

Signification physiologique des différentes fractions
obtenues par la séparation électrophorétique
d'hormones gonadostimulantes purifiées.

par M. DEMINATTI et J. D. WEILL (*).

Les expériences poursuivies ces dernières années par M. Aron, l'un de nous et leurs collaborateurs (1* à 6*) ont conduit à reconsidérer la notion classique de la dualité de la fonction gonadotrope hypophysaire.

- (7) R. Comolli et A. Petrovic, *C. R. Soc. Biol.*, 1953, t. 147, p. 1816.
(8) A. Petrovic et M. Aron, *C. R. Soc. Biol.*, 1955, t. 149, p. 1030.
(9) A. Petrovic et M. Aron, *C. R. Ass. Anat.*, 1957, n° 92, p. 1159.
(10) A. Rebel et J. Marescaux, *C. R. Soc. Biol.*, 1958, t. 152, p. 810.
(* Avec la collaboration technique de M^{lle} S. Lévy.
(1*) H. Firket, A. Petrovic, J. Marescaux et M. Aron, *C. R. Soc. Biol.*, 1953, t. 147, p. 501.
(2*) M. Aron, Problème de l'individualité de l'hormone lutéinisante de la préhypophyse, in *la Fonction lutéale*, p. 49, Masson édit., Paris, 1954.
(3*) A. Petrovic, C. Weill et M. Deminatti, *C. R. Soc. Biol.*, 1953, t. 147, p. 495.
(4*) A. Petrovic, M. Deminatti et C. Weill, *C. R. Soc. Biol.*, 1954, t. 148, p. 383.
(5*) A. Petrovic, Recherches sur le mode d'action gonadostimulante de la préhypophyse sur le testicule chez le Cobaye. Thèse de doctorat en Médecine, 1954, le Nouvel Alsacien, Strasbourg, 76 p.
(6*) M. Deminatti, Recherches sur le fonctionnement ovarien, chez le Cobaye, dans les conditions de la greffe intra-testiculaire ou intra-utérine, Thèse de Doctorat en Médecine, 1955, le Nouvel Alsacien, Strasbourg, 80 p.

Deux préparations de gonadostimulines (*), la folliculostimuline (FSH) et la lutéostimuline (LH), préparées à partir de la préhypophyse sous une forme purifiée, ont été soumises à la séparation électrophorétique, ce qui nous a permis de faire l'étude comparative des effets biologiques, sur l'ovaire de Cobaye, de chacun de leurs constituants ainsi isolés.

Techniques expérimentales. — 1. ELECTROPHORÈSE SUR PAPIER DE LH ET DE FSH. — Des quantités moyennes de 400 à 800 γ de FSH ou de LH dissoutes dans 0,015 ml de sérum physiologique sont étalées sur le papier Schleicher et Schull n° 2 et soumises à l'électrophorèse dans l'appareil Elphor (solution tampon de véronal sodique à $pH = 8,6$), pendant 18 heures, sous 110 V, en chambre froide. Chaque fois dans la même cuve nous avons placé un sérum humain à titre de témoin.

Chaque bande de papier, après séchage à l'étuve à 40° pendant 2 heures, est coupée en deux selon sa longueur : une des deux moitiés est colorée à l'amidoschwarz selon la technique classique. Nous avons pu ainsi établir sur cette demi-bande colorée, le diagramme des différentes fractions protéiques avec le densitomètre Photovolt. L'autre demi-bande est découpée en autant de morceaux que de fractions protéiques mises en évidence par l'amidoschwarz.

De plus nous avons, dans 4 cas, pratiqué la coloration des glycoprotéines (7*), par la méthode au PAS, sur les bandes électrophorétiques de FSH et LH selon la technique de D. E. Kramm et C. L. Kolb (8*).

ELUTION ET INJECTIONS AU COBAYE FEMELLE. — Nous avons procédé à l'élution par 2 ml de sérum physiologique, pendant 12 heures, de chaque fragment de papier obtenu à partir de la bande non colorée. Les bandes correspondant aux parties ainsi éluées ne sont plus colorables à l'amidoschwarz.

Chaque éluat a été injecté, en totalité ou en partie, à un cobaye femelle dont le poids a varié entre 220 et 230 g, 44 expériences ont été faites. L'autopsie des animaux a été pratiquée 12 à 36 h après l'injection et les ovaires ont été soumis à l'examen histologique.

Pour évaluer les modalités quantitatives d'action des diverses fractions étudiées, nous avons injecté, pour chacune d'elles, des doses croissantes échelonnées entre 0,10 et 2 ml.

Résultats expérimentaux. — 1. SÉPARATION ÉLECTROPHORÉTIQUE. — La fraction dite LH apparaît composée de protéines migrant avec la même vitesse que les γ -globulines du sérum humain témoin.

La fraction dite FSH est formée de 4 fractions protéiques : a) la fraction 1 la plus importante et la plus rapide a une vitesse de migration qui correspond aux α_1 -globulines du sérum humain ; b) la fraction 2 est voisine de la première ; c) la fraction 3 se déplace approximativement avec la même vitesse que les β -globulines ; d) la fraction 4 correspond à la zone des γ -globulines du sérum humain témoin.

(*) Nous devons les échantillons de gonadostimulines utilisées à l'obligeance de la firme Armour et Cie, par l'intermédiaire du Pr. Pincus, que nous remercions.

(7*) G. Biserte, Les glycoprotéides du sérum sanguin et de l'urine, IV^e Journées Biochimiques, 1957, Montpellier, M. Declume, Lons-le-Saunier, 66 p.

(8*) D. E. Kramm et C. L. Kolb, *Annal. Chem.*, 1955, t. 27, p. 1079.

2. COLORATION DES BANDES DE LH ET FSH AU PAS. — Seules les fractions 1, 2, 3 de FSH sont PAS-positives.

3. ACTION PHYSIOLOGIQUE SUR L'OVAIRE DES DIFFÉRENTES FRACTIONS.

a. Fractions de FSH : 6 animaux ont été soumis à l'injection de la totalité des fractions 1 et 2 de FSH. Dans 4 cas, on a obtenu un net effet de folliculostimulation. En 2 autres, cet effet a été « dépassé » vers l'atrésie folliculaire. De faibles quantités de la fraction 3 (0,1 à 0,5 ml) ont également déterminé une stimulation folliculaire significative. Des doses plus élevées ont provoqué respectivement l'atrésie folliculaire et la lutéinisation. La fraction 4 a les mêmes propriétés que la fraction 3.

b. Fraction LH : Les faibles doses ont provoqué la folliculostimulation et les fortes doses la lutéinisation, ce qui confirme les observations de M. Aron et ses collaborateurs (9*).

Discussion et interprétation. — L'effet lutéinisant des fractions 3 et 4 de FSH pourrait être considéré comme en-rapport avec la contamination de cette préparation par des traces de LH. Mais cette interprétation « dualiste » se heurte au fait que cette fraction est quantitativement la plus active et exerce en outre, suivant la dose qui est administrée au Cobaye, des effets folliculostimulant et lutéinisant.

Il convient encore de souligner que les fractions 1 et 2 de FSH exigent pour entraîner la folliculostimulation des doses 5 à 10 fois supérieures à celles qui, selon M. Aron et ses collaborateurs (9*), provoquent ce même effet à partir de la préparation totale de FSH (**). En revanche la fraction 4, qui correspond tout au moins, en vertu des résultats de l'électrophorèse et de la coloration au PAS, à la lutéostimuline, possède, selon les doses, les actions folliculostimulante ou lutéinisante et se montre, pour des quantités équivalentes, beaucoup plus active que les fractions 1 et 2 ainsi que la totalité de FSH.

De plus les fractions 3 et 4 de FSH ont les mêmes vitesses de migration que les β - et γ -globulines du sérum humain, ce qui ne fait que confirmer les résultats de J. W. Mac Arthur et ses collaborateurs (10*). En effet ces auteurs obtiennent le maximum d'effet gonadostimulant avec les fractions II et III extraites du sérum humain, selon la méthode de Cohn, lesquelles sont en grande partie constituées par des β - et γ -globulines.

Enfin il ressort de nos résultats qu'en contradiction apparente avec certaines données histochimiques, la fraction 4 de FSH et la fraction LH sont PAS-négatives dans les conditions de nos expériences.

(Institut d'Histologie, Directeur : M. M. Aron
et Institut de Chimie Biologique, Faculté de Médecine,
Directeur : M. P. Mandel, Strasbourg).

(9*) M. Aron, C. Aron, J. Marescaux et A. Petrovic, Problème de la dualité de la gonadostimuline. Société Royale Belge de Gynécologie et Obstétrique, Séance de mars 1958 (sous presse).

(**) Dans l'état actuel de nos expériences, nous ne sommes pas à même de proposer une interprétation de cette particularité.

(10*) J. W. Mac Arthur, R. B. Pennel, H. N. Antoniades, F. M. Ingersoll, J. L. Oncley et H. Ulfelder, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1956, t. 93, p. 405.