été découvertes chez certains Oiseaux au niveau des centres contrôlant le chant, lui même fort différent dans les deux sexes (par ex. Nottebohm et Arnold, 1976).

Si l'on a approfondi l'analyse de l'action des hormones sur le développement du système nerveux durant une phase critique surtout chez le rat, en fait d'autres espèces animales ont également été l'objet d'études importantes et ont laissé apparaître de grandes différences entre espèces. Ainsi chez certains animaux (lapin, cobaye), il semble que la dihydrotestostérone, et non un œstrogène, soit le métabolite favorisant le comportement masculin.

D'autre part, si chez le mouton la sécrétion de LH en réponse à un stimulus œstrogénique, caractéristique du sexe féminin, est totalement supprimée par une action androgénique prénatale (Short), il n'en est pas ainsi chez le macaque Rhesus, ni dans l'espèce humaine.

De même, si chez le hamster ou le cobaye l'androgénisation pendant une période critique du développement influence très profondément le comportement de l'adulte, les effets sont moins prononcés chez le singe. Dans certaines espèces sociales, les phénomènes sociaux de dominance jouent un grand rôle et peuvent modifier profondément les sécrétions d'hormones hypophysaires ou sexuelles dans les deux sexes, le comportement et même l'aptitude à la reproduction.

Il est sûr que les faits découverts chez les rongeurs sont du plus grand intérêt, mais ils ne doivent pas être généralisés autrement que comme des modèles très utiles pour guider l'étude d'autres espèces animales.

A. J.

#### SÉMINAIRES

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

##### 1) *ACTH et pro-opio-cortine*

C. JONES (Nuffield Institute for Medical Research, Oxford) : Physiology of ACTH in the sheep fetus.

X. BERTAGNA (Hôpital Cochin, Paris) : La pro-opio-cortine et ses fragments peptidiques : étude en pathologie humaine.

##### 2) *Physiologie de l'hépatocyte fœtal ou néonatal*

A. HUSSON (Université de Rouen) : Régulation hormonale de l'activité des enzymes du cycle de l'urée dans les hépatocytes du fœtus de rat, en culture.

J.P. PEGORIER (Centre de Recherches sur la Nutrition du C.N.R.S.) : Développement et régulation de la gluconéogenèse dans les hépatocytes isolés du porcelet.

P.H. DUÉE (Collège de France) : Développement et régulation de la gluconéogenèse dans les hépatocytes isolés de lapin.

P. SABATIN (Collège de France) : Développement de la cétogenèse dans les hépatocytes isolés de rats nouveau-nés.

### 3) *Température et différenciation du sexe*

J. BERGERARD (Université Paris-Sud, Orsay) : Température et différenciation du sexe : Insectes.

C. DOURNON (Université Pierre et Marie Curie) : id. : Amphibiens.

C. PIEAU (I.R.B.M., Paris VII) : id. Reptiles.

### 4) *Calcium et physiologie cellulaire*

J. DEMAILLE (C.N.R.S. et I.N.S.E.R.M., Montpellier) : La calmoduline.

A. DELORME (U. 120 I.N.S.E.R.M., Métabolisme hydro-minéral) : Protéine liant le calcium vitamine D dépendante.

E. CORABŒUF (Université Paris-Sud, Orsay) : Calcium et conductance membranaire.

## 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, I. CHARTRAIN, J. HOFFBECK, A. JOST, S. KOIKE, O. LOQUET, S. MAGRE, M. MAINGOURD, E. PATSAVOUDIS, S. PERLMAN, J. PRÉPIN, M. SOLVAR et O. VALENTINO).

#### a) *Développement du testicule*

L'étude de la différenciation testiculaire du fœtus de rat a été poursuivie *in vitro*. On a utilisé l'observation antérieure selon laquelle la présence de sérum de fœtus de veau dans le milieu de culture perturbe la morphogenèse du testicule (les cellules de Sertoli se différencient en effet morphologiquement, mais ne s'associent pas pour former les cordons séminifères). On a

vérifié qu'il apparaît bien dans ces conditions des cellules de Sertoli dans les gonades sans cordons séminifères, puisque ces gonades sont capables d'inhiber les canaux de Müller ; on sait que l'hormone anti-Müllérienne est produite par les cellules de Sertoli.

La microscopie électronique a été utilisée pour préciser les effets du sérum sur les testicules cultivés *in vitro*. En l'absence de sérum (milieu synthétique), les cordons séminifères nettement individualisés sont délimités par une membrane basale caractéristique. Cette membrane sépare les cellules de Sertoli des cellules situées entre les cordons séminifères et dont le cytoplasme est peu abondant et sombre. En présence de sérum, la membrane basale est presque totalement absente, les cellules de Sertoli plus ou moins dispersées sont au contact des cellules sombres semblables à celles qui sont extérieures aux cordons séminifères dans les cultures sans sérum. Ce travail se poursuit actuellement en utilisant des méthodes immuno-histochimiques.

Les tentatives de séparation du facteur sérique capable d'empêcher la morphogénèse testiculaire dans les cultures *in vitro*, ont été poursuivies. Divers procédés permettent de séparer des fractions actives, mais l'identification du ou des facteur(s) en cause reste à faire.

Une étape plus tardive de la différenciation testiculaire est la différenciation des cellules de Leydig. On a étudié ce processus dans les testicules cultivés *in vitro* par la méthode histochimique ( $\Delta^5$ -3  $\beta$  hydroxy-stéroïde deshydrogénase) et le dosage de la testostérone dans le milieu de culture. Le but est de comparer la stéroïdogénèse dans les gonades dont la morphogénèse est soit normale soit perturbée par le sérum. Ces recherches sont en cours.

Dans d'autres recherches, faites par S. Koike qui a passé l'année au Laboratoire, on a tenté de préciser à partir de quel stade, le testicule fœtal de lapin produit le facteur inhibiteur du canal de Müller, avant même le développement complet de ce canal.

b) *Cellules germinales et méiose dans l'ovaire fœtal in vitro* (J. PRÉPIN et C. GIBELLO)

Dans l'ovaire du fœtus de rat en culture *in vitro* et en milieu anormal le nombre des cellules germinales augmente entre les stades 13 et 17 jours, puis diminue à l'époque où ces cellules entrent en méiose. Cette évolution ressemble à celle qui est observée *in vivo*, mais *in vitro* la diminution survient un jour plus tôt qu'*in vivo*. D'autre part, *in vitro*, l'entrée en méiose est désynchronisée. Dans des ovaires de fœtus de rat cultivés au voisinage de testicules, le nombre des cellules germinales est nettement plus faible que dans les cultures témoin, mais les cellules germinales qui survivent entrent progressivement en méiose. Cet effet fait l'objet des études actuelles.

PUBLICATIONS

A. JOST, S. MAGRE, R. AGELOPOULOU et I. CHARTRAIN, *Aspects of gonadal differentiation in mammals*. In : *The genetic control of gamete production and function*, Sereno Symposia, Vienne (octobre 1981).

S. MAGRE, A. JOST et O. VALENTINO, *Morphogenèse testiculaire in vitro et différenciation fonctionnelle des cellules de Sertoli. Influence du sérum de fœtus de veau (résumé)*. Colloque International Franco-Québécois sur l'Ontogénèse du Système Endocrinien, Lyon.

II. - *Régulation de la sécrétion d'insuline chez le fœtus* (A. KERVRAN)

On sait que la libération d'insuline par les cellules B du pancréas met en jeu le système microtubulaire-microfilamenteux. Il est donc possible que le développement de ce système au cours de la période périnatale pourrait être impliqué dans la maturation fonctionnelle de la cellule B. Il a été, en effet, suggéré que les microtubules sont associés préférentiellement à la deuxième phase de sécrétion d'insuline, alors que les microfilaments seraient en cause dans la première phase (pic de sécrétion rapide). Or le pancréas de lapin présenterait un type particulier de sécrétion de l'insuline (Garcia-Hermida et Gomez-Acebo, 1974) et aurait la particularité d'avoir des cellules  $\beta$  contenant dans leur cytoplasme essentiellement des microfilaments et peu de microtubules, contrairement au rat dont les cellules B contiennent les deux. On a donc comparé le développement fonctionnel des cellules B chez le fœtus de lapin et chez le fœtus de rat.

Le glucose 3 g/l ne stimule pas la sécrétion d'insuline chez le fœtus de lapin âgé de 22 jours. La réponse est obtenue à partir du stade de 24 jours. Il s'agit alors d'une réponse en pic, semblable à une première phase et la sécrétion décroît malgré le maintien de la stimulation. Chez les fœtus plus âgés, le profil de la réponse reste la même ; seule l'amplitude augmente d'un facteur 5 jusqu'à la naissance. La théophylline potentialise l'effet du glucose à tous les stades étudiés mais ne modifie pas le profil de la réponse obtenue en présence de glucose seul. Ces observations sont en faveur du rôle des microtubules dans la sécrétion d'insuline au cours de la deuxième phase.

A. Kervran a présenté ces résultats à la 8<sup>e</sup> réunion du groupe Développement de l'I.N.R.A. (Tours, mai 1982).

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

Le poumon fœtal accumule du glycogène pendant une période déterminée de la gestation, puis l'utilise peut avant la naissance lorsqu'apparaît le sur-



factant. Depuis plusieurs années, on supposait l'existence d'une relation pré-curseur-produit entre ce glycogène et les phospholipides du surfactant. Nous avons apporté une démonstration directe de cette relation chez le fœtus de rat en mettant en évidence *in vitro* un transfert de radioactivité du glycogène aux phospholipides caractéristiques du surfactant après marquage préalable *in vivo* du glycogène du poumon. L'utilisation du glycogène doit être importante pour la synthèse des phospholipides car l'inhibition de la glycogénolyse *in vitro* par une forte concentration de glucose ou par l'insuline, s'accompagne d'une réduction de l'accumulation des phospholipides et du transfert de radioactivité du glycogène vers les phospholipides. On peut estimer que le glycogène est utilisé 5 fois mieux que le glucose du milieu pour la synthèse du phospholipide majeur du surfactant, la phosphatidylcholine saturée. Cependant, il n'a pas été possible de quantifier la part revenant au glycogène dans la synthèse du surfactant.

Ces résultats suggèrent que le diabète maternel qui, chez le fœtus humain, est cause simultanément d'hyperglycémie, d'hyperinsulinisme et d'un retard de maturation pulmonaire, pourrait agir en retardant l'utilisation du glycogène pour l'élaboration des phospholipides du surfactant. On a tenté de vérifier expérimentalement cette hypothèse en provoquant une hyperglycémie ou une hyperinsulinémie chronique chez le fœtus de rat *in utero* en fin de gestation. Les premiers résultats n'ont pas montré de retard dans la maturation du surfactant pulmonaire mais l'expérimentation est continuée.

#### PUBLICATIONS

J. BOURBON et A. JOST, *Control of glycogen metabolism in the developing fetal lung (Pediat. Res., 16, 50-56, 1982).*

J. BOURBON, M. RIEUTORT, M.J. ENGLE et P.M. FARRELL, *Utilization of glycogen for phospholipid synthesis in fetal rat lung (Biochim. Biophys. Acta, sous presse).*

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

##### 1) *Interactions acides gras-gluconéogenèse*

Les recherches concernant les interactions entre acides gras et gluconéogenèse ont été poursuivies chez le rat nouveau-né, *in vivo* et *in vitro*.

*Etudes in vivo* : L'oxydation des acides gras à chaîne longue a été supprimée chez le rat allaité, âgé d'un jour, en utilisant un inhibiteur de la carnitine acyltransferase : l'acide 2-tétradécylglycidique. Cet inhibiteur pro-

duit en six heures une hypocétonémie et une hypoglycémie profonde, de même qu'une diminution de la vitesse de la gluconéogenèse hépatique, estimée à partir de l'incorporation de (U-<sup>14</sup>C) lactate dans le glucose. Le gavage de ces rats avec des acides gras à chaîne moyenne dont l'oxydation n'est pas inhibée par l'acide 2-tétradecylglycidique rétablit en 3 heures des concentrations sanguines normales de corps cétoniques et de glucose, aussi bien qu'une gluconéogenèse élevée. L'oxydation des acides gras à chaîne moyenne, qui forment 30 % des acides gras contenus dans les triglycérides du lait de ratte, permet donc, comme l'oxydation des acides à chaîne longue, de maintenir une gluconéogenèse active et donc une glycémie normale.

*Etudes in vitro* : Dans des hépatocytes isolés de rats âgés de 1 jour, il coexiste une gluconéogenèse et une céto-genèse actives, bien que les carbones des acides gras ne participent pas à la synthèse de glucose. Si l'oxydation des acides gras est essentielle au maintien d'une gluconéogenèse active, elle ne semble pas jouer un rôle régulateur. En effet, lorsqu'une céto-genèse suffisamment active est établie, une nouvelle augmentation de celle-ci ne stimule plus la gluconéogenèse. Ainsi, l'octanoate est plus céto-gène que l'oléate, mais il stimule la gluconéogenèse de façon comparable.

## 2) Développement de la céto-genèse chez le rat nouveau-né

Chez le rat nouveau-né allaité, une hypercétonémie se développe dans les heures qui suivent la naissance. Afin de savoir quels en sont les facteurs responsables, nous avons utilisé une préparation d'hépatocytes isolés de rats nouveau-nés.

Les capacités céto-géniques du foie augmentent d'un facteur 6 entre 0 et 16 heures après la naissance. L'augmentation de la cétonémie observée *in vivo* est donc due à une augmentation de la capacité hépatique à produire des corps cétoniques. Ceci résulte de deux phénomènes : 1) une augmentation d'un facteur 3 du captage de l'oléate, 2) une redirection de l'oléate de la voie de l'estérification vers l'oxydation (l'estérification passe de 45 % à 10 % et l'oxydation de 55 à 90 %). L'augmentation de l'oxydation de l'oléate à la naissance ne semble pas contrôlée, comme chez l'adulte, au niveau de la carnitine acyltransférase par le malonyl-CoA puisque : 1) le glucagon, qui stimule la céto-genèse chez l'adulte, ne l'augmente pas chez le nouveau-né, alors qu'il inhibe la glycolyse de 40 à 60 % ; 2) le lactate et le pyruvate qui augmentent la disponibilité en substrats lipogénétiques, diminuent la production de corps cétoniques mais n'ont pas d'effet sur l'oxydation totale des acides gras ; 3) la lipogenèse est effondrée ; 4) la céto-genèse à partir d'octanoate 2 mmol/l, acide gras à chaîne moyenne qui entre directement dans la mitochondrie sans passer par le système carnitine

acyltransférase augmente aussi d'un facteur 6 entre 0 et 16 heures après la naissance.

L'augmentation de la capacité cétogène semble donc être plutôt liée à un développement des capacités oxydatives globales de la cellule. Ceci peut être la conséquence de l'augmentation du nombre de cellules et du nombre de mitochondries par cellule ainsi que de la maturation mitochondriale observée dans les heures qui suivent la naissance.

#### PUBLICATIONS

J. GIRARD, *Metabolic adaptation in the neonate* (In : *Assays on Pediatric Nutrition*, D.L. Yeung, ed., p. 110-119, Canadian Public Health Association, Ottawa, 1981).

J.R. GIRARD, P. FERRE, J.P. PEGORIER, P. TURLAN, L. EL MANOUBI et S. CALLIKAN, *Glucose metabolism in the newborn* (*Biochem. Soc. Transaction*, 9, 369-370, 1981).

J. GIRARD, *Glucose homeostasis in the perinatal period : the critical role of pancreatic hormones and exogenous substrates in the Rat* (In : *The Fetus and Independent Life*, p. 234-246, Ciba Foundation Symposium n° 86, Pitman Medical, London, 1981).

P. FERRE, P. SATABIN, L. EL MANOUBI, S. CALLIKAN et J. GIRARD, *Relationship between ketogenesis and gluconeogenesis in isolated hepatocytes from newborn rats* (*Biochem. J.*, 200, 429-433, 1981).

P. FERRE, P. TURLAN et J.R. GIRARD, *Evidence that medium-chain fatty acid oxidation can support an active gluconeogenesis in the suckling newborn rat* (*Biol. Neonate*, sous presse).

P. SATABIN, P. FERRE, J.-F. DECAUX et J.R. GIRARD, *Développement de la cétogénèse dans les hépatocytes de rats nouveau-nés* (*J. Physiol.*, Paris, sous presse).

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

Les recherches ont été poursuivies en étudiant la sensibilité à l'insuline *in vivo* dans ces deux situations physiologiques, à l'aide de la technique du clamp euglycémique. Cette technique consiste à perfuser de l'insuline afin d'atteindre une insulïnémie constante tout en maintenant la glycémie à son niveau de base grâce à une perfusion variable de glucose, afin d'éviter la sécrétion d'hormones contrarégulatrices (glucagon, catécholamines). La mesure de l'utilisation du glucose pour une insulïnémie atteinte donnée est alors le reflet de la sensibilité des tissus à l'insuline.

*Mise au point de la technique* : La technique du clamp euglycémique couplée à la mesure isotropique de l'utilisation du glucose (glucose [3-<sup>3</sup>H]) décrite initialement chez l'Homme, a été adaptée chez le Rat. Cette technique permet de caractériser et de quantifier *in vivo* la sensibilité à l'insuline. Trente minutes après le début du clamp, la vitesse de perfusion du glucose exogène, l'activité spécifique du glucose sanguin et la concentration de l'insuline plasmatique atteignent un plateau et ne varient plus pendant les 30 minutes suivantes. La glycémie est maintenue constante à son niveau de base et présente des fluctuations de l'ordre de 2,3 %.

*Application à la ratte gestante* : En étudiant les effets de plusieurs concentrations d'insuline sur des groupes de rattes différentes, il est possible de caractériser l'insulino-résistance durant la gestation chez la ratte, et de connaître les tissus responsables de cette insulino-résistance (tissus périphériques ou foie). On a pu montrer que, chez la ratte gestante, il existait une diminution de la réponse maximale des tissus périphériques à l'insuline ainsi qu'une diminution importante de leur sensibilité. La sensibilité du foie à l'insuline a été étudiée en mesurant la suppression de la production hépatique de glucose en présence de concentrations croissantes d'insuline. La production hépatique, dans la technique du clamp euglycémique représente la différence entre l'utilisation du glucose (mesurée à l'aide du traceur) et le glucose perfusé. On constate que, chez la ratte gestante, il existe une diminution de la sensibilité du foie à l'insuline sans modification de la réponse maximale.

*Application à la ratte allaitante* : Afin de déterminer si la glande mammaire est sensible à l'insuline, nous avons utilisé la technique du clamp euglycémique. Une perfusion d'insuline de 3 U/kg/h (dose supramaximale) augmente la clairance métabolique du glucose de 300 % chez les rattes non-allaitantes et de 300 % chez les rattes allaitantes. Ceci montre qu'*in vivo*, la glande mammaire semble très sensible à l'insuline.

#### PUBLICATIONS

A. LETURQUE, P. SATABIN, P. FERRE et J. GIRARD, *Evidence that stimulation of glucose metabolism by insulin is not altered in isolated soleus muscle of pregnant rats* (Biochem. J., 200, 181-184, 1981).

A.F. BURNOL, A. LETURQUE, P. FERRE et J. GIRARD, *Régulation du métabolisme glucidique chez la ratte allaitante* (J. Physiol., Paris, sous presse).

A.F. BURNOL, A. LETURQUE, P. FERRE et J. GIRARD, *The euglycemic insulin clamp technique coupled with isotopic measurement of glucose turnover : a method for quantifying insulin sensitivity in vivo in the anesthetized rat* (Reprod., Nutr. Develop., sous presse).

VI. - *Métabolisme de l'utérus gravide et de son contenu, chez la lapine*  
(M. GILBERT, M. BOUISSET et S. HAUGUEL)

Au cours de recherches entreprises l'an passé dans le Laboratoire du Professeur F.C. Battaglia (Université du Colorado, Denver, U.S.A.), M. Gilbert a entrepris des recherches quantitatives sur le métabolisme de l'utérus gravide (avec son contenu), de manière à pouvoir comparer les résultats obtenus dans cette espèce à ceux concernant la brebis. Chez la lapine, entre 24 et 30 jours, la masse fœtale est en gros multipliée par trois. On a essayé de déterminer les exigences métaboliques de l'utérus et de son contenu et de les comparer avec le gain de poids fœtal durant cette période.

On a placé à demeure des catheters dans certains vaisseaux maternels dès le stade de 21 jours, puis fait des prélèvements sanguins quotidiens entre 24 et 30 jours sur l'animal non anesthésié. Un catheter placé dans l'artère fémorale permet de déterminer la teneur en substrat du sang artériel irrigant l'utérus. Un autre catheter veineux utérin, permet de doser la teneur en les mêmes substrats du sang ayant irrigué l'utérus gravide. On connaît ainsi la différence artério-veineuse de concentration des substrats étudiés. La technique des microsphères radio-actives a été utilisée pour mesurer le débit sanguin (mesures à 24 et à 30 jours).

Les résultats enregistrés jusqu'ici sont les suivants : 1) les différences artério-veineuses du glucose, du lactate, du pyruvate et des corps cétoniques restent constantes pendant la période étudiée ; en fait, il y a une consommation de glucose et de corps cétoniques, et une production nette de lactate et de pyruvate ; 2) le débit sanguin au niveau placentaire est multiplié par 3 (comme le poids du contenu utérin), alors que le débit sanguin dans le reste de l'utérus reste constant.

En tenant compte de la valeur du renouvellement du glucose plasmatique maternel, on peut estimer qu'une portée moyenne de 7 à 9 fœtus reçoit 40 à 50 % du glucose produit par la mère. Cette valeur est sensiblement la même que celle déterminée chez la brebis.

La différence artério-veineuse de la concentration en insuline met en évidence une diminution de 40 %, alors que l'hormone de croissance montre une augmentation de + 50 % (dosage radio-immunologique avec un système de rat). Ce dernier résultat pose un problème intéressant.

PUBLICATIONS

*Travaux antérieurs*

J. BOURBON et M. GILBERT, *Role of fetal insulin in glycogen metabolism in the liver of rat fetus* (*Biol. Neonate*, 40, 38-45, 1981).

J.M. GAREL, M. GILBERT et P. BESNARD, *Fetal growth and 1,25-dihydrovitamin D<sub>3</sub> injections into thyroparathyroidectomized pregnant rats (Reprod. Nutr. Develop., 21, 961-968, 1981).*

J.M. GAREL et M. GILBERT, *Dietary calcium and phosphorus manipulations in thyroparathyroidectomized pregnant rats and fetal liver glycogen stores (Reprod. Nutr. Develop., 21, 969-978, 1981).*

M. GILBERT, J. SPARKS, J. GIRARD et F.C. BATTAGLIA, *Glucose turnover rate during pregnancy in the conscious guinea pig (Pediat. Res., 4, 310-314, 1981).*

M. GILBERT et J.P. PEGORIER, *Substrate concentration changes during pregnancy in conscious rat (J. Dev. Physiol., 3, 343-354, 1981).*

#### *Travaux résumés ci-dessus*

R. JOHNSON, M. GILBERT, F.C. BATTAGLIA et G. MESCHIA, *Fetal growth and placental blood flow relationships under chronic steady state conditions in the rabbit (Soc. Gynecol. Investig., abstract, 1981).*

M. GILBERT, J.W. SPARKS, J. GIRARD et F.C. BATTAGLIA, *Changes in glucose metabolism during pregnancy induced by fasting in chronically catheterized guinea pigs (Fed. amer. Soc. Experim. Biol., abstract, 1981).*

W.W. HAY, J.W. SPARKS, M. GILBERT, R. WILKENING et G. MESCHIA, *A comparison of insulin effect on uterine versus hindlimb glucose uptake in conscious pregnant sheep (Fed. Amer. Soc. Experim. Biol., abstract, 1982).*

#### ACTIVITÉS DIVERSE

M. Alfred JOST a été invité à la 17<sup>e</sup> Réunion de la « Gesellschaft für Anthropologie und Humangenetik » à Göttingen en septembre 1981, à un Symposium sur « The Genetic Control of Gamete Production and Function », organisé à Vienne, Autriche, les 12-13 octobre 1981, par la Fondation Serono, et à présenter une conférence au Centre Français de Documentation Médicale (Fondation Robert Debré), à Bruxelles (mars 1982).

M. Jean GIRARD a été invité à faire des exposés aux réunions suivantes : Colloque de la Biochemical Society sur « Regulation of metabolism during development » (Manchester, juillet 1981) ; Symposium sur « Fetal metabolism » (Indiannapolis, novembre 1981) ; Table ronde sur « Hormones et métabolisme » (Rouen, janvier 1982). Il a été reçu comme « Visiting Professor » à l'Université de Sheffield en avril 1982. Il a été invité à faire une conférence à l'Académie royale de Pharmacie à Madrid en juin 1982. Il a reçu

le prix du D<sup>r</sup> et de M<sup>me</sup> Labbé décerné par l'Académie des Sciences pour ses recherches sur la nutrition du nouveau-né.

M. Pascal FERRÉ a été nommé Chargé de Recherches au C.N.R.S. (janvier 1982). Il a été invité à faire une conférence aux Journées « Métabolisme » de l'Association Française de Nutrition (Clermont-Ferrand, janvier 1982). Il a obtenu la Médaille de bronze du C.N.R.S.

M<sup>me</sup> Armelle LETURQUE a été recrutée comme Attaché de Recherches au C.N.R.S. en octobre 1981. Elle a été invitée à faire une conférence à la Table ronde « Hormone et Métabolisme » lors de la réunion de l'Association Française des Physiologistes (Endocrinologie) (Rouen, janvier 1982).

M<sup>me</sup> Anne-Françoise BURNOL et M<sup>me</sup> Pascale SATABIN ont présenté leurs résultats à la réunion Française des Physiologistes (Endocrinologie) (Rouen, janvier 1982) et MM. Pierre-Henri DUÉE, Pascal FERRÉ, Alain KERVRAN et M<sup>me</sup> Armelle LETURQUE ont été invités à présenter leurs résultats à une réunion du « Groupe Développement » de l'I.N.R.A. (Tours, mai 1982).

M<sup>me</sup> Catherine GIBELLO a fait un séjour de 6 mois dans le laboratoire de A.G. Byskov, à Copenhague, Danemark.

#### CHERCHEURS ÉTRANGERS

Le D<sup>r</sup> Roxane AGELOPOULOU, Assistante à l'Université d'Athènes, a poursuivi son travail au laboratoire.

Le D<sup>r</sup> Sadanori KOIKE, de l'Université de Ooita (Japon) et M<sup>me</sup> Evangélie PATSAVOUDIS de l'Université d'Athènes ont passé l'année au laboratoire.

#### THÈSES

Trois thèses de Doctorat de 3<sup>e</sup> cycle ont été soutenues cette année :

M<sup>me</sup> Catherine GIBELLO : *Action du testicule fœtal sur les cellules germinales de l'ovaire fœtal : étude in vitro (Endocrinologie, Université Paris VI, septembre 1981).*

M<sup>lle</sup> Roxane AGELOPOULOU : *Différenciation du testicule de fœtus de rat in vitro. Rôle du sérum sur la formation et le maintien des cordons séminifères* (Endocrinologie, Université Paris VI, mai 1982).

M<sup>me</sup> Pascale SATABIN : *Développement et régulation de la cétogenèse dans les hépatocytes isolés de rats nouveau-nés* (Nutrition, Université Paris VII, juin 1982).