

## Évolution et contrôle de l'activité de la carbamyl phosphate synthétase et de l'ornithine transcarbamylase du foie foetal de rat au cours du développement

Le développement du fœtus comporte l'apparition de structures et d'un certain nombre d'hormones. Dans divers tissus, notamment le foie, se produit aussi une maturation fonctionnelle qui survient à un stade bien déterminé du développement et qui dans les cas les mieux étudiés s'est avérée obéir à un déterminisme endocrinien<sup>1-4</sup>. C'est ainsi que nous avons étudié si les glucocorticostéroïdes contrôlent l'activité de deux enzymes impliquées dans la synthèse de l'urée, la carbamyl phosphate synthétase (EC. 2.7.2.2.) et l'ornithine transcarbamylase (EC. 2.1.3.3.).

**Matériels et méthodes.** Les expériences ont été effectuées sur des rattees gestantes de race Sherman. L'âge des fœtus est déterminé par rapport à la fécondation: des femelles mises au mâle le soir en sont séparées le lendemain matin et l'on admet que la fécondation survient à 1 h du matin. Les femelles ayant acceptées le mâle sont reconnues le matin même par frottis vaginal. La surrénalectomie de la mère est faite à 14,5 jours, par voie lombaire. Les animaux surrénalectomisés peuvent boire à volonté de l'eau salée (Cl Na 9 g/l). L'hypophysectomie des fœtus est réalisée selon la technique de JOST<sup>5,6</sup>, après anesthésie de la mère à l'éther. Chez les fœtus décapités, les préparations hormonales (0,1 mg d'acétate de cortisol Roussel) sont administrées par injection i.p., au travers de l'utérus, à 18,5 jours. Au stade de la gestation à étudier, la mère est assommée et les fœtus sont prélevés dans l'utérus. Après saignée des fœtus, les foies sont prélevés rapidement, séchés, pesés et homogénéisés dans un milieu constitué de bromure de N-cetyl-N, N, N-triméthylammonium 0,1%. L'activité de la carbamyl phosphate synthétase et de l'ornithine transcarbamylase est mesurée *in vitro* selon BROWN et COHEN<sup>7</sup>. Les quantités de citrulline formées sont mesurées par la méthode d'ARCHIBALD<sup>8</sup> modifiée selon RATNER<sup>9</sup>. Les protéines sont dosées par la méthode du Biuret. Le test en *t* de FISHER est utilisé pour l'analyse statistique.

**Résultats.** Le Tableau I indique les valeurs moyennes de l'activité de la carbamyl phosphate synthétase et de l'ornithine transcarbamylase, exprimée par g de foie frais et par mg de protéines, dans le foie foetal de Rat entre 17,5 et 21,5 jours de gestation et dans les heures qui suivent la naissance. L'activité des deux enzymes augmente de façon concomitante, elle manifeste une discontinuité d'évolution entre 19,5 et 20,5 jours, puis augmente de façon moindre entre 20,5 et 21,5 jours et croît considérablement à la naissance.

Le Tableau II indique l'effet de la privation de corticostéroïdes naturels et de l'administration d'acétate de cortisol sur l'activité de ces deux enzymes.

L'absence de corticostéroïdes maternels et foetaux (surrénalectomie maternelle à 14,5 jours et décapitation *in utero* à 18,5 jours) entraîne une diminution importante de l'activité enzymatique à 21,5 jours. Celle-ci est proche de celle que l'on observe normalement entre 18,5 et 19,5 jours. L'opération subie par la mère n'affecte pas l'activité enzymatique chez les fœtus témoins. L'apport d'acétate de cortisol aux fœtus privés de corticostéroïdes naturels restaure l'activité enzymatique à un niveau comparable à celui des fœtus issus de mère non opérée pour l'ornithine transcarbamylase et à un niveau nettement plus élevé, sensiblement comparable à celui des nouveaux nés en ce qui concerne la carbamyl phosphate synthétase. De même, après l'apport d'acétate de cortisol, l'activité enzymatique chez les fœtus témoins issus des mêmes portées est toujours plus élevée que celle des fœtus issus de mère non opérée. Cet effet est probablement lié à la présence de corticostéroïdes qui ont diffusé des fœtus d'une corne utérine à ceux de l'autre corne.

**Discussion.** L'évolution de l'activité de la carbamyl phosphate synthétase et de l'ornithine transcarbamylase chez le fœtus de rat, a déjà été étudiée par plusieurs auteurs<sup>10-12</sup>. Nos résultats confirment pleinement et complètement leurs observations. Ils montrent une discontinuité d'évolution vers 19,5 jours, caractéristique du «virage physiologique» du foie. Cette augmentation survient à une période où les surrénales du fœtus sont soumises à une forte stimulation hypophysaire foetale<sup>13</sup>

<sup>1</sup> A. JOST et R. JACQUOT, C.r. Acad. Sci., Paris 239, 98 (1954).

<sup>2</sup> R. JACQUOT, C.r. Soc. Biol., Paris 150, 2137 (1956).

<sup>3</sup> R. JACQUOT, J. Physiol., Paris 51, 655 (1959).

<sup>4</sup> Y. MORIKAWA, Y. EGUCHI and Y. HASHIMOTO, Bull. Univ. Osaka Prefecture (Série B) 18, 17 (1966).

<sup>5</sup> A. JOST, C.r. Acad. Sci., Paris 225, 322 (1947).

<sup>6</sup> A. JOST, Archs Anat. microsc. Morph. exp. 40, 247 (1951).

<sup>7</sup> G. W. BROWN and P. P. COHEN, J. biol. Chem. 234, 1769 (1959).

<sup>8</sup> R. M. ARCHIBALD, J. biol. Chem. 156, 121 (1944).

<sup>9</sup> S. RATNER, in *Method in Enzymology* (Academic Press, New York 1955), vol. 2, p. 356.

<sup>10</sup> A. L. KENNAN and P. P. COHEN, Devel. Biol. 1, 511 (1959).

<sup>11</sup> A. L. MILLER and P. CHU, Enzym. Biol. Clin. 11, 497 (1970).

<sup>12</sup> N. C. R. RAÏHÄ and J. SUHKONEN, Biochem. J. 107, 793 (1968).

<sup>13</sup> A. COHEN, Arch. Anat. Microsc. Morph. Exp. 52, 279 (1963).

Tableau I.

Age en jours	Carbamyl-phosphate synthétase		Ornithine transcarbamylase	
	$\mu\text{M/h/g}$ foie	$\mu\text{M/mg}$ protéines	$\mu\text{M/h/g}$ foie	$\mu\text{M/mg}$ protéines
17,5	4,2 $\pm$ 2,4 (7)	0,055 $\pm$ 0,037 (7)	993 $\pm$ 218 (7)	12,7 $\pm$ 3,1 (7)
18,5	12,6 $\pm$ 6,1 (6)	0,141 $\pm$ 0,051 (6)	1332 $\pm$ 298 (10)	16,8 $\pm$ 3,8 (10)
19,5	23,0 $\pm$ 5,7 (14)	0,277 $\pm$ 0,054 (14)	1556 $\pm$ 356 (14)	17,4 $\pm$ 2,5 (14)
20,5	43,3 $\pm$ 8,5 (10)	0,508 $\pm$ 0,100 (10)	2195 $\pm$ 526 (10)	25,9 $\pm$ 6,2 (10)
21,5	48,5 $\pm$ 8,8 (14)	0,512 $\pm$ 0,107 (14)	2480 $\pm$ 416 (13)	26,2 $\pm$ 3,8 (13)
Nouveau né	106,0 $\pm$ 9,8 (8)	0,937 $\pm$ 0,085 (8)	6107 $\pm$ 891 (7)	54,0 $\pm$ 7,8 (7)

Moyennes  $\pm$  intervalle de confiance au niveau de probabilité:  $p = 0,95$ . () Nombre de mesures.

Tableau II.

Traitement	Carbamyl-phosphate synthétase		Ornithine transcarbamylase	
	$\mu\text{M/h/g}$ foie	$\mu\text{M/mg}$ protéines	$\mu\text{M/h/g}$ foie	$\mu\text{M/mg}$ protéines
Témoins	$51,0 \pm 10,0$ (10) <sup>b</sup>	$0,503 \pm 0,071$ (10) <sup>b</sup>	$2080 \pm 385$ (13) <sup>b</sup>	$20,6 \pm 3,7$ (13) <sup>b</sup>
Décapités	$22,8 \pm 5,0$ (10) <sup>b</sup>	$0,226 \pm 0,021$ (10) <sup>b</sup>	$1474 \pm 218$ (13) <sup>b</sup>	$14,5 \pm 2,1$ (13) <sup>b</sup>
Décapités + cortisol	$91,9 \pm 19,5$ (7) <sup>b</sup>	$1,160 \pm 0,245$ (7) <sup>b</sup>	$2230 \pm 612$ (7) <sup>b</sup>	$28,1 \pm 7,7$ (7) <sup>b</sup>
Témoins <sup>a</sup>	$68,9 \pm 13,4$ (7)	$0,877 \pm 0,166$ (7)	$2934 \pm 733$ (7)	$37,3 \pm 9,4$ (7)

<sup>a</sup> Foetus témoins de la même portée. Moyennes  $\pm$  intervalle de confiance au niveau de probabilité:  $p = 0.95$ . <sup>b</sup> Différence significative pour  $p < 0,05$ . ( ) Nombre de mesures.

et où le taux de corticostérone circulante est le plus élevé<sup>14, 15</sup>. Nos résultats montrent en effet que l'augmentation d'activité de ces enzymes qui survient à partir de 19,5 jours dépend de la présence des corticostéroïdes, ceci est en accord avec le fait bien connu que ces hormones contrôlent la maturation fonctionnelle du foie foetal<sup>16</sup>. Le rôle important des corticostéroïdes dans la régulation de l'activité des enzymes impliquées dans la synthèse de l'urée a déjà été mis en évidence, après la naissance et chez le rat adulte<sup>12, 17-21</sup>. Cette activité est diminuée après surrénalectomie ou augmente après l'administration de cortisol ou de triamcinolone.

L'effet de l'apport supplémentaire de corticostéroïdes exogènes a aussi été étudié chez le foetus<sup>22</sup>.

Aucun effet n'est observé entre 19,5 jours et la naissance probablement parce que le taux de corticostérone endogène est déjà relativement important au cours de

cette période<sup>14, 15</sup>. En fait, le foie foetal semble capable de répondre à ce stade du développement. SCHWARTZ<sup>22</sup> a en effet montré que les glucocorticostéroïdes peuvent augmenter l'activité du système arginine synthétase dans le foie foetal mis en culture. Nos résultats montrent d'ailleurs que l'apport de cortisol aux foetus dès l'âge de 18,5 jours permet d'augmenter l'activité de la carbamyl phosphate synthétase et de l'ornithine transcarbamylase à un niveau plus élevé que la normale. Des études sont actuellement en cours pour préciser si l'administration de glucocorticostéroïdes au foetus bien avant que les surrénales soient stimulées peut accroître prématurément l'activité enzymatique.

**Summary.** Two enzymes of the urea-cycle (carbamyl phosphate synthetase and ornithine transcarbamylase) have been studied in the liver of foetuses and newborn rats and of foetuses lacking of corticosteroids. In control foetus, simultaneous and regular increase of the both enzyme activity was observed between 17.5 days of pregnancy and birth. The lack of corticosteroid from 18.5 days of pregnancy caused a marked diminution of the enzyme activity. This activity is enhanced after administration of cortisol (hydrocortisone) to these 18.5-day-old foetuses lacking of corticosteroids.

C. GAUTIER, A. HUSSON et R. VAILLANT<sup>23</sup>

Université de Rouen, Laboratoire d'Endocrinologie,  
U.E.R. des Sciences et Techniques,  
F-76130 Mont-Saint-Aignan (France), 24 Juin 1974.

<sup>14</sup> P. G. HOLT and I. T. OLIVER, *Biochem. J.* 108, 339 (1968).

<sup>15</sup> J. P. DUPOUY, *soumis*.

<sup>16</sup> R. A. FREEDLAND and C. H. SODIKOFF, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 109, 394 (1962).

<sup>17</sup> P. Mc LEAN and M. W. GURNEY, *Biochem. J.* 87, 96 (1963).

<sup>18</sup> R. T. SCHIMKE, *J. biol. Chem.* 238, 1012 (1963).

<sup>19</sup> R. A. FREEDLAND, *Soc. Exp. Biol. Med.* 116, 692 (1964).

<sup>20</sup> H. ILLNEROVA, *Physiologia bohemoslov.* 15, 23 (1966).

<sup>21</sup> O. GREENGARD, M. K. SAHIB and W. E. KNOX, *Arch. Biochem. Biophys.* 137, 477 (1970).

<sup>22</sup> A. L. SCHWARTZ, *Biochem. J.* 126, 89 (1972).

<sup>23</sup> Ce travail a été réalisé avec l'aide de la Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique (contrat No. 7371148).

## COGITATIONES

### Developmental Phases in Visual Recognition of the Human Face Pattern, Exemplified by the 'Smiling Response'

This study is about developmental phases of visual recognition of the configurations of the human face, which function as 'releasers'<sup>1</sup> for infants' 'smiling response' (SR). This response is associated with a mechanism analogous to that of the 'innate releasing mechanism' (IRM)<sup>2</sup>. Thus, the study of SR can offer clues about a very early stage in the processing of visual stimuli.

The infants' SR to the human face has so far been found to be a reaction to the 'releaser'<sup>1</sup> stimulus consisting of the general configuration of the 'forehead-eyes-nose sector'<sup>1</sup>. This area, when presented as a stimulus for

SR was either left unaltered or was simplified by presenting the nose as small or non-existent and the eye region by two dot-like shapes. One study had replaced the eyes by movable glass marbles behind a cut-out square card board frame<sup>3</sup>. This experimental set-up demonstrated that it was the 'invariable Gestalt con-

<sup>1</sup> R. A. SPITZ, *The First Year of Life* (Int. University Press, New York 1965).

<sup>2</sup> N. TINBERGEN and D. J. KUENEN, *Z. Tierpsychol.* 2, 37 (1939).

<sup>3</sup> E. KAILA, *Annls. Univ. fenn. abo, Serie B* 17, 5 (1932).