

ISSN 0567-6576

Bulletin des Académie & Société Lorraines des Sciences

**ANCIENNE
SOCIÉTÉ DES SCIENCES DE NANCY**

fondée en 1828

**Etablissement d'utilité publique
(Décret ministériel du 26 avril 1968)**

BULLETIN TRIMESTRIEL

**TOME 35 - NUMÉRO 2
1996**

AVIS AUX MEMBRES

COTISATIONS.

Les Membres des Académie & Société Lorraines des Sciences acquittent une cotisation annuelle. Celle-ci est fixée à 150 francs en 1996.

Le paiement de la cotisation donne droit au service du bulletin, et permet de bénéficier de ventes à tarif réduit. La remise accordée aux Membres des Académie & Société Lorraines des Sciences ne peut atteindre ou dépasser 50 % du prix de vente de la publication. Son taux, proposé par le Conseil, est ratifié en simple Assemblée générale annuelle (Statuts, Titre I, Art. III).

Tout règlement est à adresser, de préférence par chèque, à l'ordre du Trésorier des Académies & Société Lorraines des Sciences, Biologie végétale 1^{er} Cycle, BP 239, 54506 Vandœuvre Cédex.

Chèque bancaire ou chèque postal au compte 45 24 V Nancy.

BULLETIN.

Pour la vente exceptionnelle de numéros isolés ou anciens s'adresser au Trésorier ou au Secrétaire Général, 8, rue des Magnolias, Parc Jolimont-Trinité, 54220 Malzéville.

Afin d'assurer une parution régulière du Bulletin, les Membres ayant présenté une communication sont invités à remettre leur manuscrit en fin de séance au Secrétaire Général. A défaut, ces manuscrits seront envoyés à son adresse ci-dessus, dans les quinze jours suivant la séance. Passé ce délai, la publication sera ajournée à une date indéterminée.

Les corrections d'auteurs sur épreuves devront obligatoirement être faites dans les huit jours suivant la réception des épreuves, faute de quoi ces corrections seront faites d'office par la Rédaction, sans qu'il soit admis de réclamations. Les demandes de tirés à part non formulées en tête des manuscrits ne pourront être satisfaites ultérieurement.

Les clichés sont à la charge des auteurs.

Dans la mesure des possibilités financières, 25 tirés à part gratuits sont offerts aux auteurs. Des exemplaires payants supplémentaires peuvent être obtenus. S'adresser au Trésorier ou au Secrétaire Général.

Il n'y a pas de limitation de longueur ni du nombre des publications. Toutefois, les publications des travaux originaux restent subordonnées aux possibilités financières de la Société. En dernier lieu, le Conseil est souverain.

Il est précisé une nouvelle fois, en outre, que les observations, théories, opinions, émises par les auteurs dans les publications de l'Académie & Société Lorraines des Sciences, n'impliquent pas l'approbation de notre Groupement. La responsabilité des écrits incombe à leurs auteurs seuls.

Toute publication en tant que « note » doit être présentée par un membre titulaire de l'Académie. Le « comité » de lecture pour l'agrément d'impression est constitué par les membres titulaires d'une section.

BULLETIN

des ACADEMIE & SOCIETE
LORRAINES DES SCIENCES

(Ancienne Société des Sciences de Nancy)
(Fondée en 1828)

BIBLIOTHEQUE INTERUNIVERSITAIRE DE NANCY
SECTION SCIENCES

Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY
FRANCE

S O M M A I R E

	Pages
KELLER J.M. HEUSSER S., HILBERT L., COLIN S., et DAUCA M. Les peroxysomes dans leur environnement cellulaire lors de l'ontogenèse intestinale du poulet: étude cytochimique et biochimique.	75
MAUBEUGE P.L. Ammonites rares ou nouvelles du Portlandien de l'auréole Est du Bassin de Paris.	97
CHERRORET G., BURNEL D. et LEHR P.R. Effet d'une intoxication IP de AlCl ₃ chez le rat jeune et adulte: aluminémie, élimination urinaire et activité de la cholineacétyltransférase cérébrale.	123

LES PEROXYSOMES DANS LEUR ENVIRONNEMENT CELLULAIRE LORS DE L'ONTOGENÈSE INTESTINALE DU POULET : ÉTUDE CYTOCHIMIQUE ET BIOCHIMIQUE

Jean-Marie KELLER, Sandrine HEUSSER, Lysiane HILBERT, Suzanne
COLIN et Michel DAUÇA

Laboratoire de Biologie cellulaire du Développement
Université Henri Poincaré-Nancy I, Faculté des Sciences
B.P. 239, 54 506 Vandœuvre-lès-Nancy cedex

Note acceptée pour publication le 05 juin 1996

RÉSUMÉ

Les peroxysomes sont étudiés lors de l'ontogenèse intestinale du Poulet par microscopie électronique à transmission et les activités de certaines enzymes caractéristiques sont dosées.

Une augmentation du nombre de ces organites est notée au cours de la différenciation des cellules épithéliales de l'intestin ; il en va de même pour les mitochondries. Parallèlement, la localisation intracellulaire des peroxysomes et des mitochondries évolue : d'une position principalement basale au début du développement, ils atteignent l'apex des cellules épithéliales à l'éclosion. Par contre, peu de variations sont relevées concernant la taille de ces organites.

Les activités de la catalase et de l'enzyme bifonctionnelle peroxysomiques sont détectées dès le cinquième jour du développement embryonnaire. Elles augmentent avec l'âge du tissu, très précocement pour la catalase et plus tardivement pour l'enzyme bifonctionnelle. L'activité de la D-proline oxydase n'apparaît, quant à elle, qu'au terme du développement.

Mots clés : peroxysome, Poulet, ontogenèse, intestin.

Communication présentée à la séance du 09 mai 1996

Peroxisomes throughout chick intestinal ontogeny : a cytochemical and biochemical study

SUMMARY

Peroxisomes are studied in the developing chick intestine by electron microscopy and activities of peroxisomal enzymes are measured.

Epithelial cell differentiation is accompanied by an increase in frequency of peroxisomes and mitochondria. Simultaneously, these organelles intracellular localization varies : they are revealed in the basal domain of epithelial cells in the earliest stages and in the apical part of differentiated cells at the end of development. The mean size of peroxisomes and mitochondria does not significantly changes throughout the intestinal ontogeny.

Catalase and peroxisomal β -oxidation system are expressed in intestinal endodermal cells as soon as day five *in ovo*. D-proline oxidase is not found in intestinal homogenate before seventeenth day. Catalase, bifunctional enzyme and D-proline oxidase activities increase with the age of the tissue.

Key words : peroxisome, chick, development, intestine

INTRODUCTION

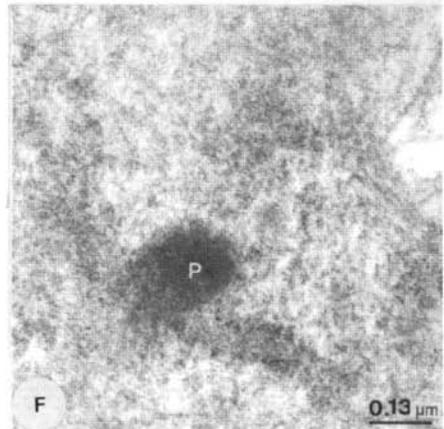
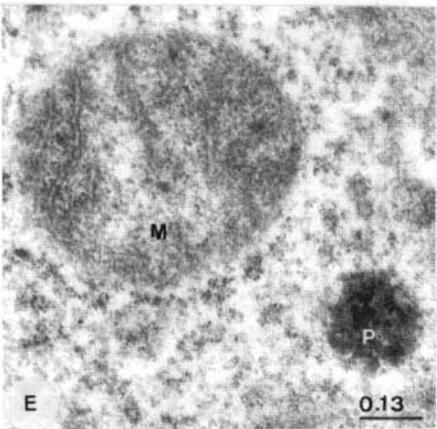
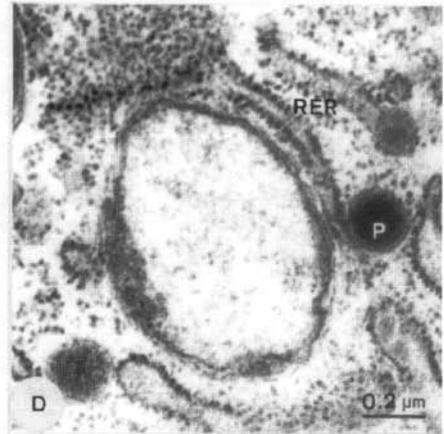
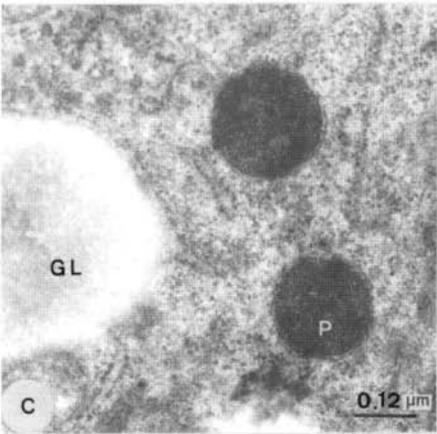
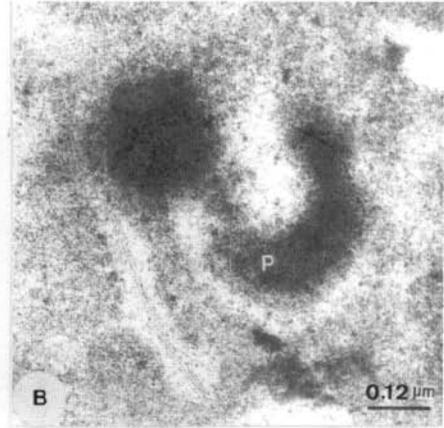
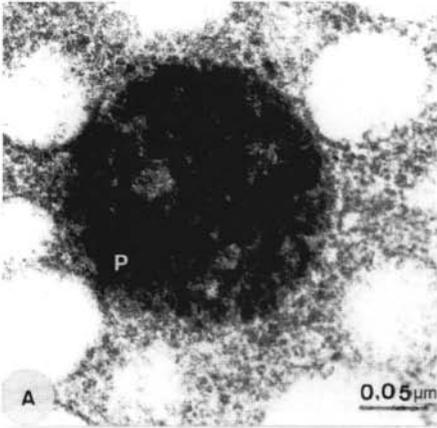
Les peroxysomes, organites constitutifs des cellules eucaryotes, sont détectés pour la première fois en 1954 dans les cellules épithéliales des tubules rénaux par RHODIN. Ils sont ensuite signalés successivement dans les hépatocytes, de nombreuses cellules aérobies et enfin dans toutes les cellules eucaryotes, qu'elles soient animales ou végétales (ROUILLER et BERNHARD, 1956 ; BÖCK *et al.*, 1980).

Ces organites se présentent le plus souvent comme de petites structures sphériques ou ovoïdes dont le diamètre moyen est de 500 nm mais peuvent également avoir une forme allongée qui reflète alors leur organisation en réseau (planche IA et IB). Limités par une membrane, ils possèdent une matrice granuleuse opaque aux électrons (planche IA et IC) et sont fréquemment associés à d'autres organites (réticulum endoplasmique granuleux - planche ID et IF, mitochondries - planche IE, gouttelettes lipidiques - planche IC).

Planche I : Caractéristiques ultrastructurales des peroxysomes

A. Peroxysome sphérique révélé par cytochimie. B. Peroxysome de forme allongée. C. Peroxysome à proximité d'une gouttelette lipidique. D. Peroxysome au contact du réticulum endoplasmique rugueux. E. Peroxysome associé à une mitochondrie. F. Peroxysome en relation avec du réticulum endoplasmique rugueux.

Légende : GL = gouttelette lipidique ; M = mitochondrie ; P = peroxysome ; RER = réticulum endoplasmique rugueux.



Les peroxysomes participent activement au métabolisme cellulaire. En effet, ils sont impliqués dans le métabolisme des lipides, le catabolisme des purines, des acides aminés et des polyamines. Ils contribuent aussi à la néoglucogénèse, à la thermogénèse et au métabolisme des alcools (pour revue, KELLER *et al.*, 1992 ; KELLER *et al.*, 1993). Parmi les enzymes prenant part à ces voies métaboliques, de nombreuses oxydases sont signalées. Elles consomment de l'oxygène moléculaire et produisent du peroxyde d'hydrogène toxique pour la cellule. Ce dernier est immédiatement pris en charge par une catalase qui en réalise la dégradation (DE DUVE *et al.*, 1955).

Chez les Vertébrés supérieurs, et notamment les Mammifères, de nombreuses études concernant l'évolution des peroxysomes en relation avec la différenciation cellulaire ont été conduites. Ainsi, KELLER *et al.* (1992, 1993) montrent que la fréquence, la taille et l'activité métabolique des peroxysomes augmentent lors de la différenciation des cellules épithéliales intestinales. Par contre, ces paramètres diminuent significativement dans le cas des cellules cancéreuses (EL BOUHTOURY *et al.*, 1992 ; KELLER *et al.*, 1992 ; KELLER *et al.*, 1993).

L'étude présente a pour objectif de préciser ces données, par la caractérisation des peroxysomes de l'épithélium intestinal de Poulet et l'analyse de leur évolution lors du développement embryonnaire. Divers aspects sont envisagés : l'ultrastructure (position, association avec d'autres organites, morphologie et fréquence) et la biochimie (activité des enzymes principales).

MATÉRIELS ET MÉTHODES

. Modèle biologique

Les embryons de Poulet servant à cette étude proviennent d'un élevage de la région nancéenne. Leurs stades de développement sont évalués d'après la table définie par FREEMAN et BRACEGIRDLE (1967).

Après dissection, les intestins sont prélevés, ouverts longitudinalement, lavés dans une solution de NaCl à 9 ‰ et traités selon les protocoles décrits ci-dessous.

. Histologie classique

Les échantillons sont fixés à l'aide du liquide de Clarke pendant 2 heures à 4°C. Ils sont ensuite déshydratés par passage dans des bains d'alcool de concentrations croissantes (70°, 90°, 100°) et inclus dans des blocs de paraffine. Des coupes transversales de 6 µm d'épaisseur sont réalisées et collées sur lame. Après déparaffinage et réhydratation, elles sont colorées à l'hématoxyline et au bleu alcyan, puis montées entre lame et lamelle. L'observation est effectuée au microscope Reichert Polyvar.

. Cytochimie ultrastructurale

Les pièces sont fixées par une solution de glutaraldéhyde à 2,8 % dans un tampon cacodylate 0,1 M pH 7,4 pendant 1 heure. Après plusieurs lavages et conformément à la technique de NOVIKOFF *et al.* (1972), elles sont incubées dans une solution contenant de la diaminobenzidine pendant 2 heures à 37°C. De cette façon, les peroxysomes sont révélés grâce à leur activité catalasique. Des témoins négatifs sont préparés parallèlement par addition de 0,2 M de 3-amino-1, 2, 4 triazole, inhibiteur de la catalase, au milieu d'incubation. Après plusieurs lavages par le tampon cacodylate, elles sont post-fixées au tétraoxyde d'osmium à 1% pendant 30 minutes et déshydratées dans des bains successifs d'alcool de concentrations croissantes. Après un bain d'oxyde de propylène, elles sont incluses dans une résine Araldite/Epon (v/v). Lorsque la polymérisation est effective, des coupes semi-fines (0,5 à 1 µm) et ultra-fines (60 à 80 nm) sont effectuées à l'aide d'un ultramicrotome OMU2 (Reichert S.A., Wien, Austria). L'observation des premières est réalisée au microscope à contraste de phase (Zeiss), tandis que les secondes sont contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb (REYNOLDS, 1963) puis observées au microscope électronique à transmission Jeol 200CX.

. Dosages des enzymes peroxysomiques

- Préparation des homogénats

Les intestins de plusieurs animaux de même stade sont mélangés, pesés et immédiatement stockés dans l'azote liquide. Au moment de l'utilisation, ils sont broyés dans une solution de Triton X-100 à 1 % et soumis à une sonication de 2 minutes de manière à solubiliser la catalase et les oxydases peroxysomiques. Grâce à trois centrifugations de 5 minutes et 8000 g, les débris cellulaires et les lipides sont éliminés. Le surnageant limpide retient 90 % de l'activité des enzymes peroxysomiques étudiées, en conséquence il est utilisé pour leur dosage. Les différentes étapes décrites ci-dessus sont réalisées à une température comprise entre 0 et 4°C.

- Dosage des protéines

La quantité de protéines présentes dans chaque homogénat est mesurée selon la technique de BRADFORD (1976), en utilisant le kit commercialisé par BioRad (Richmond, United States of America) et une solution d'albumine sérique bovine pour la gamme étalon.

- Activité de la catalase

Elle est évaluée selon la méthode spectrophotométrique de BAUDHUIN *et al.* (1964), par mesure de la consommation de peroxyde d'hydrogène à 400 nm.

Dans un volume total de 1,060 ml, le milieu réactionnel contient 21,2 mM de tampon imidazole-HCl pH 7,4, 1 % d'albumine sérique bovine (p/v),

0,02 % de Triton X-100 (v/v) et 263 mM de peroxyde d'hydrogène. Pour les tests, l'homogénat est ajouté au milieu réactionnel et l'ensemble est placé à 0°C pendant 3 minutes. La réaction est alors arrêtée par addition de 600 µl de sulfate de titane (Touzart et Matignon, Paris, France) dans H₂SO₄ 2 N et la quantité de peroxyde d'hydrogène restante est déterminée par l'extinction à 400 nm du sulfate de peroxytitanium de couleur jaune. Simultanément, la concentration initiale de peroxyde d'hydrogène est mesurée, à partir d'un mélange de même composition mais n'ayant pas subi d'incubation.

L'activité de la catalase est exprimée en unités Baudhuin (BU) par minute et par milligramme de masse fraîche (activité totale) ou par microgramme de protéines (activité spécifique), une unité d'activité étant définie comme la quantité d'enzyme provoquant la dégradation du substrat, en 1 minute, dans un volume de 50 ml.

- Activité de l'enzyme de la β oxydation peroxysomique

L'oxydation des acides gras insensible au KCN (β oxydation peroxysomique) peut être suivie par spectrophotométrie (HRYB and HOGG, 1979) en mesurant la réduction du NAD dépendante des acyl-coenzymes A, en présence de KCN (inhibition de la réoxydation mitochondriale du NADH) et à 340 nm. Dans les peroxysomes, les activités de l'énoyl-coenzyme A hydratase et de la β-hydroxy-acyl-coenzyme A déshydrogénase sont le fait d'une enzyme bifonctionnelle étudiée ici.

Le mélange réactionnel contient, en 1 ml, 50 mM de tampon phosphate à pH 7,4, 50 µM de FAD, 200 µM de NAD, 100 µM de coenzyme A-SH, 12 mM de dithiothréitol, 1 mM de KCN, 0,025 % de Triton X-100 (v/v) et 0,2 % d'albumine sérique bovine (les co-facteurs de la réaction sont fournis par Sigma Chemical Co, Saint-Louis, United States of America). Le substrat choisi est le lauroyl-coenzyme A (C12) à la concentration de 50 µM, et la température de réaction 30°C.

Le coefficient d'extinction molaire employé est de 6,22 mol/l/cm. Les activités sont exprimées en nanomoles de NADH formé par minute et par milligramme de masse fraîche (activité totale) ou par microgramme de protéines (activité spécifique).

- Activités de la D-proline oxydase et de l'urate oxydase

Les activités de ces oxydases peroxysomiques sont estimées par mesure de la production de peroxyde d'hydrogène dont elles sont responsables, selon la méthode décrite par ALLAIN *et al.* (1974).

Le milieu réactionnel contient, dans un volume total de 1 ml, 50 mM de phosphate de potassium (pH 8), 82 µM de 4-aminoantipyrine (Prolabo, Paris, France), 1,06 mM de phénol (Merck, Darmstadt, Deutschland), 4 IU de peroxydase de raifort (Sigma Chemical Co), 10 µM de FAD pour la D-proline oxydase ou de FMN pour l'urate oxydase (Boehringer Mannheim, Deutschland) et l'extrait. La réaction est réalisée à 30°C et débute avec l'addition du substrat (D-proline à 50 mM pour la D-proline oxydase et acide urique à 10 mM pour

l'urate oxydase). La formation de peroxyde d'hydrogène est suivie par mesure de l'absorption à 500 nm, pour les tests et les témoins correspondants, sans enzyme ou sans substrat.

Pour le complexe phénol/4-aminoantipyrine, le coefficient d'extinction de 48.10^8 mol/l/cm est retenu. Les activités des oxydases sont exprimées en nanomoles de peroxyde d'hydrogène produit par minute et par milligramme de masse fraîche (activité totale) ou par microgramme de protéines (activité spécifique).

. Statistiques

Trois embryons de chaque stade, au moins, sont utilisés pour chaque étude.

Les surfaces des cellules épithéliales et les localisations intracellulaires des organites (peroxysomes et mitochondries) sont estimées sur photographie, à partir de 15 cellules. De même, les diamètres des peroxysomes et des mitochondries sont mesurés sur photographie, sur la base de 40 organites. Les nombres d'organites, quant à eux, sont évalués à partir de 6 cellules lors de l'observation au microscope électronique à transmission. Pour ce qui concerne les gouttelettes lipidiques, leur quantité est déterminée au microscope à contraste de phase, pour des surfaces épithéliales de 16mm^2 .

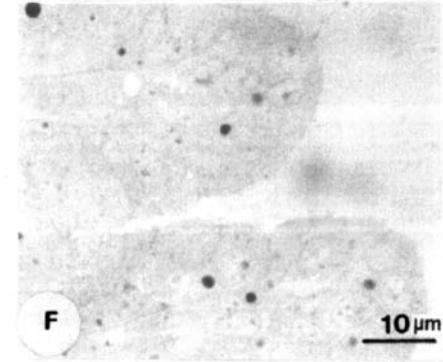
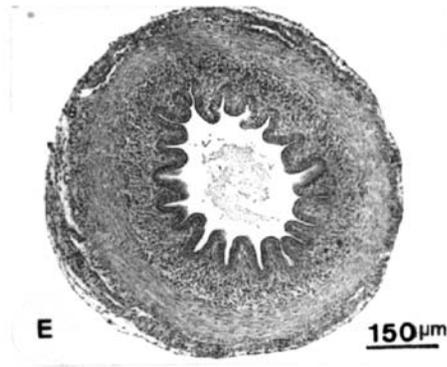
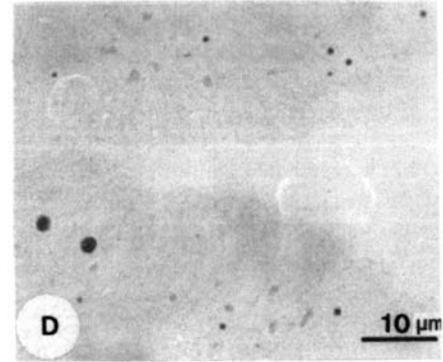
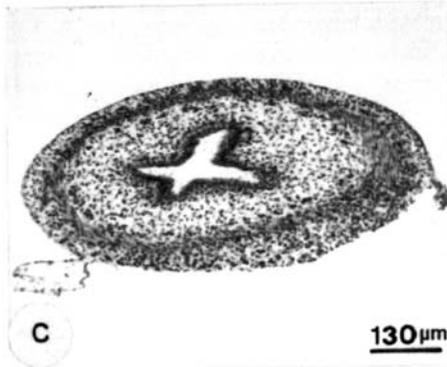
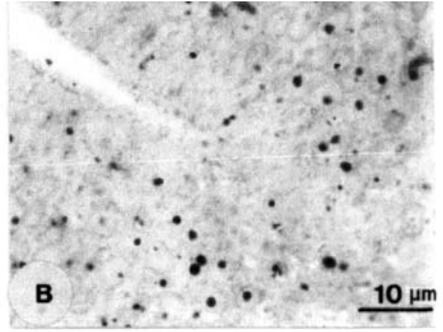
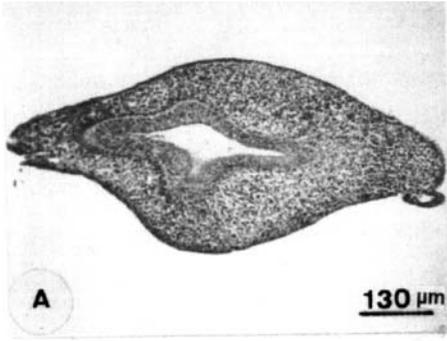
Tous les résultats sont présentés sous forme de moyennes accompagnées de leur écart type.

RÉSULTATS

. Caractéristiques structurales et ultrastructurales de l'ontogenèse intestinale

L'embryon âgé de 5 jours possède un intestin bien individualisé, de masse faible (0,55mg en moyenne) mais dont le prélèvement est relativement aisé. Il est comprimé dorso-ventralement et présente, latéralement, des zones aplaties (planche IIA). Sa lumière en forme de croix et de faible taille (environ $960\mu\text{m} \times 460\mu\text{m}$), est bordée par un épithélium pluristratifié reposant sur d'épaisses tuniques conjonctives et musculaires. Examinées au microscope électronique à transmission, les cellules épithéliales apparaissent de taille moyenne ($44,0 \pm 5,5\mu\text{m}^2$, figure 1), peu allongées et dépourvues de microvillosités. Cependant, quelques rares projections irrégulières hérissent leur surface apicale (planche IIIA). Des caractéristiques semblables sont observées pour l'intestin des embryons de 7 jours.

Après 10 jours d'incubation, la masse de l'intestin embryonnaire atteint $14,2 \pm 4,2\text{mg}$. En coupe transversale, l'organe est plus ovale et l'épaisseur des tuniques extra-épithéliales diminue (planche IIC). Par contre, la surface des cellules épithéliales s'accroît ($102,0 \pm 17,9\mu\text{m}^2$, figure 1) principalement du fait d'une augmentation de leur hauteur. Parallèlement, la membrane plasmique



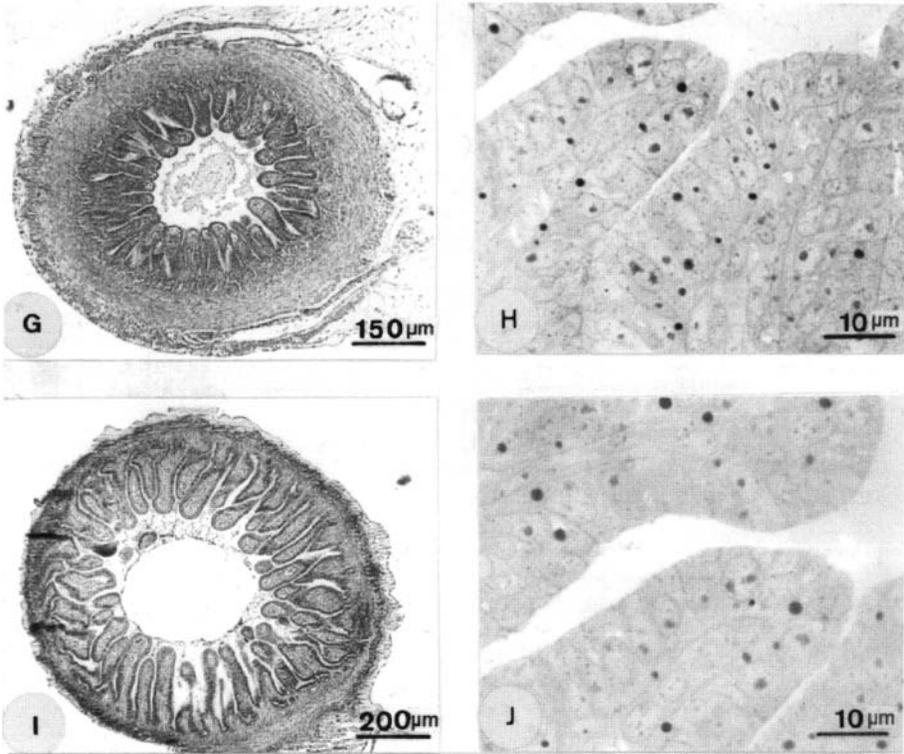


Planche II : Ontogenèse de l'intestin de Poulet, caractéristiques histologiques et recherche des gouttelettes lipidiques

A, C, E, G et I : Coupes transversales observées au microscope photonique.
 B, D, F, H et J : Coupes semi-fines observées au microscope à contraste de phase.

A et B. Embryon de 5 jours : l'intestin est comprimé dorso-ventralement et sa lumière en forme de croix est réduite.

C et D. Embryon de 10 jours : l'intestin devient ovale et les zones extra-épithéliales s'amincissent.

E et F. Embryon de 14 jours : l'intestin prend une forme circulaire et des villosités se développent autour de la lumière élargie.

G et H. Embryon de 17 jours : le nombre de villosités augmente, les tuniques conjonctive et musculaire sont plus fines.

I et J. Embryon de 19 jours : les caractéristiques majeures de l'intestin du poussin sont en place.

apicale de ces cellules commence à former de nombreux replis au contact de la lumière qui s'est élargie.

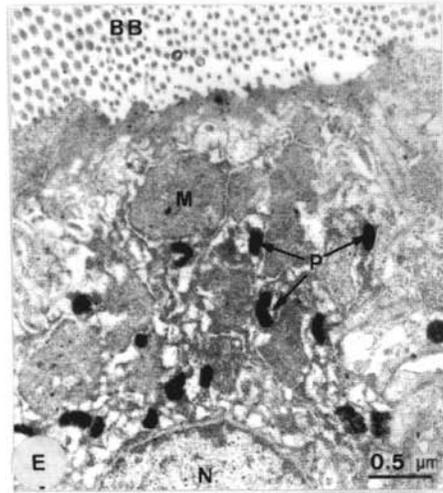
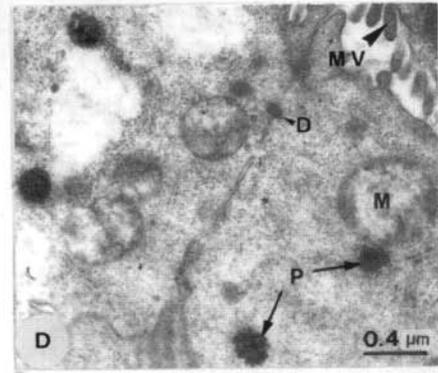
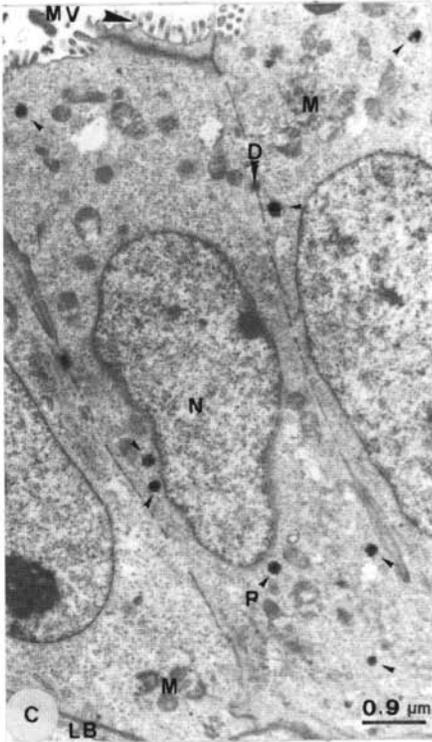
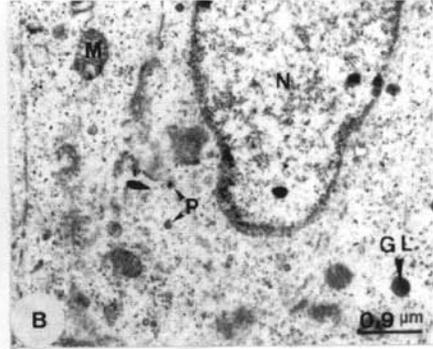
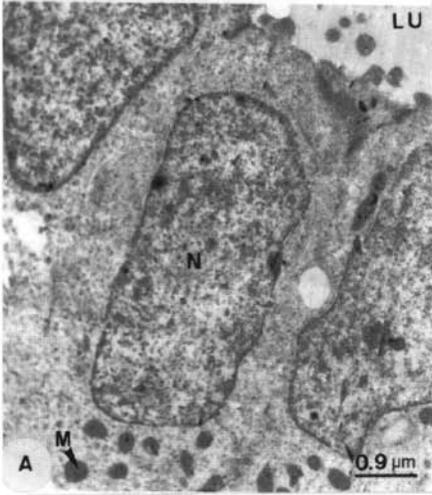
Une masse de $94,4 \pm 20,5\text{mg}$, une forme circulaire et le développement de villosités épithéliales caractérisent l'intestin de l'embryon de 14 jours (planche IIE). A ce stade, les cellules de l'épithélium, plus petites ($24,0 \pm 5,5\mu\text{m}^2$, figure 1), s'associent les unes aux autres par des jonctions serrées (tight junctions) et des jonctions d'ancrage (belt desmosomes et desmosomes), tout en présentant quelques microvillosités (planche IIIC).

Pour les stades plus tardifs (à 17 et 19 jours d'incubation), l'augmentation de la masse intestinale se poursuit ($209,58 \pm 36,80\text{mg}$ et $576,83 \pm 145,70\text{mg}$, respectivement). Les villosités, désormais bien organisées et recouvertes d'un épithélium typiquement prismatique, entourent la lumière large, et les structures extra-épithéliales se sont encore affinées (planche IIG et I). La surface des cellules épithéliales passe de $22,0 \pm 4,5\mu\text{m}^2$ pour l'embryon de 17 jours à $46,0 \pm 5,5\mu\text{m}^2$ pour celui de 19 jours (figure 1), mais dans chaque cas, elles sont différenciées et arborent une bordure en brosse apicale caractéristique (planche IIIE). L'organisation de l'intestin est alors semblable à celle observée au moment de l'éclosion.

Planche III : Ultrastructure de l'épithélium intestinal au cours du développement embryonnaire

- A.** A 5 jours d'incubation, les cellules présentent quelques expansions apicales et des peroxyosomes peu nombreux, à leur base, associés à des mitochondries.
- B.** Après 10 jours d'incubation, l'organisation est la même.
- C.** A 14 jours, les cellules développent des complexes de jonctions et quelques microvillosités, les peroxyosomes et mitochondries sont plus nombreux à l'apex des cellules.
- D.** Au 17^{ème} jour de développement, les cellules sont différenciées et arborent une bordure en brosse. Les peroxyosomes et mitochondries sont principalement localisés à l'apex des épithéliocytes.
- E.** Après 19 jours d'incubation et à l'éclosion, des observations similaires sont réalisées.

Légende : BB = bordure en brosse ; D = desmosome ; GL = gouttelette lipidique ; LB = lame basale ; LU = lumière ; M = mitochondrie ; MV = microvillosité ; N = noyau ; P = peroxyosome.



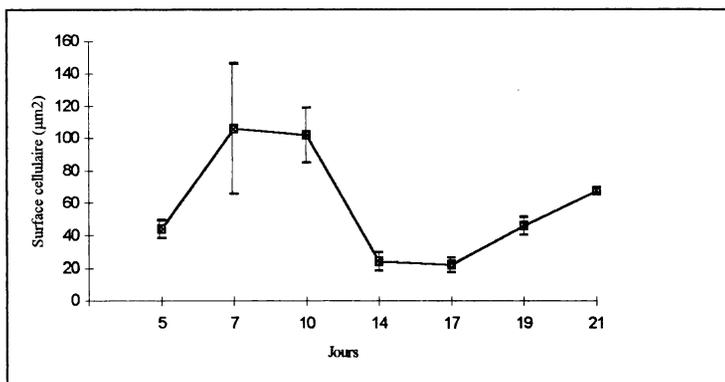


Figure 1 : Evolution de la surface des cellules épithéliales lors de l'ontogenèse intestinale du Poulet

. Nombre et densité des peroxyosomes, mitochondries et gouttelettes lipidiques

Les peroxyosomes et les mitochondries des cellules épithéliales intestinales peuvent être visualisés sur des coupes ultra-fines observées au microscope électronique à transmission à partir du 5^{ème} jour de la vie embryonnaire jusqu'à l'éclosion. Il en va de même pour les gouttelettes lipidiques, étudiées sur des coupes semi-fines, au microscope à contraste de phase.

Le nombre de peroxyosomes augmente régulièrement pendant les premières phases du développement intestinal. Il atteint une valeur maximale chez l'embryon de 14 jours, à 490 ± 70 peroxyosomes pour 100 cellules, ce qui représente environ cinq fois plus d'organites qu'au 5^{ème} jour d'incubation. Une légère diminution est ensuite notée, jusqu'à 370 ± 90 peroxyosomes pour 100 cellules, juste avant l'éclosion (figure 2A). Dans le cadre de cette étude, chez le Poulet nouvellement éclos, l'intestin est subdivisé en quatre sections numérotées de 1 (intestin antérieur) à 4 (intestin postérieur). Le nombre de peroxyosomes pour 100 cellules varie de 340 ± 260 , au niveau de la section 4, à 1120 ± 545 pour la section 2 ; il présente donc une réduction le long du tube digestif (figure 2B). Rapporté à la surface cellulaire, le nombre de peroxyosomes évolue de façon similaire lors de l'ontogenèse intestinale et chez l'animal à l'éclosion (figure 2C et D).

Parallèlement, le nombre de mitochondries dans les cellules épithéliales s'accroît de manière significative entre le 7^{ème} et le 10^{ème} jour de développement, atteignant 1425 ± 790 organites pour 100 cellules. Après une petite décroissance aux stades 14 et 17 jours (avec respectivement 970 ± 590 et 950 ± 510 mitochondries pour 100 cellules), une valeur élevée est à nouveau obtenue

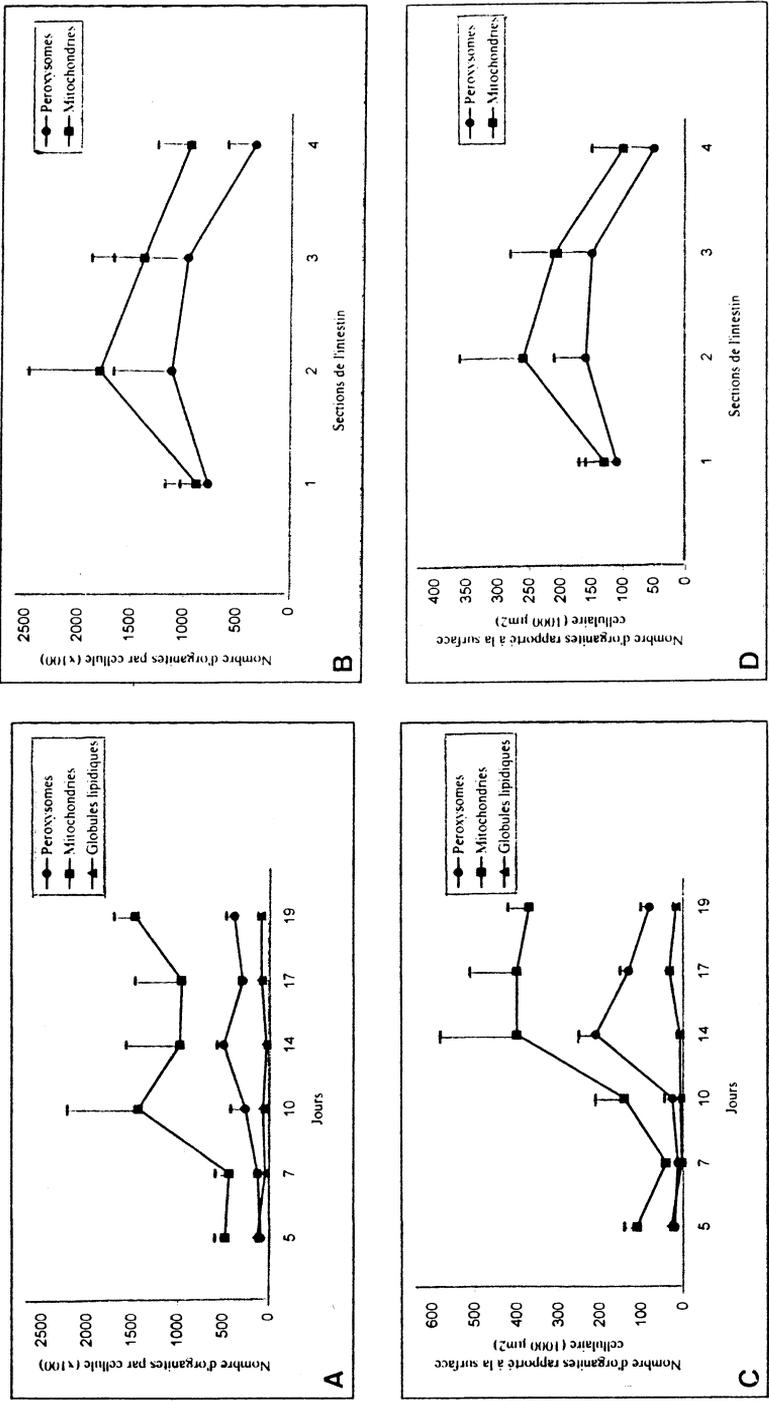


Figure 2 : Nombre et densité des peroxyssomes, mitochondries et gouttelettes lipidiques, chez l'embryon de Poulet et le poussin. **A.** Evolution du nombre de peroxyssomes, mitochondries et gouttelettes lipidiques au cours de l'ontogenèse intestinale. **B.** Nombre de peroxyssomes et mitochondries dans les sections intestinales du poussin. **C.** Evolution de la densité de peroxyssomes, mitochondries et gouttelettes lipidiques au cours de l'ontogenèse intestinale. **D.** Densité de peroxyssomes et mitochondries dans les sections intestinales du poussin.

(figure 2A). Chez le poussin, les cellules de la seconde section possèdent des mitochondries plus nombreuses que celles des autres sections (figure 2B). En termes de densité de mitochondries, les mêmes résultats sont observés, sauf pour l'évolution entre les stades 14 et 19 jours : la densité mitochondriale reste stable, avec environ 400 organites pour 1000 μm^2 de surface cellulaire (figure 2C et D).

Les gouttelettes lipidiques sont bien moins abondantes, en nombre comme en densité, que les peroxyosomes et les mitochondries. Elles sont présentes à raison de 126 ± 9 pour 100 cellules, au plus, chez l'embryon de 5 jours (figure 2A). Peu de modifications les concernant surviennent au cours du développement, seule une légère diminution de leur nombre est notée aux stades 7, 10 et 14 jours. De la même manière, les différences quantitatives entre les sections de l'intestin du poussin sont très faibles. Du fait de la relative stabilité du nombre et de la densité des gouttelettes lipidiques, comparée aux évolutions importantes relevées pour les peroxyosomes et les mitochondries, les études ultérieures se limitent aux deux organites qui néanmoins consomment les réserves lipidiques stockées dans les gouttelettes.

. Diamètre des peroxyosomes et des mitochondries

Dans le but d'apporter des précisions à l'étude des peroxyosomes et des mitochondries de l'épithélium intestinal au cours de l'ontogenèse, la mesure du diamètre de ces organites est entreprise.

Chez l'embryon âgé de 5 jours, les quelques peroxyosomes observés sont de forme arrondie, et présentent un diamètre moyen de $0,33 \pm 0,13\mu\text{m}$, les variations étant de grande amplitude (de $0,18$ à $0,56\mu\text{m}$, figure 3). Leur matrice est finement granuleuse et très opaque aux électrons du fait de la réaction à la diaminobenzidine. Deux jours plus tard, le diamètre de ces organites diminue considérablement ($0,11 \pm 0,02\mu\text{m}$) mais est plus uniforme (figure 3). Enfin, à partir du 10^{ème} jour d'incubation et jusqu'à l'éclosion, la taille des peroxyosomes se stabilise avec un diamètre évoluant autour de la valeur moyenne de $0,22\mu\text{m}$ (figure 3). La forme de ces structures possédant une activité catalasique demeure ronde au stade 10 jours, mais l'intensité de la réaction cytochimique devient moins régulière : certains organites apparaissent très opaques alors que d'autres le sont moins (planche IIIB). Parfois, la matrice prend également un aspect flocculeux. Au 19^{ème} jour d'incubation et à l'éclosion, des peroxyosomes de formes plus variées se développent, ainsi des structures allongées ou vermiformes sont fréquemment observées (planche IIIE). L'hétérogénéité de la réaction à la diaminobenzidine se maintient.

Chez le poussin, un diamètre légèrement plus important est noté pour les peroxyosomes de la deuxième section de l'intestin ($0,33 \pm 0,07\mu\text{m}$) par comparaison aux autres sections ($0,26 \pm 0,06\mu\text{m}$ dans l'intestin antérieur et $0,19 \pm 0,03\mu\text{m}$ dans l'intestin postérieur, figure 4).

Les mitochondries des cellules épithéliales intestinales, généralement de forme arrondie ou ovale, présentent un diamètre moyen stable au début du développement, compris entre $0,32 \pm 0,09\mu\text{m}$ au 14^{ème} jour d'incubation et $0,40 \pm 0,13\mu\text{m}$ au 10^{ème} jour (figure 3). Il s'accroît de manière importante après 17 jours de vie embryonnaire, atteignant la valeur de $0,66 \pm 0,24\mu\text{m}$, mais cette augmentation s'accompagne d'une variabilité plus grande (figure 3).

A l'éclosion, le diamètre mitochondrial moyen varie de $0,34 \pm 0,07\mu\text{m}$ dans la seconde section de l'intestin à $0,67 \pm 0,30\mu\text{m}$ dans la troisième, les première et quatrième sections présentant des valeurs semblables ($0,48 \pm 0,10\mu\text{m}$ et $0,52 \pm 0,10\mu\text{m}$, respectivement, figure 4).

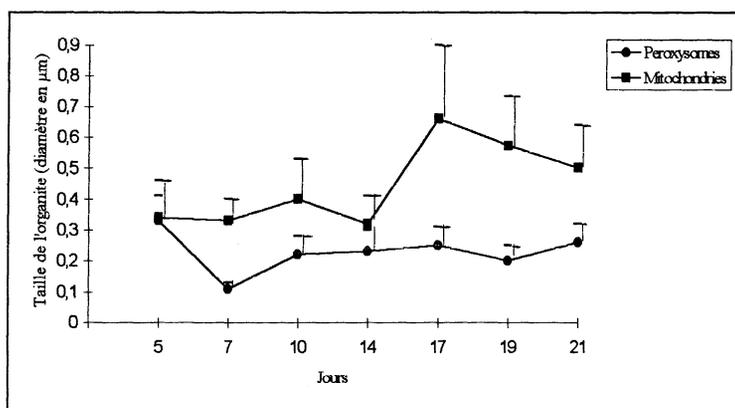


Figure 3 : Evolution de la taille des peroxysomes et des mitochondries au cours de l'ontogenèse intestinale du Poulet

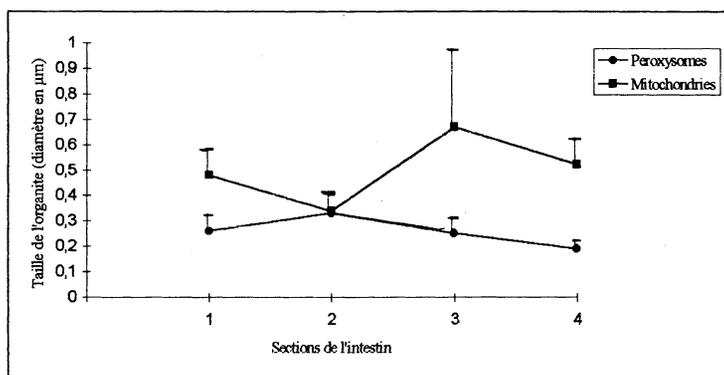


Figure 4 : Taille des peroxysomes et mitochondries dans les différentes sections de l'intestin du poussin

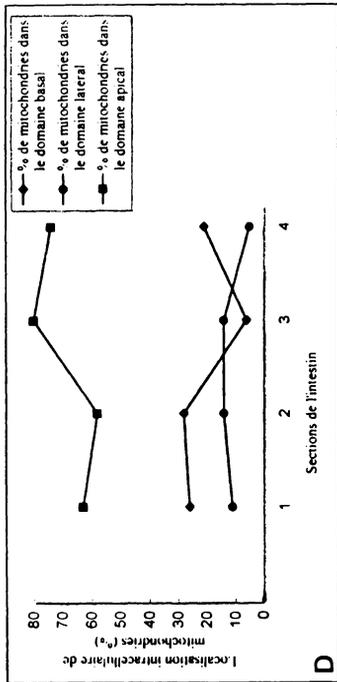
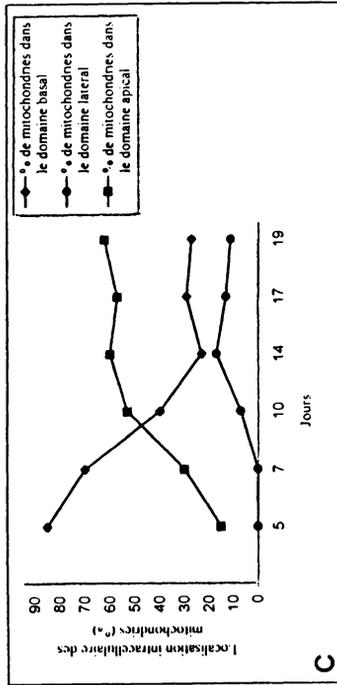
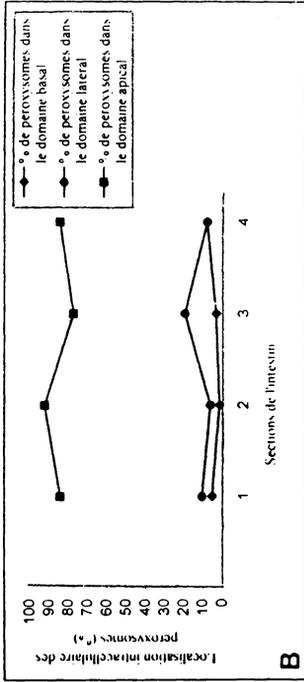
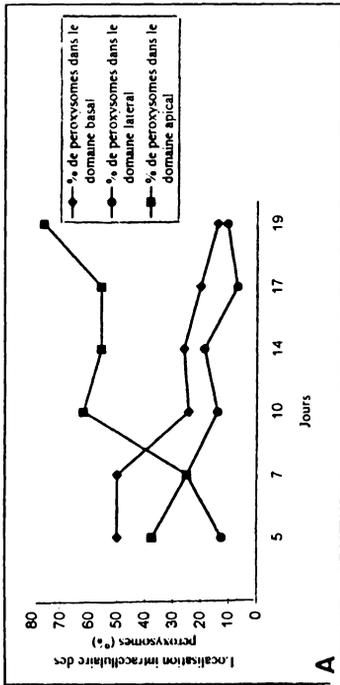


Figure 5 : Localisation intracellulaire des peroxysomes et des mitochondries, chez l'embryon de Poulet et le poussin. A. Evolution de la localisation des peroxysomes au cours de l'ontogenèse intestinale. B. Localisation des peroxysomes selon les sections de l'intestin de poussin. C. Evolution de la localisation des mitochondries au cours de l'ontogenèse intestinale. D. Localisation des mitochondries selon les sections de l'intestin de poussin.

. Localisation des peroxysomes et des mitochondries

Des modifications de la répartition intracellulaire des peroxysomes et mitochondries peuvent être observées au cours de l'ontogenèse de l'épithélium intestinal.

Au 5^{ème} jour de développement, 50,0% des peroxysomes sont localisés dans le domaine basal des cellules épithéliales alors que 12,5% d'entre eux sont en position latérale et 37,5% à l'apex de la cellule (figure 5A, planche IIIA). Des associations spécifiques avec d'autres organites sont par ailleurs notées. La quantité de peroxysomes dans le domaine basal décroît régulièrement à partir du stade 7 jours et jusqu'à l'éclosion (elle passe de 50,0 à 13,8%) alors que le pourcentage de ces organites dans le domaine apical augmente globalement : après une légère diminution au 7^{ème} jour, il atteint 62% au 10^{ème} jour et 75,9% au 19^{ème} (figure 5A, planche IIIE). Dans les régions latérales, le taux de peroxysomes oscille entre 6,7% (stade 17) et 25,0% (stade 7). Au moment de l'éclosion, les peroxysomes sont principalement observés dans la région apicale des cellules épithéliales (75,9%) et sont rares au niveau des domaines basal (13,8%) et latéral (10,3%, figure 5A). Des relations spatiales entre peroxysomes et mitochondries s'établissent à partir du 7^{ème} jour d'incubation, et plus tardivement elles impliquent le réticulum endoplasmique (19^{ème} jour).

Chez le poussin, la plupart des peroxysomes sont localisés à l'apex des cellules épithéliales quelle que soit la section considérée (figure 5B). Toutefois, le taux de peroxysomes apicaux est plus élevé dans la seconde section (92,4%) et plus faible dans la troisième (77,4%). Ces organites sont rares dans le domaine basal (1,5 à 7,8%) et légèrement plus abondants dans les zones latérales (6,1 à 19,4%), surtout dans la troisième section (figure 5B).

Concernant les mitochondries, la distribution intracellulaire est plus marquée au début du développement : au stade 5 jours, 85% de ces organites sont présents dans le domaine basal contre 15% dans la région apicale, alors qu'aucun n'est observé dans les zones latérales (figure 5C, planche IIIA). Au-delà du 7^{ème} jour d'incubation, le taux de mitochondries apicales augmente considérablement pour atteindre un maximum juste avant l'éclosion (62% au 19^{ème} jour). Cette migration des mitochondries vers l'apex des cellules épithéliales s'accompagne d'une diminution de leur pourcentage dans le domaine basal, il se stabilise autour d'une moyenne de 26% à partir du stade 14 jours. Les premières mitochondries apparaissent dans le domaine latéral au 10^{ème} jour de développement et leur taux demeure relativement constant jusqu'à l'éclosion (14% en moyenne, figure 5C).

Chez le Poulet nouvellement éclos, la plupart des mitochondries conservent leur localisation apicale, alors que le domaine basal est plus riche en ces organites que le domaine latéral (figure 5D). Cependant, pour les sections 3 et 4, les taux de mitochondries apicales (80 et 74% respectivement) sont plus

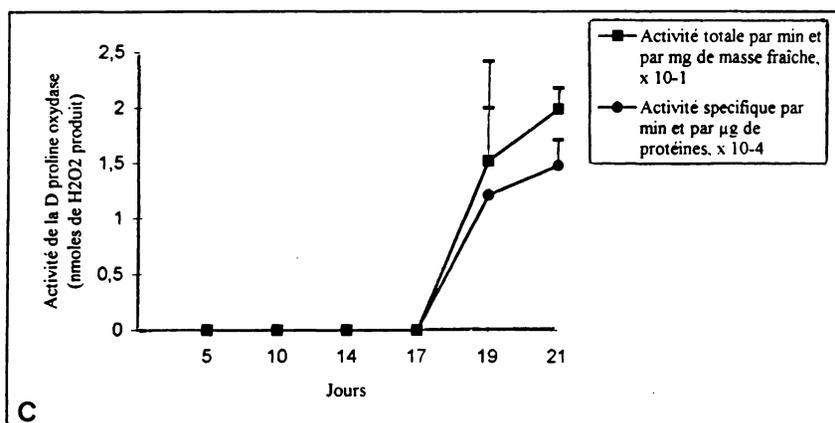
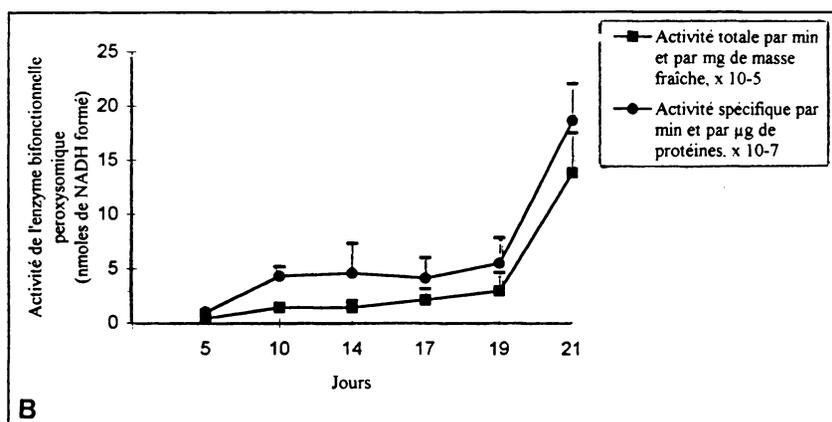
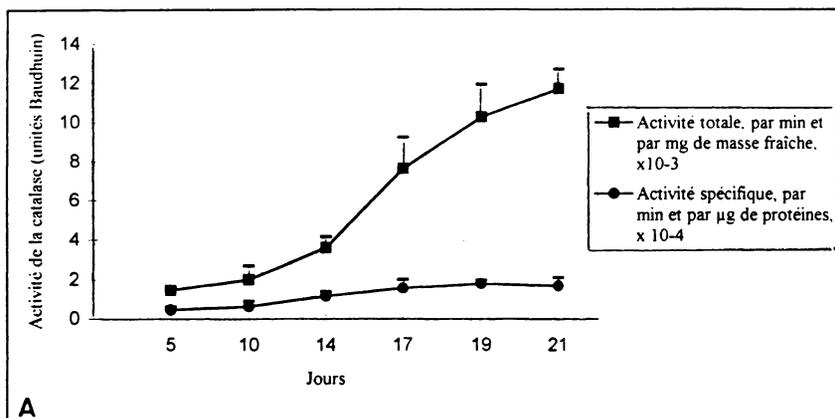


Figure 6 : Evolution des activités des enzymes peroxysonnelles au cours de l'ontogenèse intestinale chez le Poulet

A. Activités totale et spécifique de la catalase. **B.** Activités totale et spécifique de l'enzyme bifonctionnelle. **C.** Activités totale et spécifique de la D-proline oxydase.

élevés que pour les sections 1 et 2 (63 et 58% respectivement). Par ailleurs, les mitochondries basales sont plus rares dans la troisième section (6%) que dans les autres (21, 26 et 28%) et la quatrième section possède peu de mitochondries latérales (5% contre 11 et 14%, figure 5D).

. Activités des enzymes peroxysomiques

Les structures comportant une activité catalasique ont été recherchées dans les cellules épithéliales lors de l'ontogenèse intestinale, du 5^{ème} jour d'incubation à l'éclosion, par cytochimie ultrastructurale. Dans le but d'étudier l'évolution de la physiologie de ces organites lors de la mise en place de l'épithélium intestinal, les activités des enzymes considérées comme caractéristiques de la fonction des ces organites dans le foie de Rat sont mesurées.

L'activité catalasique et l'activité de β oxydation peroxysomique sont détectées pendant les différents stades du développement intestinal alors que l'activité D-proline oxydase ne se manifeste qu'à partir du 17^{ème} jour d'incubation (figure 6). Par contre, à aucun moment, l'activité urate oxydase ne s'exprime.

Une augmentation de l'activité de la catalase est notée en relation avec l'âge du tissu, le maximum étant atteint à l'éclosion. A ce stade, l'activité totale est environ huit fois plus élevée qu'au stade 5 jours, ce qui correspond, en termes d'activité spécifique à une multiplication par quatre (figure 6A).

Concernant la β oxydation peroxysomique, un léger accroissement de l'activité est observé entre le 5^{ème} et le 10^{ème} jour d'incubation, précédant une stabilisation qui se maintient jusqu'au 19^{ème} jour. Au-delà, une nouvelle augmentation se produit (figure 6B). L'évolution de l'activité totale et de l'activité spécifique sont parallèles.

Dans le cas de la D-proline oxydase, l'activité n'est détectée que durant le développement embryonnaire tardif, elle augmente de façon significative entre le stade 17 jours et l'éclosion (figure 6C).

CONCLUSIONS

Les résultats obtenus permettent de montrer qu'il existe une corrélation entre la polarisation des cellules épithéliales de l'intestin (acquise au 14^{ème} jour d'incubation environ avec le développement des complexes de jonctions) et l'augmentation de la densité des mitochondries et peroxysomes. Parallèlement, la surface cellulaire diminue ainsi que le nombre de gouttelettes lipidiques. Cette première phase de l'ontogenèse intestinale est également caractérisée par le début de la migration des organites vers l'apex des épithéliocytes. Du point de vue fonctionnel, seules quelques enzymes peroxysomiques sont exprimées, et leurs activités demeurent faibles.

Dans une seconde période qui s'étend du 14^{ème} jour du développement embryonnaire à l'éclosion et qui correspond à la différenciation terminale des cellules épithéliales (marquée par la mise en place de la bordure en brosse), la majorité des peroxyosomes et mitochondries sont localisés à l'apex des épithéliocytes. Les peroxyosomes présentent des formes plus variées et les activités des enzymes qu'ils contiennent augmentent considérablement.

De la même manière que chez les Mammifères, il apparaît donc que l'acquisition, par les cellules épithéliales intestinales, des caractères structuraux et fonctionnels différenciés s'accompagne d'une augmentation de la fréquence des peroxyosomes et de leur maturation biochimique (pour revue, KELLER *et al.*, 1992 ; KELLER *et al.*, 1993). Des résultats similaires sont observés pour les cellules épithéliales des tubules rénaux et les hépatocytes (TSUKADA *et al.*, 1968 ; STEFANINI *et al.*, 1994), ainsi que dans le cas des Vertébrés inférieurs (pour revue, KELLER *et al.*, 1992 ; KELLER *et al.*, 1993).

Chez le poussin, quelques différences sont relevées en fonction de la section de l'intestin considérée, les sections 2 et 3 étant les plus riches en peroxyosomes et mitochondries, localisés typiquement à l'apex des épithéliocytes. Une relation peut sans doute être établie avec les spécificités fonctionnelles de ces diverses sections.

Cette étude met, de plus, en lumière l'évolution parallèle des peroxyosomes et des mitochondries, organites fréquemment rencontrés en association les uns avec les autres, observation reflétant certainement une coopération fonctionnelle entre les deux organites. La présence, à proximité de ces structures, du réticulum endoplasmique granuleux et des gouttelettes lipidiques doit également être soulignée.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLAIN C.C., POON L.S., CHAN C.S.G., RICHMOND W. and FU P.C., 1974 - Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.*, 20, 470-475.
- BAUDHUIN P., BEAUFAY H., RAHMAN-LI Y., SELLINGER O.Z., WATTIAUX R., JACQUES P. and DE DUVE C., 1964 - Tissue fractionation studies. 17. Intracellular distribution of monoamine oxidase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, D-aminoacid oxidase and catalase in rat liver tissue. *Biochem. J.*, 92, 179-184.
- BÖCK P., KRAMAR R. and PAVELKA M., 1980 - Peroxisomes and related particles in animal tissues. In : *Cell Biology Monographs* Ed Alfert M., Berman W., Franke W.W., Rudkin G., Sitte P., Springer, Wien, New York, 71, 1-231.
- BRADFORD M.M., 1976 - A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.

- DE DUVE C., PRESSMAN B.C., GIANETTO R., WATTIAUX R. and APPELMANS F., 1955 - Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver tissue. *Biochem. J.*, 60, 604-617.
- EL BOUHTOURY F., KELLER J.M., COLIN S., PARACHE R.M. and DAUÇA M., 1992 - Peroxisomal enzymes in normal and tumoral human breast. *J. Pathol.*, 166, 27-35.
- FREEMAN W.H. and BRACEGIRDLE B., 1967 - An atlas of embryology. Heinemann Educational Books Ltd, London, Great Britain.
- HRYB D.J. and HOOG J.F., 1979 - Chain length specificities of peroxisomal and mitochondrial β -oxidation in rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 87, 1200-1206.
- KELLER J.M., CABLE S., CHARRIER F., CIOLEK E., COLIN S., DURAND I., HEUSSER S., HILBERT L., SCHILT J., SCOTTO C., WEISTROFFER B. et DAUÇA M., 1992 - Peroxisomes et différenciation cellulaire. *Bull. Acad. Sté Lorr. Sci.*, 31, 1, 3-26.
- KELLER J.M., CABLE S., EL BOUHTOURY F., HEUSSER S., SCOTTO C., ARMBRUSTER L., CIOLEK E., COLIN S., SCHILT J. and DAUÇA M., 1993 - Peroxisome through cell differentiation and neoplasia. *Biol. Cell*, 77, 77-88.
- NOVIKOFF A.B., NOVIKOFF P.M., DAVIS C. and QUINTANA N., 1972 - Studies on microperoxisomes II. A cytochemical method for light and electron microscopy. *J. Histochem. Cytochem.*, 20, 1006-1023.
- REYNOLDS E.S., 1963 - The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 17, 208-213.
- RHODIN J., 1954 - Correlation of ultrastructural organization and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. Doctoral Thesis, Karolinska Institutet, Stockholm : Aktiebolaget Godvil.
- ROUILLER C. and BERNHARD W., 1956 - 'Microbodies' and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells. *J. Biophys. Biochem. Cytol. Suppl.* 2, 355-358.
- STEFANINI S., SERAFINI B., CIMINI A. and SARTORI C., 1994 - Differentiation of kidney cortex peroxisomes in fetal and newborn rats. *Biol. Cell*, 80, 185-193.
- TSUKADA H., MOCHIZUKI Y. and KONISHI T., 1968 - Morphogenesis and development of microbodies of hepatocytes of rats during pre- and postnatal growth. *J. Cell Biol.*, 37, 231--243.

AMMONITES RARES OU NOUVELLES DU PORTLANDIEN DE L'AUREOLE EST DU BASSIN DE PARIS

P. L. MAUBEUGE

8, Rue des Magnolias 54220 MALZEVILLE

RESUME

L'auréole Est du Portlandien lorrain, dans les départements de la Meuse et de la Haute Marne, livre surtout des Ammonites du genre *Gravesia*. Bien que fort rares, d'autres genres peuvent y être également présents. Des formes nouvelles, jamais signalées, sont ainsi décrites ici. D'autres sont très rares. On note ainsi des *Episphinctoceras*, *Pavlovia*, *Holcosphinctes*, *Katroliceras*, *Sphinctoceras*, *Virgatosphinctoides*, *Aulacostephanus*, *Pseudogravesia*. Tous les individus proviennent des couches à *Gravesia*, base des "Calcaires du Barrois".

Mots-clés : Ammonites, Jurassique supérieur, Portlandien, Lorraine, Calcaire du Barrois.

ZUZAMMENFASSUNG

Die westliche Aureole des lothringischen Portlands in den Departements Meuse und Haute Marne liefert vor allen Ammoniten *Gravesia*. Obwohl sehr selten kann es andere Arten geben. So würden hier neue Formen beschrieben die bis jetzt noch nie erwähnt würden. Andere und sehr selten und gehören zu sehr seltenen Arten, so gibt es : *Episphinctoceras*, *Pavlovia*, *Holcosphinctes*, *Katroliceras*, *Sphinctoceras*, *Virgatosphinctoides*, *Aulacostephanus*, *Pseudogravesia*. Alle diese Arten kommen aus Lagen *Gravesia*, die Basis der "Kalkarden des Barrois".

Schlüssel-Wörter : Ammoniten, Oberjura, Portlantien, Lothringen, Barrois Kalk.

Note présentée à la séance du 11 mai 1995

Le Portlandien, à l'Est du Bassin de Paris, livre très fréquemment des Ammonites du genre *Gravesia*, parfois de grande taille.

Le travail de E SALIN (1935), d'une indigence totale du point de vue stratigraphique descriptif, traduit une grande pauvreté de la faune d'Ammonites en dehors des *Gravesia*.

J'ai pu déjà signaler sommairement, autrefois, quelques formes non encore décrites, parmi les Ammonites à côté de la première échelle lithostratigraphique précise, laquelle n'a jamais été à modifier (MAUBEUGE P.L., 1956). Puis, déjà en dehors de la région lorraine, j'ai découvert et décrit des formes jamais signalées dans le Bassin de Paris, déjà dans l'Aube (MAUBEUGE P.L., 1971) et dans le Pays de Bray (MAUBEUGE P.L., 1962).

Du point de vue général, c'est NEAVERSON (1925) qui a, le premier, fourni une description et une figuration de faunes variées et peu connues, voire inconnues, dans l'équivalent du Portlandien en Angleterre. De très rares représentants des *Virgatosphinctinae* avaient été cités ou même figurés à l'Est du Bassin de Paris par les anciens auteurs (De LORRIOL *et al.*, 1867, 1872).

À côté de plus d'une centaine de *Gravesia*¹, j'ai pu rassembler des formes nouvelles ou encore indéterminées, bien différentes des espèces de genre relevant des *Aulacostephaninae*. J'ai pu, par ailleurs, établir une nouvelle espèce de *Gravesia* aux formes pourtant si fréquentes, la voir confirmée et retrouvée ailleurs en Europe avec le travail de HAHN (1963).

On notera que le travail de HANTZPERGUE P. (1987, 1989) relatif au Portlandien du Bassin de Paris à l'opposée de la Lorraine, région Poitou-Charente, a montré une faune assez variée autre que les *Gravesia*, faisant progresser beaucoup nos connaissances sur les faunes d'Ammonites de cet étage. J'ai ainsi constaté que des formes que j'avais considérées comme nouvelles, étaient décrites ainsi à l'Ouest du Bassin de Paris.

J'ai retenu ici quelques formes un peu arbitrairement dans la sélection, parmi le lot qui verra peut-être étude intégrale un jour.

Planche I. Fig. 1 et 2 : *Episphinctoceras horridum* Nov. sp. Bonnet, Meuse. Couches à *Gravesia*.

¹ J'ai pu signaler antérieurement pour la première fois en Lorraine, précisément secteur Ouest de Verdun, *Gravesia hypselostoma* Hahn (HAHN W., 1963). J'ai pu retrouver, même secteur, un fragment d'un grand individu écrasé, de cette espèce, dans les éboulis de la base des calcaires au-dessus du niveau de la Marne d'Aubréville, tranchée du chemin de fer au sud de la localité, route de Clermont.

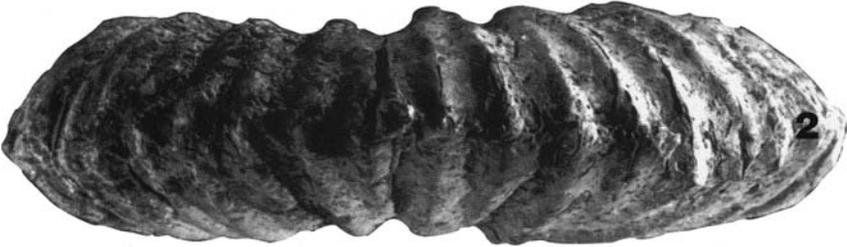


Planche I

Si NEARVERSON (1925) a pu établir un genre *Episphinctoceras* jusqu'ici inconnu, avec une espèce nouvelle, il ne semble pas, à ce jour, que ce genre ait été beaucoup signalé ailleurs que dans la localité anglaise initiale.

J'ai ainsi eu l'étonnement de récolter un *Episphinctoceras* indiscutable en Lorraine, relevant de plus d'une espèce nouvelle. Mon feu ami ARKELL (1957) a mis ce genre en synonymie avec *Pavlovia*. Il ne me paraît pas que cela soit admissible. Le genre de NEARVERSON a une costulation tellement frustrée que l'allure générale, enroulement compris, nous éloigne fort du caractère plus perisphinctoïde des *Pavlovia*.

SUPERFAMILLE PERISPINCTACEA STEINMAN 1890

FAMILLE PERISPINCTIDAE STEINMAN 1890

SOUS FAMILLE DORSOPLANITINAE ARKELL 1950

GENRE EPISPINCTOCERAS NEARVERSON 1925

***Episphinctocera horridum* Nov. Sp.**

(Cf. Pl. I, fig. 1, 2 - Pl. II)

Moule interne écrasé en calcaire marneux beige clair ; ombilic disparu. Par places on observe des Huîtres fixées ce qui prouve qu'il y avait déjà un moulage sans test de substitution au début de la fossilisation. On note quelques traces fragmentaires de lignes cloisonnaires de dessin très fruste.

La gangue est un marnocalcaire à *E. virgula*.

La loge d'habitation est en partie conservée faisant plus de la moitié du tour externe.

L'ombilic est assez large avec costulation vigoureuse, les côtes primaires étant grossières, noueuses ; il en part 2 à 3 côtes secondaires. L'ombilic est peu profond, mais à bords assez abrupts. Le début des côtes secondaires est très bas sur le flanc, ce qui distingue l'espèce, avec, en plus, ses côtes peu nombreuses, de *E. inflatum* et lui donne un caractère étonnant, avec costulation grossière, caractère primitif dans sa simplicité.

Planche II : *Episphinctoceras horridum* Nov. sp. Bonnet, Meuse. Couches à *Gravesia*. Autre face de l'holotype



Planche II

La section est arrondie avec côtes passant sur la carène à fort relief ; un écrasement à la fossilisation tend à donner une section faussement anguleuse. La présente espèce, et celle de NEARVERSON (1925) ont même allure d'ombilic pour l'enroulement. Mais *E. inflatum* a une costulation dense avec 35 ou 36 côtes primaires ; la dichotomie pour les secondaires est aux deux tiers supérieurs du flanc, alors qu'ici elle est très basse. De plus il n'y a environ que 38 côtes secondaires, presque le nombre des primaires chez *E. inflatum*, montrant la grossièreté de la costulation.

NEAVERSON ne fournit pas de dessins de cloisons pour son espèce, unique du genre connue à ce jour. Il la situe dans la zone à *Rotundum*. Elle est donc bien plus haute que l'espèce de la Meuse, ici décrite. W.J. ARKELL place (The Geology of Oxford, 1947, Oxford Clarendon Press, 267 pp.) les Argiles de Hartwell dans une zone plus haute que NEARVERSON, avec celle à *Pavlonia pallasioïdes*. L'espèce meusienne se situe bien plus bas dans l'étage, donc ancêtre, ce qui s'accorde avec sa grossière costulation, peu évoluée, existant dans la zone à *Gravesia* ; ce qui serait, en Angleterre, tout à la base des Middle Kimeridge Clay. Et *E. inflatum* se situe en dehors des Upper Kimeridge Clay.

Dimensions : 197 mm ; hauteur du dernier tour : ? ; épaisseur ? écrasé au niveau des côtes primaires. Nombre de côtes primaires au diamètre : 17 ; nombre de côtes secondaires : 38 ?

Origine : Bonnet (Meuse), champ au NNO du village, extrême base des calcaires du Barrois et de la zone à *Gravesia gravesi* avec cette espèce et *G. portlandica* de Lor.

Holotype déposé au Museum national d'Histoire Naturelle, Paris (Paléontologie). Photographies Denis SERRETTE de ce service.

***Episphinctoceras* aff. *inflatum* Neaverson**

(Cf. Pl. III)

Fragment de moule interne en calcaire beige à pâte fine, écrasé et déformé. Sur une face la déformation n'est pas apparente (celle figurée) ; sur l'opposée on note un important enfoncement avec écrasement du flanc.

Planche III : *Episphinctoceras* aff. *inflatum* Neaverson. Froidos, Meuse. Couches à *Gravesia*.

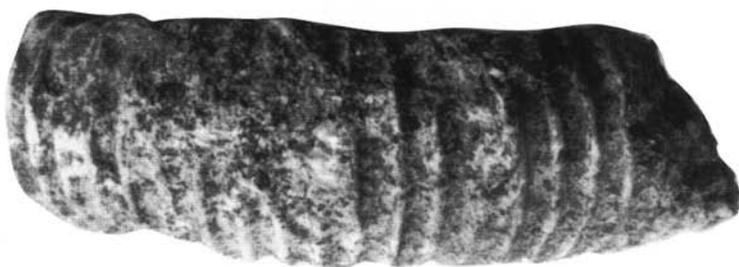


Planche III

Ceci conduit très probablement à un effet de légère torsion ; lequel donne l'impression que les côtes secondaires sont plus longues que chez l'holotype (NEAVERSON, 1925), c'est donc une péломorphose. Sur la face enfoncée on voit une partie de l'avant dernier tour. Les côtes y semblent, de même que sur la face bien conservée du dernier tour, légèrement plus denses que chez le type anglais.

Les seules différences avec l'holotype sont donc : des côtes secondaires peut-être un peu plus longues si un effet de déformation n'a pas joué ; une densité de costulation légèrement plus forte que sur l'holotype à la partie de tour parfaitement superposable en taille.

Il n'y a pas de doute qu'il s'agisse d'un *Episphinctoceras* au sens de NEAVERSON et quasi certainement d'un ancêtre variant de son espèce. L'état de conservation et l'absence d'un tour complet chez le fossile meusien, obligent à rester sur un caractère spécifique d'affinité (très étroite) à défaut d'identité.

Dimensions : diamètre environ 120 mm ; hauteur du tour : env. 45 mm ; épaisseur : 34 mm ? (déformation).

Origine : "Calcaires du Barrois inférieur", Portlandien, zone à *Gravesia*. Froidos (Meuse) dans la partie mise en culture au NO du village avec *Gravesia gravesi* et *G. portlandica*.

SOUS FAMILLE DORSOPLANITINAE ARKELL 1950
GENRE PAVLOVIA ILOVAISKI 1917
***Pavlovvia* (= *Pallasiceras*) Aff. *gracile* NEAVERSON**

Il s'agit d'un fragment de moule interne et d'un très mauvais échantillon. Il a été récolté dans des labours, usé par l'action des engins de culture.

Une face est totalement usée ; la région dorsale montre dix côtes secondaires : sur le flanc sont visibles quatre grosses côtes principales.

Un tel échantillon ne mérite pas figuration. Il a toutefois intérêt, vu que c'est le premier rapportable à cette forme, trouvée en Lorraine proprement dite [un autre, antérieurement signalé par moi dans l'Aube [(MAUBEUGE P.L., 1956) même niveau mais sans autres citations en France à ce jour]. En effet cette présence laisse espérer une extension de l'espèce dans tout le bassin sédimentaire, donc d'autres trouvailles.

J'ai expliqué (MAUBEUGE, 1971), lors de ma figuration de l'individu de l'Aube, bien que les deux types figurés de NEAVERSON (NEAVERSON, 1925) soient de petite taille, que les tours jeunes m'avaient montré des côtes denses et fines comme chez les formes anglaises ; et que la fin de tour des jeunes individus chez NEAVERSON avait déjà un type de côtes vigoureuses, espacées.

Le présent fragment est, pour moi, rapprochable sans hésitation avec le grand individu que j'ai figuré, trouvé au-dessus de l'"Oolithe de Bure", auboise. La taille est très voisine. La section peu élevée est subcirculaire.

Il est évidemment impossible d'affirmer une totale identité ; seule une affinité est concevable.

Dimensions : une vingtaine de centimètres de diamètre ; hauteur du tour : 31 mm ; épaisseur : 52 mm.

Origine : Naix-aux-Forges (Meuse) : champs labourés dans la partie extrême Est de l'ex ville gallo-romaine de Nasium (en partie sous Naix). Calcaire du Barrois inférieur, zone à *Gravesia gravesi*, Collection P.L. MAUBEUGE.

*

GENRE *HOLCOSPINCTES* NEARVERSON 1925

Holcosphinctes cf. pallasioides Neaverson

Très mauvais fragment d'un moule interne dont seul le dernier tour montre nettement une partie de flanc, avec petite longueur de l'avant dernier tour offrant quelques côtes vigoureuses. La section n'est pas visible. Le reste de la coquille se fond dans la roche, une très faible partie du milieu de l'avant dernier tour étant confusément décelable.

Il n'y a que l'espèce de NEARVERSON (Pl. III, fig. 5, holotype NEARVERSON, 1925) qui puisse se rapprocher nettement de cette forme. Toutefois l'espèce anglaise provient par ailleurs de l'Hartwell Clay, donc d'un niveau sensiblement plus haut que les couches à *Gravesia*.

Mais il existe une nette différence pour les côtes secondaires qui ont, ici, presque la moitié de la longueur du flanc. Les côtes sont légèrement inclinées vers l'avant. S'il y a de fortes ressemblances, il est quasi certain qu'il ne s'agit pas de l'espèce anglaise ; elle peut, certes, avoir une extension importante dans le temps, vu que ses représentants ne sont pas fréquents, même en Angleterre.

Il est malheureusement impossible de figurer un aussi piètre échantillon dont la forme est toutefois aussi intéressante que rare.

Dimensions : diamètre environ 65 mm ; hauteur du dernier tour : environ 20 mm ; hauteur avant dernier tour : 6 mm.

Origine : Calcaires du Barrois, couches à *Gravesia*, carrière entre Braucourt (la plus à l'Est) et Jouy-en-Argonne (Meuse).

* On notera que ARKELL souligne à juste titre l'énorme ressemblance de *Subdichotomoceras* Spath de la Sous Famille des *Virgatosphinctinae* avec *Pavlovia* et rapporte, avec interrogation *Sphinctoceras* Neaverson 1925.

SOUS FAMILLE VIRGATOSPHINCTINAE SPATH 1923

GENRE KATROLICERAS SPATH 1924

Katroliceras mosense Nov. Sp.

(Cf. Pl. IV et V, fig. 1)

Moule interne en calcaire sublithographique gris, légèrement marneux. Les tours jeunes ne sont pas conservés ; une face est abîmée.

Il est impossible de trouver une espèce figurée correspondant à cette forme.

Katroliceras sp. cf. *acerrimum* Siemiradzki in De LORIO (De LORIO P. *et al.*, 1867, Pl. II, fig. 1) est une forme voisine, bien que différente à l'analyse morphologique.

Holcosphinctes pallasoides NEAVERSON (1925) est forme très voisine si l'on considère le dernier tour de l'holotype anglais. Mais il a des côtes jeunes bien plus denses, plus serrées. Cette costulation juvénile évoluant en côtes espacées paraît caractériser le genre de NEAVERSON.

Il y a ici des traces de cloisons inutilisables, très simples sur la fin du tour interne, au début du tour externe également. L'ombilic est large, moyennement excavé. Les côtes ont un fort relief. Il semble y avoir ici un début de chambre d'habitation.

Il paraît exister un peristome simple plutôt qu'une cassure de coquille coïncidant avec une trace de côte. Ce serait un mince bourrelet vers l'avant de même dessin qu'une côte. Une esquisse de languette se dessinerait, dans ce cas, vers l'avant.

La coquille a dû subir un accident avec régénération durant sa croissance, car on note sur les 8e et 11e côtes primaires (incluses), l'existence de côtes secondaires brutalement inclinées vers l'avant. Et la costulation secondaire redevient soudainement normale après la 11e.

Dimensions : diamètre : 220 mm ; hauteur du dernier tour : 58 mm ; épaisseur : 48 mm, sur un renflement accusé des côtes. Nombre de côtes au tour : 32, en général à fort relief. Il part de chaque côte primaire 3 courtes côtes secondaires subrectilignes.

Planche IV : *Katroliceras mosense* Nov. sp. Demange aux Eaux, Meuse.
Couches à *Gravesia*.



Planche IV

Le recouvrement des tours se fait au niveau de la dichotomie des côtes secondaires.

Origine : Portlandien, Calcaires du Barrois inférieur, extrême base des couches à *Gravesia*. Champs labourés près de Demanges-aux-Eaux (Meuse). Leg P.L. MAUBEUGE, Museum d'Histoire Naturelle, Paris.

Note

SOUS FAMILLE *VIRGATOSPHINCTINAE* SPATH 1923

Katroliceras nasiuensis Nov. Sp.

(Cf. Pl. V, fig. 2 - Pl. VI, fig. 1)

Moule interne en calcaire lithographique un peu usé par les labours et corrodé par les intempéries, davantage sur une face que sur l'autre. Traces de cloisons totalement inutilisables sur une face au début du tour externe.

L'"*Ammonites rotundus* sow." de De LORIOU & COTTEAU, (Pl. II, Fig. 1, Portlandien de l'Yonne) n'est évidemment pas l'espèce de SOWERBY. C'est une forme voisine mais distincte de la présente. Les côtes jeunes sont ici plus serrées. Et, bien que la section du fossile de l'Yonne ne soit pas donnée, elle paraît y avoir un contour plus arrondi.

On trouve aussi des ressemblances avec l'"*Ammonites bononiensis*" De LORIOU, (Pl. III, fig. 1a,b,c, 1874) du Portlandien des environs de Boulogne-sur-Mer. Mais l'espèce de De LORIOU a une forme d'ombilic différente pour l'enroulement, des côtes plus serrées et plus incurvées.

La présente espèce est une forme assez plate, à section arrondie avec ombilic assez large et peu profond. Si, en fin de tour externe, le bord du flanc est assez arrondi, sur la face la mieux conservée, on voit que, dès la moitié de ce dernier tour, l'ombilic est plus abrupt. Il en est de même aux tours plus jeunes. Ces tours sont très peu recouvrants.

Planche V. Fig. 1, 2, 3 et 4 : *Katroliceras mosense* Nov. sp. Demange aux Eaux, Meuse. Couches à *Gravesia*. Fig. 1.

Katroliceras nasiuensis Nov. sp. Naix aux Forges, Meuse. Couches à *Gravesia*. Fig. 2.

Sphinctoceras cf. *distans* Neaverson. Nixéville, Meuse. Couches à *Gravesia*. Fig. 3 et 4.

Note Il est possible que *Holcosphinctes* Neav. soit à mettre en synonymie avec *Pavlovia*.

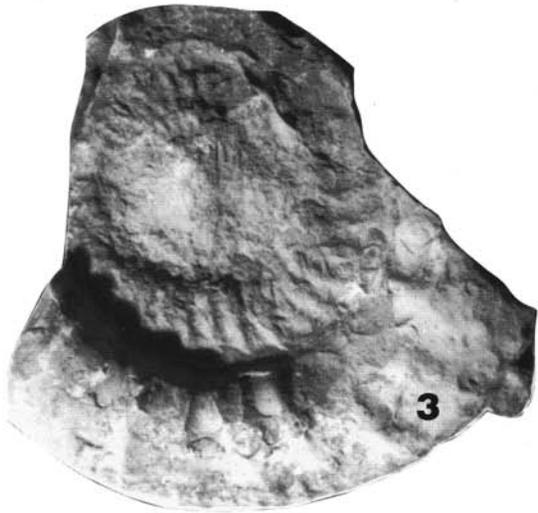


Planche V

Les côtes primaires sont assez larges à leur base, légèrement inclinées vers l'avant, assez espacées ; il existe deux côtes secondaires, et on note 30 côtes primaires au tour externe.

Dimensions : diamètre : 165 mm ; hauteur du dernier tour : 36 mm ; son épaisseur : 45 mm ; hauteur de l'avant dernier tour : 27 mm ; son épaisseur : 34 mm ; sa longueur de flanc non couverte : 21 mm.

Origine : Naix-aux-Forges, Meuse. Champs labourés à proximité du village, emprise de l'ancienne cité de Nasium ; Portlandien, Calcaires du Barrois inférieur, couches à *Gravesia*. Leg P.L. MAUBEUGE, Museum d'Histoire Naturelle, Paris.

GENRE *SPHINCTOCERAS* * NEARVERSON 1925

Sphinctoceras cf. distans Neaverson

(Cf. Pl. V, fig. 3, 4)

Il s'agit d'un très mauvais échantillon. On est en face d'une partie de tour externe d'un moule interne en calcaire à pâte fine, avec une partie du tour précédent sur la même longueur conservée. Les tours plus jeunes ont seulement laissé une mauvaise empreinte.

Il y a une très grande analogie, sinon identité avec le type de NEAVERSON (Pl. IV, fig. 3) à son dernier tour ; il y montre des côtes vigoureuses, espacées, de même allure et espacement à l'avant dernier tour de l'holotype anglais. Il y a identité de costulation. Le fossile meusien a un diamètre presque double. On voit mal l'allure du bord avec la retombée du flanc chez l'holotype. Toutefois, du côté gauche de la figuration, vu une ombre portée, le rebord paraît abrupt.

Le présent spécimen montre une curieuse retombée du flanc, très abrupte, là où elle est bien conservée. Il ne paraît pas qu'un enfoncement du tour précédent explique un pareil abrupt par enfoncement mécanique.

Planche VI : *Katrolliceras nasiuensis* Nov. sp. Naix aux Forges, Meuse. Couches à *Gravesia*. Fig. 1.

Virgatosphinctoides aff. *major* Cope, Ligny-en-Barrois, Meuse. Couches à *Gravesia*. Fig. 2.

* Voir ici, note infrapaginale à *Pavlovia* aff. *gracile* Neaverson



Planche VI



Planche VII

Le présent fossile ne montre malheureusement pas les tours jeunes, seule une empreinte étant conservée. Ainsi, on voit sur un centimètre de longueur qu'il y a, à ce stade comme chez l'holotype anglais, des côtes fines et denses.

Le tour est peu recouvrant.

Il y a forte parenté, sinon identité avec le fossile anglais.

Dimensions : diamètre : 115-120 mm ; hauteur du tour : 37 mm ; son épaisseur : 38 mm minimum. Il semble y avoir 40 côtes à l'avant dernier tour.

Origine : Extrême base du "Calcaires du Barrois" du Portlandien. Carrière abandonnée de Nixéville (Meuse), éperon Est du Bois de Sivry face à la ferme Fruine.

Sphinctoceras N.sp.

(Cf. Pl. VII, fig. 1)

NEAVERSON a pris *Sphinctoceras crassum* pour génotype de son nouveau genre. Malgré quelques détails fournis, la description de caractères génériques ne paraît pas évidente, alors que les figurations comme le présent fossile permettent de souligner le caractère principal, comme ci-après.

Si NEAVERSON ne décrit que deux espèces : *S. crassum* (Pl. II, fig. 1a, b) et *S. distans* (Pl. IV, fig. 3), l'auteur précise cependant que *Perisphinctes dorsoplanus* in BUCKMAN (Y.T. Amm. T. IV, p. 36, seul texte) est un *Sphinctoceras*. Toutefois il rapporte cette forme à celles de MICHALSKI avec caractère trifide des côtes secondaires, les côtes primaires devenant soudain plus vigoureuses après disparition des côtes secondaires seulement bifurquées. Si cet ensemble se rapporte bien au genre de NEAVERSON, il paraît donc former un groupe particulier face aux formes nanties seulement de côtes secondaires bifurquées.

ARKELL donne une définition du genre *Subdichotomoceras* et NEAVERSON en donne une pour son genre. On ne sait trop comment définir clairement ce genre ! ARKELL, avec interrogation, est enclin à rapporter le genre de NEAVERSON à *Subdichotomoceras* SPATH 1925.

Planche VII : *Sphinctoceras* Nov. sp., Naix aux Forges, Meuse. Couches à *Gravesia*. Figure 1.

Virgatosphinctoides aff. *major* Cope, Ligny-en-Barrois, Meuse. Couches à *Gravesia*. Figure 2.

Pseudogravesia sp., Nov. sp., Parois, Meuse. Couches à *Gravesia*. Figure 3, en bas à gauche, figure 4 en bas à droite.

Toutes ces formes du Jurassique supérieur, *perisphinctoïdes* sont loin de permettre une situation systématique claire mis à part les formes en tant qu'espèces.

Ce qui me paraît bien caractériser *Sphinctoceras* c'est l'existence d'un ombilic moyennement profond avec une retombée du bord ombilical de plus en plus abrupte avec l'âge ; l'ombilic est assez large. La costulation est vigoureuse avec des côtes primaires subrectiligne.

Nous sommes ici en face d'une forme très curieuse, rarissime, probablement jamais figurée ou décrite. C'est malheureusement un très mauvais spécimen avec une seule face conservée ; moule interne en calcaire sublithographique. Il semble y avoir des traces d'un tour externe supplémentaire, disparu. Vu une trace, un quart de tour est certain ; mais il y avait peut-être 2/3 d'un tour, vu la curieuse allure de cassure de la roche régulièrement abrupte, semblant dessiner une courbe.

Il me semble n'y avoir que le genre de NEAVERSON rapprochable.

Il me paraît fort utile de figurer ce bien mauvais échantillon, étant impossible de nommer une nouvelle espèce en l'état. Mais des éventuelles découvertes peuvent permettre de mieux cerner l'espèce. Les caractères visibles ici sont si particuliers qu'un rapprochement serait possible grâce à un meilleur spécimen. Aux tours jeunes, l'ombilic est assez profond avec côtes denses et nombreuses (35 environ au tour) ; la costulation paraît ensuite plus espacée. Mais il ne semble pas que ce soit autre chose qu'une apparence liée au diamètre ; toutefois, à la fin du dernier tour, hélas sur une faible portion visible, seule, cet espacement pourrait se confirmer. Les côtes primaires sont droites, les secondaires invisibles, le recouvrement du tour se faisant au-dessus de leur naissance. La section précise est inconnue, subrectangulaire ; région siphonale arrondie. Les côtes secondaires naissent bien au-dessus de la moitié du flanc.

Dimensions : environ 10 cm, probablement plus avant brisure.

Origine : Calcaires du Barrois. Naix-aux-Forges (Meuse), secteur de Nasium ; labours, avec *Gravesia gravesi* & *G. Irius* associés.

GENRE VIRGATOSPHINCTOIDES NEAVERSON 1925

***Virgatosphinctoïdes* aff. *major* COPE**

(Cf. Pl. VI, fig. 2 - Pl. VII, fig. 2)

S'agissant d'un fragment d'individu de fort médiocre conservation, il n'en est pas néanmoins pourvu du plus grand intérêt pour cause de rareté dans le Bassin de Paris.

C'est un moule interne en calcaire beige, à pâte fine riche en débris coquilliers ; une face est très abîmée.

Je l'ai récolté *in situ* dans une coupe décrite en détail (MAUBEUGE, 1956).

Le seul fossile figuré que je connaisse à ce jour, comparable à celui-ci, est *Virgatosphinctoïdes major* COPE (COPE, 1967) ; l'holotype étant considéré par cet auteur comme "macroconche" selon la théorie du dimorphisme de certains paléontologistes. Sa figuration est réduite de presque moitié. On est donc en présence de deux fossiles de diamètres assez voisins.

La section est ovalaire avec côtes sans interruption sur la région siphonale. (En général les fossiles anglais, vu le faciès où on les trouve à ce niveau, renseignent mal sur leurs sections, étant le plus souvent écrasés).

Bien que mauvais spécimen, le présent fossile montre, malgré sa corrosion, des côtes un peu plus espacées que sur l'holotype anglais ; mais l'allure générale est identique et la dichotomie des deux côtes secondaires se fait à même hauteur du flanc. Sur le fossile lorrain, en extrémité de tour, les côtes sont soudain plus inclinées vers l'avant. Mais l'holotype anglais paraît montrer ce phénomène.

La comparaison offre un frappant rapprochement si on prend soin de masquer une grande partie de la figure du fossile anglais dont les tours jeunes, à fine costulation, faussent la vision par vue d'ensemble.

Il est quasi impossible de donner un nom spécifique certain. Mais, compte-tenu de l'état de conservation, de l'aspect fragmentaire, que COPE lui-même admet l'espèce mal connue avec un problème (discutable pour les assimilations mâle et femelle ! Pure hypothèse) on peut, sans hésiter, rapporter cette pièce comme forme parente très proche de l'espèce anglaise.

J'avais déjà pu signaler de rares *Virgatosphinctoïdes* (MAUBEUGE, 1962) dans le Portlandien du bassin de Paris, jusque là inconnus. Dans son travail, dépourvu de toute stratigraphie valable, et fort sommaire, SALIN n'avait pas recensé de formes autres que les *Gravesia* (SALIN, 1935).

COPE donne sa forme nouvelle associée avec des *Gravesia* donc comme il en est pour le fossile lorrain.

Cet auteur voit dans *Virgatosphinctoïdes* un sous genre de *Pectinatites* L.F. SPATH ; lui, pensait devoir rassembler ce genre de NEAVERSON, avec d'autres genres (donc devenus des sous-genres) dans son genre *Subplanites*. Toutes ces formes fortement costulées de type perisphinctoïdes, du Jurassique supérieur, donnent par excellence l'occasion classique aux auteurs successifs de vouloir changer la systématique. Pour le stratigraphe il y a lieu simplement de savoir distinguer et nommer des formes indices.

Virgatosphinctoïdes est dit par COPE, caractérisé par une costulation fine des tours internes se modifiant sur la chambre d'habitation. Or ceci existe aussi dans bien d'autres genres. On sent que COPE pense pouvoir suivre la théorie des formes microconches et macroconches (dimorphisme sexuel), ce qui ne facilite pas la systématique.

On relèvera à ce propos que toute la systématique des Ammonites (comme de bien d'autres Mollusques) repose sur l'étude des seules coquilles. Toutefois les Ammonites sont un groupe animal éteint dont on ne connaît même pas l'anatomie exacte : alors que d'autres groupes ont encore des descendants actuels, ce qui laisse moins perplexe que devant le concept microconches et macroconches chez les Ammonites. On discute encore pour les classer dans les di- ou tétrabranchediaux, malgré de très rares fossiles avec empreintes des parties molles.

On est donc en face d'une systématique de coquilles d'Ammonites. Une certaine indulgence devrait régner à propos des coupures admises plutôt que les foudres liées à un crime d'orthodoxie ... entre auteurs en fait divisés.

Dimensions : taille voisine de l'holotype de COPE, soit environ 30 cm ; hauteur du dernier tour : environ 70 mm ; épaisseur : 50 mm environ.

Origine : Ligny-en-Barrois (Meuse), tranchée ancienne Route Nationale ; couche à *Gravesia*, niveau du conglomérat (coupe in MAUBEUGE 1956, 1978).

SOUS FAMILLE AULACOSTEPHANINAE SPATH 1924

GENRE AULACOSTEPHANUS TORNQUIST 1896

Aulacostephanus N. Sp.

(Cf. Pl. VIII, fig. 3)

Moule interne en calcaire marneux dont seule une partie du tour externe et fraction de l'avant dernier tour, sont conservées. Il présente un léger écrasement local. Traces de cloisons totalement inutilisables.

Planche VIII : *Pseudogravesia* sp., Nov. sp., Parois, Meuse. Couches à *Gravesia*. Figure 1 et 2, en haut à gauche et à droite. Fossile de la planche VII figure 3 et 4, après dégagement de l'ombilic par les services du Museum Nat. Hist. Nat. Paris, Section des Invertébrés, M.H. Gauthier.

Aulacostephanus Nov. sp., Ligny-en-Barrois, Meuse. Couches à *Gravesia*.



Planche VIII

Il ne paraît pas jusqu'ici y avoir eu des citations de ce genre dans le Portlandien, couches à *Gravesia**. Cette présence indiscutable *in situ* ne cesse pas d'étonner.

Aucune forme du Kimeridgien n'est identique.

On peut toutefois rapprocher, avec de fortes différences, de *A. eudoxus* D'ORBIGNY ; D'ORBIGNY et DOUVILLE (DOUVILLE, 1909).

L'ombilic est, ici, peut-être un peu plus large que sur les cotypes. De fortes côtes tuberculeuses naissent sur le rebord ombilical, plus fines ensuite bien que vigoureuses. Les côtes sont fasciculées par trois avec, peut-être, régulièrement une côte simple intercalaire. L'espèce de D'ORBIGNY a des côtes moyennement falciformes, alors qu'ici elles sont plus nombreuses et à peine infléchies vers le bord externe. Le tour, présentement, est plus haut.

Malgré une étroite parenté, cette forme, descendant directement de l'espèce kimméridgienne est bien distincte, plus récente dans le temps. Il s'agit d'une espèce nouvelle. On ne peut toutefois l'établir définitivement ici sur un individu fragmentaire dont les tours jeunes ne sont pas visibles ni les rapports de dimensions évidents.

Dimensions : diamètre environ 130 mm ; hauteur du dernier tour : 48 ; épaisseur 31 ; le tour est très recouvrant.

Origine : descente entrée Est de Ligny-en-Barrois, ancienne Route Nationale, petite carrière abandonnée, niveau très en dessous du conglomérat de la zone à *G. irius*. Calcaires du Barrois, Portlandien.

? SOUS FAMILLE AULACOSTEPHANINAE SPATH 1924
GENRE TOLVERICERAS HANTZPERGUE 1987
SOUS GENRE PSEUDOGRAVESIA HANTZPERGUE 1987
***Pseudogravesia* Sp., Nov. Sp.**

(Cf. Pl. VII, fig. 3, 4 - Pl. VIII, fig. 1, 2)

* On ne peut pas toutefois ne pas relever le point suivant. Dans son beau travail, HANTZPERGUE P. (thèse, 1987) note, page 198 que, dans le Boulonnais, il y a association de *Gravesia gigas* et d'*Aulacostephanus autissiodorensis*. Sans s'arrêter aux genres les deux espèces sont déjà des indices zonaux différents ; le même auteur précise qu'une zone à *G. gigas* est au-dessus de la zone à *A. autissiodorensis* ; il est même donné aussi précision plus fine vu que la zone à *G. gigas* est divisée en Sous-zone à *G. gravesiana* en haut et *G. gigas* en bas ; et dessous la zone à *A. autissiodorensis* est divisée elle aussi en sous zone à *G. irius* en haut et *A. autissiodorensis* en bas. Même le spécialiste finit par être perturbé et perplexe dans les travaux de biostratigraphie zonale du Système Jurassique pour tous les étages et de nombreux auteurs. Est-on trop souvent en face de généralisations trop rapides sur des observations locales d'ailleurs fort sérieuses ?

Petit moule interne en calcaire beige à pâte fine engagé dans du calcaire lithographique et dont l'ombilic n'est pas dégageable.

Cet individu laisse embarrassé pour une détermination, et semble ne pas répondre aux formes figurées jusqu'ici dans le Portlandien.

On retrouve une section de *Pseudogravesia Hahni* Hantzpergue (fig. 38) ; la costulation des tours jeunes est identique à celle de cette espèce (Pl. XIII), mais l'enroulement est différent. Celui-ci serait beaucoup plus proche de celui visible chez l'individu qualifié de microconque (fig. 6) de l'espèce *Pseudogravesia gravesiformis*. (HANTZPERGUE adopte en nomenclature le binôme microconche et macroconche établi sur l'hypothèse d'un dimorphisme sexuel). Mais le précédent spécimen a une costulation un peu plus dense au tour interne que cette dernière espèce ; mais surtout bien que l'individu figuré par HANTZPERGUE soit certes usé et corrodé, en fin de tour, ici la costulation est plus lamellaire, plus rigide d'allure ; enfin, l'enroulement a un style sensiblement différent.

On note, sur la présente pièce, une trace de constriction vers la fin de la partie conservée du tour externe.

D'ORBIGNY (Pl. 216, 221) a, dès le début des études paléontologiques, signalé et décrit une forme perisphinctoïde du Portlandien de la Meuse, à Montblainville, avec son (non) *Pavlovia rotundus* Sow. De son côté, HANTZPERGUE signale *Tolvericeras murogense* de Demange-aux-Eaux, également dans la Meuse (méridionale).

En fait, la distinction est assez subtile entre les genres *Tolvericeras* et *Pseudogravesia* (pp. 165 et suiv.), à côtes primaires épaisses à la partie médiane, comme chez *Gravesia*. Cet auteur fait de *Pseudogravesia* un sous-genre de *Tolvericeras*, le premier genre étant dans le Kimmeridgien et le second, un peu plus jeune, dans le Portlandien. Là, il semblerait que la stratigraphie prédomine sur la paléontologie pure.

Dans sa planche XII HANTZPERGUE, dans le cadre de son opinion des formes micro- et macroconques, traite de "*Tolvericeras murogense*, sous-espèce *murogense*" (figures a et b). Pour ma part je m'interroge encore comment, avec deux individus totalement différents morphologiquement, on peut établir, sur un fossile un dimorphisme sexuel et où est le recoupement biologique asseyant une telle certitude face à des simples parties de tels êtres fossiles ?

L'espèce de HAHN, *P. polypleura* est certes voisine, mais ici on n'observe que deux côtes secondaires au lieu de trois.

De LORIOU (1868) figure, pour le Portlandien de l'Yonne, une forme à première vue ayant quelque ressemblance. Mais l'enroulement de l'ombilic est différent et la forme de l'Yonne a une plus dense costulation. Il semble d'ailleurs que

cette "*Ammonites rotundus* Sow." (PL. II, fig. 1) est un *Katrolliceras* relevant plutôt d'une parenté avec *K. acerrinum* Siemiradski.

Dimensions : diamètre : 55 mm ; hauteur dernier tour : 15 ; longueur de flanc non couverte : 9 ; épaisseur : 27 ; hauteur avant dernier tour : 13.

Origine : Calcaires du Barrois inférieur, route de Parois à la ferme Verrières (Meuse), déblais d'un puits, crête 232. (Collections Museum d'Histoire Naturelle, Paris - Leg P.L. MAUBEUGE).

BIBLIOGRAPHIE

COPE, J.C.W., 1967 - The Paleontology and Stratigraphy of the lower part of the upper Kimmeridge Clay of Dorset. *Bull. Brit. Museum Nat. Hist. Geology, Vol. 15*, 80 pp., 34 Pl.

DOUVILLE, R., 1909 - *Ammonites eudoxus* d'Orbigny. *Paleontologia Universalis, Congrès Geol. International*, Planches 180, 180a.

HAHN, W., 1963 - Die Gattung *Gravesia* Salfeld (Ammonoidea im Oberjura Mittel und Nordwest Europas). *Paleontographica, Bd. 122, Abt. A*, 90-110, Pl. 9-13.

HANTZPERGUE, P., 1987 - Thèse d'Etat, Ed. privée, 3 fascicules (1 de planches. 57 + 558 pp. + 45 Planches. Sous titre ajouté : (*Perisphinctidae*, *Aulacostephanidae*, *Aspinoceratidae*). Bibliographie paléontologique complète.

HANTZPERGUE, P., 1989 - Les Ammonites Kimmeridgiennes du haut-fond d'Europe occidentale. Cahiers de Paléontologie. Ed. du C.N.R.S.

MAUBEUGE, P.L., 1956 - Le Kimmeridgien supérieur et le Portlandien dans l'Est du Bassin de Paris. *Bull. Soc. Belge Géol. Pal. & Hyd.*, **65**, 2, 316-321.

MAUBEUGE, P.L., 1962 - Présence de *Virgatosphinctoïdes* dans le bassin de Paris. Colloque du Jurassique à Luxembourg, 1962. *Publ. Institut Grand Ducal Luxembourg Sect. Sc. N. Ph. & Mat.*, 511-512, Pl.

MAUBEUGE, P.L., 1971 - Quelques Ammonites jalons stratigraphiques dans le problème du Jurassique supérieur du Bassin de Paris. *Hist. Nat. Pays de Luxembourg, Public. Musée Nat. Hist. Nat. Lux.*, 10 pp. 4 Pl. (cf^{note}).

^{note} J'ai suivi, un temps, le concept d'ARKELL faisant des couches à *Gravesia* du Lower Kimmeridgien. L'échelle internationale actuelle réintègre ainsi que je le pratique maintenant, les niveaux à *Gravesia*, donc le Calcaire du Barrois, dans le Portlandien). On sait par ailleurs que l'orthographe officielle de Kimeridgien, selon les époques, fluctue avec 1 ou 2 "m".

- MAUBEUGE, P.L., 1978 - La coupe du Portlandien sur le tracé de la nouvelle Route Nationale à Ligny-en-Barrois (Meuse) avec quelques aperçus sur cet étage dans le département de la Meuse. *Bull. Acad. & Soc. Lor. Sc.*, XVII, 4, 121-141.(cf^{note}).
- LORIOLE (De), P., COTTEAU, G., 1867 - Monographie géologique et paléontologique de l'étage portlandien du département de l'Yonne. *Bull. Soc. Sc. Historiques et Naturelles de l'Yonne*, 21, 1er S., 1867-1868, 437-696, Pl. II-XV.
- LORIOLE (De), P., ROYER, E., TOMBECK, H., 1872 - Monographie des étages supérieurs de la formation jurassique de la Haute-Marne. *Mem. Soc. Linnéenne Normandie*, XVI, 484 p., 26 Pl.
- MOORE, R.C., 1957 - Treatise on Invertebrate Paleontology. - *ARKELL W.J., Part L. Mollusca, 4, Cephalopoda, Ammonoidea pour les Ammonites jurassiques* (avec KUMMEL, B., WRIGHT, C.W., Mesozoic Forms, Systematic Descriptions), 129-343.
- NEAVERSON, E., 1925 - Ammonites from the upper Kimmeridge Clay. Publ. *Geological Department of the University Liverpool*, 45 pp., 4 Pl.
- SALIN, E., 1935 - Les calcaires du Barrois. *Bull. Soc. Geol. Fr.*, Vol. V.

EFFET D'UNE INTOXICATION IP DE $AlCl_3$ CHEZ LE RAT JEUNE ET ADULTE : ALUMINEMIE, ELIMINATION URINAIRE ET ACTIVITE DE LA CHOLINEACETYLTRANSFERASE CEREBRALE

Gilbert Cherroret¹, Daniel Burnel², et Paul R. Lehr³

1. Centre des Sciences de l'Environnement (Toxicologie), Université de Metz, 1 rue des Récollets, 57000 Metz.
2. Service de Chimie Générale Appliquée à la Médecine, Faculté de Médecine, Université Henri Poincaré, Nancy I, 54500 Vandœuvre les Nancy.
3. Laboratoire de Biologie et Physiologie du Comportement, URA CNRS 1293, Faculté des Sciences, Université Henri Poincaré, Nancy I, 54500 Vandœuvre les Nancy.

Note acceptée pour publication le 20 décembre 1995

Résumé

Des rats mâles adultes et des rats âgés de 13 jours reçoivent une injection unique de chlorure d'Al administré par voie IP aux doses de 20 et 40 mg Al/kg. A la dose de 20 mg Al/kg, au bout de 9 jours, l'aluminémie a diminué de 57,9% chez le jeune et de 42,8% chez l'adulte, comparativement au jour 1.

A la dose de 40 mg Al/kg, les diminutions sont respectivement de 30,9% et 12,5% pendant la même période; toutefois au bout de 48 h après l'injection, l'aluminium ne s'est pas accumulé dans le cerveau et l'activité de la cholineacétyltransférase cérébrale n'est pas modifiée, qu'il s'agisse du rat âgé de 13 jours ou du rat adulte.

Mots clés : Chlorure d'aluminium - Jeune rat - Rat adulte - Aluminémie - Cholineacétyltransférase.

Note présentée à la séance du 14 décembre 1995 par . J.M. KELLER.

(A) Summary

Adult male rats and 13 days old rats received one IP injection of aluminum chloride (20 and 40 mg/kg).

At the dose of 20 mg Al chloride, after 9 days, the Al plasma concentrations decrease in young rats and adult rats: 57.9 and 42.8% respectively. During the same period, at 40 mg Al/kg, the Al concentration decrease significantly: 30.9 and 12.5% respectively. At this dose, after 48 h, the aluminum concentration and the cholineacetyltransferase activity in cerebral homogenates did not differ in comparison to the control.

Keywords : Aluminum chloride - Young rat - Adult rat - Plasma aluminum - Cholineacetyltransferase (CAT) activity.

Introduction

Chez les sujets en bonne santé l'aluminium qui pénètre dans l'organisme essentiellement par voies digestive (Alfrey 1984) et pulmonaire (Szczekocki et al. 1978) est rapidement excrété au niveau des tubes urinaires (Galle 1981). Chez les patients souffrant d'insuffisance rénale chronique soumis à des dialyses répétées, l'aluminium contenu dans le bain de dialyse pénètre en partie dans le sang ; il s'ajoute à celui prescrit par voie orale pour lutter contre l'hyperphosphatémie et peut provoquer une encéphalopathie (Alfrey et al. 1976). Les risques sont plus élevés dans le cas de la dialyse péritonéale que dans l'hémodialyse car le pH du dialysat est plus acide (Gilli et al. 1980; Milliner et al. 1987). L'encéphalopathie progressive des dialysés est souvent précédée d'une anémie microcytaire et d'une ostéomalacie (Parkinson et al. 1981 - Wills et Savory 1983).

Enfin l'aluminium qui est un contaminant des solutions utilisées en nutrition parentérale peut entraîner des troubles du métabolisme minéral, en particulier au niveau osseux (Klein et al. 1982).

Des intoxications subchroniques par voie orale pratiquées chez des jeunes Rats ont montré que l'aluminium s'accumule dans le cerveau et le foie, provoque un retard de la croissance (Cherroret et al. 1995), un retard du développement neuromoteur (Bernuzzi et al. 1989) et une diminution de l'activité de la cholineacétyltransférase (Cherroret et al. 1992). Des intoxications subchroniques par voie IP chez le Rat adulte entraînent également une accumulation de l'aluminium dans le foie et le cerveau ainsi qu'une diminution de l'activité de la cholineacétyltransférase cérébrale (Cherroret et al. sous presse).

Les travaux décrits ci-après ont consisté à pratiquer sur des rats jeunes et adultes normaux une intoxication aigüe par injection unique de chlorure d'Al par voie IP

afin d'évaluer d'une part la capacité d'élimination de l'Al par voie rénale de ces animaux et d'autre part l'impact éventuel de cette intoxication sur l'activité de la cholineacétyltransférase cérébrale.

MATERIEL ET METHODES

* Animaux

Les rats adultes mâles de souche Wistar (Iffa Credo, l'Arbresle, France) sont âgés de 11 semaines (poids 290-300g).

Les jeunes rats sont élevés au laboratoire. Ils restent avec leur mère et sont âgés de 13 jours au moment de l'intoxication.

Les animaux sont nourris ad libitum avec des croquettes Extra Labo (Provins-France) et de l'eau. L'animalerie dont la température est maintenue constante (20-22°C) est soumise à un rythme jour/nuit 12/12 h.

* Protocoles d'intoxication

Première expérience

Elle consiste à intoxiquer des rats jeunes et adultes au chlorure d'aluminium administré en une seule fois par voie IP et à évaluer le taux d'élimination du toxique jusqu'au 9^{ème} jour après le jour de l'injection.

Le chlorure d'aluminium est dissout dans une solution de NaCl 9% . Deux doses sont testées : 20 et 40 mg Al/kg.

Rats adultes

Le volume injecté est de 1 ml. Les animaux sont placés dans des cages à métabolisme. L'aluminium est dosé dans l'urine dont le prélèvement est effectué sur 24 h, ainsi que dans le plasma quand les animaux sont sacrifiés par décapitation. Cinq rats intoxiqués et cinq rats témoins sont sacrifiés chaque jour durant les six premiers jours qui suivent l'intoxication. De la même façon, dix autres animaux sont sacrifiés au 9^{ème} jour de l'expérience. La discontinuité entre les jours six et neuf a pour but de limiter le nombre d'animaux à sacrifier.

Rats jeunes

Le volume injecté est de 0,5 ml. L'intoxication a lieu à l'âge de 13 jours et l'aluminium est dosé dans le plasma au cours des 6 jours suivants, ainsi qu'au jour 9. Cette période a été choisie car elle correspond à la phase critique du développement (Gaitonde et Richter 1966) et se situe avant le sevrage. Par ailleurs, la technique de dosage de l'aluminium nécessitant un volume plasmatique d'au moins 0,5 ml, il est indispensable de réaliser un pool de sang à partir de deux rats. Deux portées de 12 jeunes sont utilisées en parallèle; au sein de chacune d'elles, la moitié des rats reçoit une injection de NaCl 9% (rats témoins) et l'autre moitié une injection de chlorure d'aluminium (rats traités). Chaque jour un animal témoin et un animal traité sont sacrifiés dans chacune des

deux portées; les plasmas des témoins d'une part et ceux des traités d'autre part sont mélangés, ce qui permet d'obtenir le volume nécessaire pour effectuer le dosage d'Al. Autrement dit chaque valeur est obtenue à partir de deux animaux issus de deux portées différentes. La détermination des taux d'Al plasmatique chez les jeunes au 9^{ème} jour après l'injection a nécessité des portées différentes des précédentes puisque deux portées de 12 ne permettent de faire des dosages que pendant 6 jours.

Seconde expérience

Elle consiste, comme dans la première expérience, à intoxiquer des rats âgés de 13 jours et des rats adultes à l'aide de chlorure d'aluminium administré par voie IP en une seule fois, à la dose de 40 mg/kg (des expériences préliminaires ont montré qu'il s'agit de la dose limite au-delà de laquelle il apparaît un pourcentage de mortalité de l'ordre de 80% après 48 h). Comme précédemment, les volumes administrés sont de 0,5 ml pour les jeunes et de 1 ml pour les adultes. Les témoins reçoivent le même volume de NaCl 9%. Les animaux sont sacrifiés par décapitation 48 h après l'injection afin d'une part d'évaluer l'activité de la cholineacétyltransférase dans deux structures cérébrales (le cerveau basal antérieur et le néostriatum), d'autre part de doser l'aluminium dans ces mêmes structures, ainsi que dans le plasma. Chez les jeunes, un pool de sang de deux animaux issus d'une même portée est réalisé, afin d'obtenir un volume de plasma suffisant pour les dosages. Parallèlement, l'activité de l'enzyme est mesurée à partir d'un pool d'homogénat des structures cérébrales de ces deux mêmes animaux.

* Méthodes de dosages

Dans le plasma, l'urine et les structures cérébrales, l'aluminium est dosé à l'aide d'un spectromètre d'émission à plasma d'argon (Spectra Span V, Beckman). Le plasma est obtenu après centrifugation du sang à 900 g pendant 15 minutes. Les structures cérébrales sont disséquées par la méthode de Glowinski et Iversen (1966), puis homogénéisées à 0° C à l'aide d'un appareil de Potter-Elvehjem, muni d'un piston en téflon (Tissue Grinder, Size A, Arthur H. Thomas, Philadelphia, USA). L'homogénat est séparé en deux parties: l'une pour doser l'aluminium et l'autre pour évaluer l'activité de la cholineacétyltransférase par la microméthode de Fonnum (1975). Afin de déterminer l'activité spécifique de cette enzyme rapportée aux protéines, ces dernières ont été dosées par la méthode de Lowry et al. (1951).

Statistiques

L'analyse statistiques des concentrations d'Al plasmatique, urinaire et cérébral, ainsi que de l'activité de la cholineacétyltransférase cérébrale, a été réalisée à l'aide du test t de Student avec un seuil $p < 0.05$.

RESULTATS

Première expérience :

- Evolution de l'aluminémie chez le jeune rat.

Elle est représentée par la Figure 1.

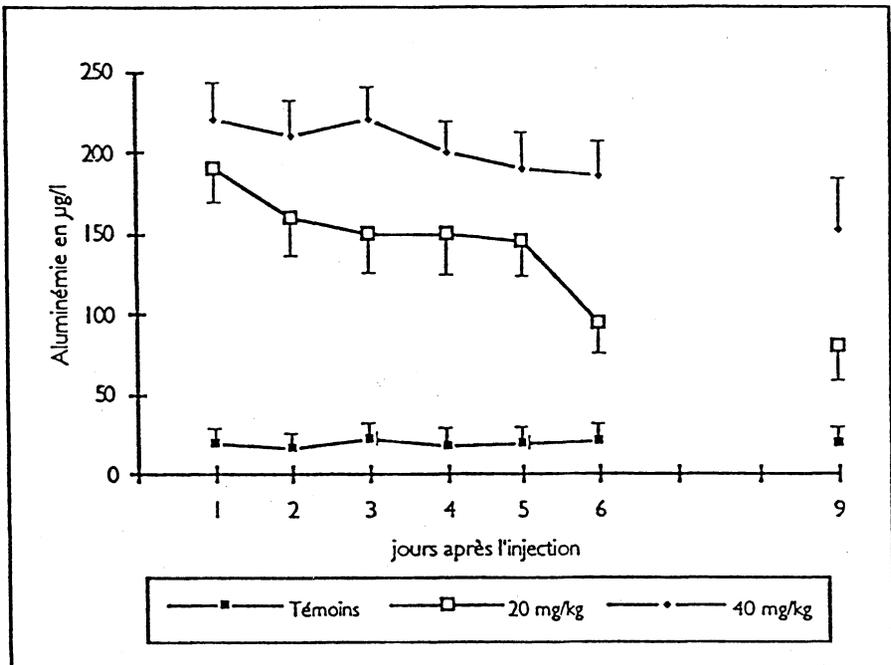


Figure 1 Evolution de l'Al plasmatique chez le jeune Rat.

Chez les rats ayant reçu une injection de 40 mg/kg, l'aluminémie ne varie pas significativement durant les 4 premiers jours : elle est comprise entre 200 et 220 µg/l.

Au 9^{ème} jour, elle a diminué de 30,9 % par rapport au jour 1 ($p < 0,001$); elle est alors 7,6 fois supérieure à celle des témoins.

Chez ceux ayant reçu une injection de 20 mg/kg, l'aluminémie diminue significativement entre les jours 1 et 2 ($p < 0,005$). Au bout de 9 jours, elle est réduite de plus de moitié (57,9 %) mais reste tout de même 4 fois supérieure à celle des témoins.

- Evolution de l'aluminium plasmatique et urinaire chez le rat

adulte.

La Figure 2 représente l'évolution de la teneur en Al du plasma.

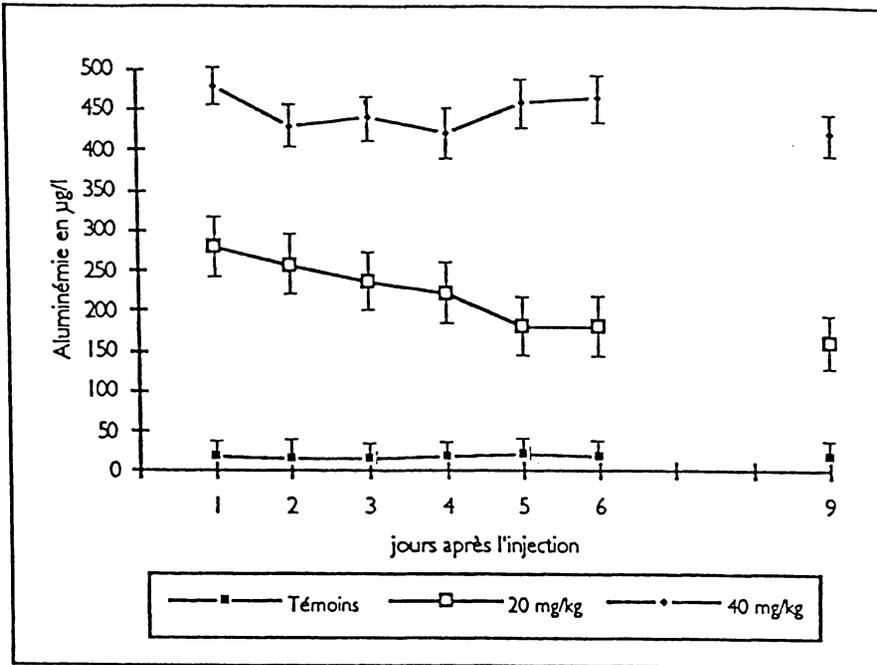


Figure 2 Evolution de l'Al plasmatique chez le Rat adulte

Suite à une injection unique de chlorure d'aluminium à la dose de 40 mg/kg, l'aluminémie atteint en moyenne 480 µg/l après 24 h. Au bout de 9 jours, elle n'a diminué que de 12,5 % ($p < 0,05$) et n'a pas varié significativement entre les jours 2 et 9.

Durant les 9 premiers jours le taux de mortalité, calculé sur la base de 40 rats, est inférieur à 10 %. Des essais sur 12 animaux ont montré qu'après le 9^{ème} jour le taux de mortalité atteint 40 %.

A la dose de 20 mg/kg, l'aluminémie atteint en moyenne 280 µg/l après 24 h. Elle diminue ensuite régulièrement pour atteindre 160 µg/l au 9^{ème} jour. A ce stade elle a baissé de 42,8 % par rapport au jour 1 mais elle est encore 8 fois supérieure à celle des témoins.

A la dose de 20 mg/kg, sur la base du nombre de rats utilisés (35), le taux de mortalité est de 0 % après 9 jours.

La Figure 3 représente l'évolution du taux d'Al dans les urines de 24 h. Après 24 h, l'aluminurie est respectivement de 8,7 et 9,5 μg aux doses de 20 et 40 mg/kg. Au jour 2, ces valeurs passent respectivement à 12,1 et 13,4 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ puis, au cours des 8 jours suivants elles ne varient plus de manière significative. Au bout de 9 jours elles sont encore en moyenne respectivement 5,9 et 6,6 fois supérieures aux taux décelés chez les témoins. Durant cette période, l'aluminurie ne varie pas significativement entre les deux groupes.

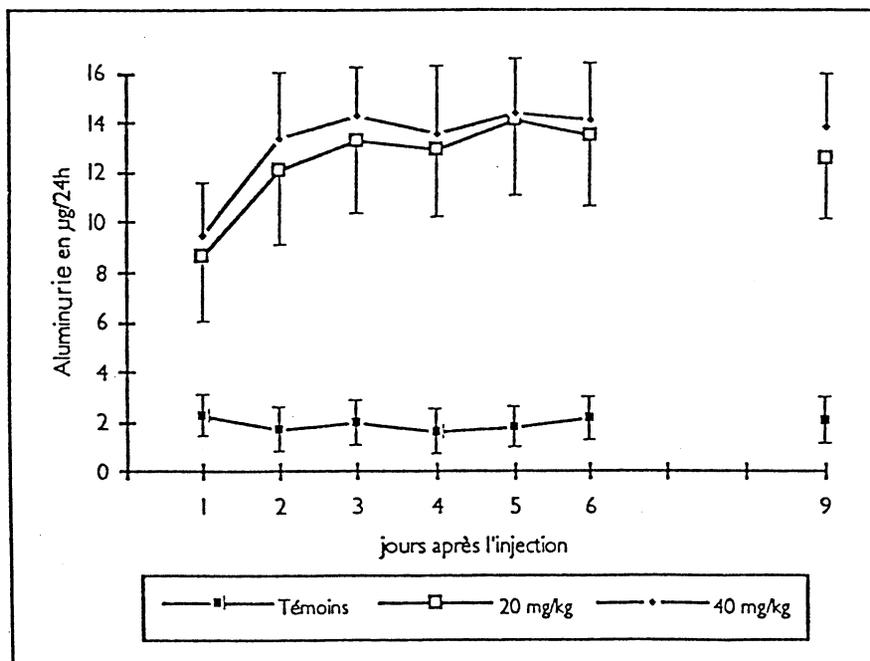


Figure 3 Evolution de l'Al urinaire chez le Rat adulte

Seconde expérience

- Activité de la cholineacétyltransférase cérébrale

L'activité de la cholineacétyltransférase figure dans le tableau I. Les chiffres expriment des moyennes \pm SD.

Tableau I : Effet d'une intoxication au chlorure d'Al (40 mg/kg) par voie IP sur l'activité spécifique de la cholineacétyltransférase (CAT)

		Activité de la cholineacétyltransférase (nmoles/heure/mg de protéine)
Rats de 15 j	Témoins	15,2 ± 2,1
	Traités	16,1 ± 0,9
Rats adultes	Témoins	26,9 ± 2,0
	Traités	28,0 ± 2,1

Les lots des rats témoins et des rats traités, jeunes ou adultes, comportent chacun 6 animaux.

Chez les jeunes rats ainsi que chez les rats adultes, l'intoxication aluminique ne modifie pas l'activité de la cholineacétyltransférase cérébrale.

- Concentration en Al du plasma et de l'homogénat cérébral

Les résultats des dosages sont inscrits dans le tableau II :

Tableau II : Concentrations en Al du plasma et de l'homogénat cérébral.

		plasma (en µg/l)	homogénat cérébral (µg/g de tissu frais)
Rats de 15 j	Témoins	34 ± 7	1,90 ± 0,45
	Traités	85 ± 20*	1,75 ± 0,36
Rats adultes	témoins	30 ± 13	3,42 ± 0,68
	traités	420 ± 89*	3,25 ± 1,05

Les lots des rats témoins et des rats traités jeunes ou adultes comportent chacun 6 animaux.

Différence significative par rapport aux témoins : * p < 0001.

DISCUSSION

Pendant les 9 jours durant lesquels l'aluminémie est suivie, les jeunes rats subissent des changements importants : le métabolisme se modifie, en particulier au moment du sevrage (21^{ème} jour), et la croissance est accélérée. La prise de poids est d'autant plus rapide que la réduction progressive des portées fait que les jeunes restants s'alimentent davantage. L'aluminium encore présent dans le sang est donc progressivement dilué. Enfin le renouvellement cellulaire est rapide, ce qui augmente les capacités de fixation dans certains tissus. L'influence de ces paramètres fait que l'on ne peut comparer réellement l'évolution du taux d'aluminium sérique entre le jeune et l'adulte.

Chez le jeune le suivi a été étudié à titre indicatif. Toutefois les résultats obtenus appellent plusieurs remarques : malgré tous les facteurs qui tendent à faire abaisser l'aluminémie, celle-ci ne diminue que de 14,4% en 6 jours à la dose de 40 mg/kg.; ceci prouve que les capacités d'élimination rapide sont nettement dépassées.

Le taux d'aluminium plasmatique des rats ayant reçu une injection de 20 mg/kg devrait être environ moitié moins élevé que celui des rats ayant reçu une injection de 40 mg/kg. Or la différence n'est que de 13,6% après 24 h et de 34,2% après 5 jours. En tenant compte des écarts-types, on peut considérer qu'elle atteint 50% au bout de 6 jours seulement. Ceci est lié à la croissance et au fait que, probablement, à la dose de 40 mg/kg, davantage d'aluminium pénètre dans les tissus qu'à la dose de 20 mg/kg.

Par exemple le foie, dont la masse double durant cette période, concentre fortement l'aluminium. Toutefois, ce dernier ne stimule pas la formation de métallothionéines (Van der Voet et al. 1992), protéines qui favorisent la fixation de certains métaux dans les tissus tels que le cadmium, le zinc, le cuivre (Bremmer, 1981).

Chez l'adulte, à la dose de 40 mg/kg, l'aluminémie diminue entre les jours 1 et 2 qui suivent l'injection puis ne varie plus jusqu'au jour 9. Par contre, à la dose de 20 mg/kg, la diminution est faible mais constante durant toute cette période. Dans le premier cas le taux plasmatique est très supérieur à la capacité d'élimination journalière si bien que celle-ci, après 9 jours, n'a pas encore d'influence sur l'aluminémie. Yokel et McNamara (1989) qui ont administré du lactate d'aluminium à des lapins par voie IV en une seule fois, à la dose de 200 μ moles/kg ont montré que l'aluminémie est réduite de moitié après 42 jours seulement, et qu'il faut 128 jours pour qu'elle soit équivalente aux témoins. Toujours à 40 mg/kg, l'élimination urinaire augmente entre les jours 1 et 2, ce qui correspond à la chute du taux plasmatique d'Al durant cette même période. Ensuite, elle semble avoir atteint un maximum qui, en moyenne, se situe entre 12 et 14 μ g/24 h. Le fait que le taux d'élimination urinaire n'augmente pas lorsque l'on passe de 20 à 40 mg/kg d'Al prouve que la capacité maximale d'élimination est déjà atteinte à la dose de 20 mg/kg.

Enfin dans les cages à métabolisme il y a toujours un risque de contamination par les fèces mais les effets sont limités compte tenu des doses éliminées par voie urinaire.

Si, à la dose de 40 mg/kg l'aluminémie ne change pas chez l'adulte alors qu'elle diminue chez le jeune, c'est parce que chez ce dernier l'aluminium est partiellement dilué par suite de la croissance et du renouvellement cellulaire accéléré.

Aux deux doses testées, chez le rat de 15 j et chez le rat adulte, une grande partie de l'aluminium injecté n'est pas éliminée au bout de 9 jours. Chez l'Homme, en raison de cette faible capacité d'élimination, les patients nourris par voie parentérale peuvent être l'objet d'une intoxication aluminique. Ainsi Koo et al. (1986) ont montré que chez des enfants âgés de 29 à 41 semaines nourris par voie intraveineuse, et dont la fonction rénale est normale, le taux d'aluminium plasmatique augmente progressivement, du fait d'une élimination incomplète de l'aluminium contenu dans la solution nutritive. Allain et al. (1990) signalent le cas d'un homme en bonne santé prenant du sucralfate par voie orale à raison de 4 g/j pendant 28 jours chez qui le taux d'aluminium plasmatique a diminué rapidement après la fin de l'intoxication alors que le taux d'aluminium urinaire est resté élevé pendant 10 jours. Selon ces auteurs, l'aluminium éliminé au cours de cette période est celui qui a été fixé temporairement dans certains tissus. Priest et al (1991) rapportent qu'un homme adulte volontaire âgé de 41 ans ayant reçu une injection de citrate d'²⁶Al par voie intraveineuse n'avait toujours pas éliminé 7% du toxique au bout de 170 jours.

Lors de la nutrition parentérale totale, 40% de l'aluminium contenu dans la solution serait retenu par l'organisme chez l'adulte (Klein et al. 1982); chez l'enfant, la quantité retenue atteindrait 75% (Sedman et al.1985). D'après Vargas et al. (1988), de l'aluminium est encore fixé dans le tissu osseux deux ans après la fin d'une nutrition parentérale totale et prolongée.

Dans le plasma, 95% de l'aluminium est lié à des protéines (Klein et al. 1982), essentiellement à la transférine (Martin et al. 1987) et le reste à des composés de faible poids moléculaire dont le citrate, si bien que sa "clearance" est faible: elle ne représente que 5% de la filtration glomérulaire (Polinsky et Gruskin 1984). Selon Sjögren et al. (1983), la fraction libre ou fixée au citrate est éliminée rapidement alors que la fraction liée à la transférine se fixe en partie dans les tissus et est éliminée beaucoup plus lentement. Maitani et al. (1994) ont pratiqué des injections intrapéritonéales de citrate d'Al, de malate d'Al, de tartrate d'Al et d'isocitrate d'Al à des souris à la dose de 20 mg/kg puis ont évalué les concentrations d'Al dans le foie et le rein 3 h après l'injection, ainsi que l'élimination urinaire . Ils ont ainsi montré que seul le citrate d'Al entraîne une élévation de la concentration d'Al hépatique. D'autre part, en ajoutant les différents sels à du sérum, in vitro, ils ont constaté que le citrate d'Al se retrouve uniquement dans la fraction de faible poids moléculaire, alors que les autres

composés sont présents à la fois dans les fractions de faible poids moléculaire et de poids moléculaire élevé. Ils en ont déduit que, *in vivo*, l'aluminium lié à des composés de faible poids moléculaire est rapidement excrété dans l'urine alors que l'aluminium lié à des composés de poids moléculaire élevé s'accumule dans le foie. Dans nos expériences, l'essentiel de l'aluminium éliminé durant les premiers jours correspond probablement à la fraction libre ou fixée aux composés plasmatiques de faible poids moléculaire, dont le citrate. L'autre partie se fixe dans certains tissus, en particulier dans les tissus riches en fer comme la rate, le foie, les reins, qui accumulent fortement l'aluminium (Ganrot. 1986) car ils sont riches en récepteurs de la transferrine, transporteur à la fois du fer et de l'aluminium (Partridge et al. 1987). Le tissu osseux concentre également le toxique, mais principalement au niveau extracellulaire (Andress et al. 1985).

L'expérience 2 révèle qu'au bout de 48 h, le taux d'Al n'a pas augmenté dans le cerveau basal antérieur et le néostriatum, aussi bien chez le jeune que chez l'adulte. Bien que sa concentration dans le plasma soit très élevée, l'aluminium pénètre très lentement dans le cerveau comme l'ont montré de très nombreux travaux. Des expériences d'intubation gastrique au lactate et au chlorure d'aluminium ont cependant révélé que, sur une période de 10 jours, l'aluminium parvient à se concentrer dans le cerveau du jeune mais pas de l'adulte (Cherret et al. 1992; Cherret et al. 1994). Or dans ces intoxications par voie orale les taux sanguins d'Al étaient beaucoup plus faibles que dans les intoxications par voie IP. Il paraît donc logique de penser qu'au bout de 9 jours, l'aluminium s'est davantage accumulé dans le cerveau du jeune que dans celui de l'adulte. La raison est que chez le premier la barrière hémocéphalique est encore immature.

L'activité de la cholineacétyltransférase n'est pas modifiée chez le rat jeune et adulte. Soit l'enzyme n'est pas atteinte par Al, soit elle l'est mais durant une période trop brève ou à une dose trop faible. Chez le rat de 15 jours intoxiqué par intubation gastrique durant 10 jours, l'activité de l'enzyme diminue, peut-être à cause d'un effet différé de Al, qui peut agir dans les premiers jours du traitement, lorsque l'animal est plus jeune (Cherret et al. 1992). En ce qui concerne le rat adulte, ces résultats peuvent être rapprochés de ceux de Johnson et Jope (1986) qui, après avoir administré du citrate d'Al à des rats adultes par injection intracrânienne unique à la dose de 0,5 μ mole d'Al n'ont pas observé d'effet sur la concentration en acétylcholine dans le cortex. Toutefois le chlorure d'Al peut entraîner une diminution de l'activité de la cholineacétyltransférase chez le rat adulte, mais l'intoxication doit être poursuivie sur une période plus longue, et à une dose relativement importante de façon à obtenir une élévation de la concentration en Al dans le cerveau (Bilkei-Gorzo. 1994; Cherret et al. sous presse).

CONCLUSION

Les résultats expérimentaux confirment les observations cliniques: l'aluminium plasmatique, du fait de sa liaison avec des composés non ultrafiltrables au niveau

glomérulaire, est éliminé très lentement et s'accumule ainsi dans différents tissus. C'est la raison pour laquelle il paraît indispensable de revoir à la baisse les taux maximum d'aluminium autorisés dans les solutions parentérales, comme le préconise Klein (1995).

REMERCIEMENTS

Cette recherche a été soutenue par la Fondation pour la Recherche Médicale Comité Lorraine.

BIBLIOGRAPHIE

- ALFREY A.C., LE GENDRE G., KAEHNY M.S. and KAEHNY W.D. (1976) The dialysis encephalopathy syndrome : possible aluminum intoxication. *N. Engl. J. Med.*, 294, 184-188
- ALFREY A.C. (1984) Aluminum intoxication. *N. Engl. J. Med.*, 310, 1113-1115
- ALLAIN P., MAURAS Y., KRAKI N., COURNOT A. and LARCHEVEQUE J.(1990) Plasma and urine aluminum concentrations in healthy subjects after administration of sucralfate. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 29, 391-395
- ANDRESS D.L., OTT S.M., MALONEY N.A., SHERRARD D.J. (1985) " Effect of parathyroidectomy on bone Aluminum accumulation in chronic renal failure". *N. Engl. J. Med.*, 312, 468-473
- BERNUZZI V., DESOR D. and LEHR P.R. (1989) Effects of postnatal aluminum lactate exposure on neuromotor maturation in the Rat. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 42, 451-455 .
- BILKEIN-GORZO A. (1994) Effect of chronic treatment with aluminum compound on rat brain choline acetyl transferase activity. *Pharmacol. Toxicol.* 74, 359-360
- BREMMER I. (1981) The nature and function of metallothionein. Dans "Trace element metabolism in Man and Animals" *Australian Academy of Science, Camberra*; p. 637
- CHERRORET G., BERNUZZI V., DESOR D., HUTIN M.F., BURNEL D. and LEHR P.R. (1992) Effects of postnatal aluminum exposure on choline acetyltransferase activity and learning abilities in the Rat. *Neurotoxicol. Teratol.*, 14, 259-264
- CHERRORET G., CAPOLAGHI B., DESOR D., KELLER J.M. et LEHR P.R. (1994) Effet d'une intoxication aluminique par inyubation gastrique chez le Rat adulte : Etude comparative avec le Rat en développement. *Bull. Acad. Soc. Lorr. Sciences* 33, 61-76
- CHERRORET G., CAPOLAGHI B., HUTIN M.F., BURNEL D., DESOR D. and LEHR P.R. (1995) Effects of postnatal aluminum exposure on biological parameters in the rat plasma. *Toxicol. Lett.*, 78, 119-125

- CHERRORET G., DESOR D., HUTIN M.F., BURNEL D., CAPOLAGHI B. and LEHR P.R. Effects of aluminum chloride on normal and uraemic adult male rats : tissue distribution, brain choline acetyltransferase activity and some biological variables. *Biol. Tr. Elem. Res.*, (sous presse)
- FONNUM F. (1975) A rapid radiochemical method for the determination of choline acetyltransferase. *J. Neurochem.*, 24, 407-409
- GAITONDE M.K. and RICHTER D. (1966) Changes with age in the utilization of glucose carbon in liver and brain. *J. Neurochem.*, 13, 1309-1316
- GALLE P. (1981) Mécanismes d'élimination rénale de deux éléments du groupe IIIA de la classification périodique : l'aluminium et l'indium. *C.R. Acad SciParis*, 292, 91-96
- GANROT P.O. (1986) Metabolism and possible health effects of aluminum. *Environ. Health Perspect.*, 65, 363-441
- GILLI P., de BASTIANI P., FAGIOLI F., BUONCRITIANI U., CAROBI C., STABELLINI N., SQUERZANTI R., ROSANTI G. and FARINELLI A. (1980) Positive aluminum balance in patients on regular peritoneal treatment: an effect of low dialysate pH ? *Proc. Eur. Dial. Transpl. Ass.*, 17, 219-225
- GLOWINSKI J and IVERSEN L.L.(1966) Regional studies of catecholamines in the Rat brain. I Disposition of (³H) norepinephrine, (³H) dopamine and (³H) dopa in various regions of the brain. *J. Neurochem.* 13, 655-669
- JOHNSON G.V.W. and JOPE R.S. (1986) Aluminum increases cyclic AMP in rat cerebral cortex in vivo. *Life Sci.*, 39, 1301-1305
- KLEIN G.L. (1995) Aluminum in parenteral solutions revisited again. *Am.J. Clin. Nutr.*, 61, 449-456
- KLEIN G.L., ALFREY A.C., MILLER N.L., SHERRARD D.J., HAZLET T.K., AMET M.E. and COBURN J.W. (1982) Aluminum loading during total parenteral nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 35, 1425-1429
- KOO W.W.K., KAPLAN L.A., BENDON R., SUCCOP P., TSANG R.C., HORN J. and STEICHEN J.J.(1986) Response to aluminum in parenteral nutrition during infancy. *J. Pediatr.*, 109, 877-883
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L. and RANDALL R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275
- MAITANI T., KUBOTA H., HORI N., YOSHIHIRA K., and TAKEDA M. (1994) Distribution and Urinary Excretion of Aluminium Injected with Several Organic Acids into Mice : Relationship with chemical State in Serum Studied by the HPLC-ICP Method. *J. Appl. Toxicol.*, 14, 257-261
- MARTIN R.B., SAVORY J., BROWN S., BERTHOLF R.L., WILLS M.R. (1987) Transferrin binding of Al³⁺ and Fe³⁺. *Clin. Chem.*, 33, 405-407

- MILLINER D.S., MALEKZADEH M., LIEBERMANN E. and COBURN J.W. (1987) Plasma aluminum levels in pediatric dialysis patients : comparison of hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Mayo. Clin. Proc.*, 62, 269-274
- PARKINSON I.S., WARD M.K. and KERR D.N.S. (1981) Dialysis encephalopathy, bone disease and anemia : the aluminium intoxication syndrome during regula haemodialysis. *J. Clin. Pathol.*, 34, 1285-1294,
- PARTRIDGE W.M., EISENBERG J. and YANG J. (1987) Human blood-brain barrier transferrin receptor. *Metabolism.*, 36, 892-895
- POLINSKY M.S. and GRUSKIN A.B. (1984) Aluminum toxicity in children with chronic renal failure. *J. Pediatr.*, 105, 758-761
- PRIEST N.D., NEWTON D., TALBOT J.R. (1991) Metabolism of aluminum-26 and gallium-67 in a volunteer following their injection as citra-tes. *UKAEA Harwell report AEA-EE-0206*
- SEDMAN A.B., KLEIN G.L., MERRITT R.J., MILLINER N.L., WEBER K.O., WIL-LIAM L.G., ANAND H., ALFREY A.C. (1985) Evidence of aluminum loading in infants receiving intravenous therapy. *N. Engl. J. Med.*, 312, 1337-1343
- SJÖGREN B., LUNDBERG I. and LIDUMS V. (1983) Aluminum in the blood and urine of industrially exposed workers. *Br. J. Ind. Med.*, 40, 301-304
- SZCZEKOCCI W. and CHMIELEWSKI J. (1978) Indices of the occupational exposure to aluminium oxide dusts. *Bull. Inst. Marit. Trop. Med. Gdynia* 29, 37-42
- VAN DER VOET G.B., BRANDSAMA A.E., HEIJINK E. and de WOLFF F.A. (1992) Accumulation of aluminium in rat liver : association with constituents of the cytosol. *Pharmacol. Toxicol.*, 70, 173-176
- VARGAS J.H., KLEIN G.L., AMENT M.E., et al. (1988) Metabolism bone disease of total parenteral nutrition : course after changing from casein to amino acids in parenteral solutions with reduced aluminum content. *Am. J. Clin. Nutr.*, 48, 1070-1078
- WILLS M.R. and SAVORY J. (1983) Aluminum poisoning : dialysis encephalopathy, osteomalacia and anaemia. *Lancet*, 2, 29-34
- YOKEL R.A. and McNAMARA P.J. (1989) Elevated Aluminum persists in serum and tissue of Rabbits after a six-hour infusion. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 99, 133-138