

376
979
118

N° d'ordre : 467

50376
1979
118

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES
ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir

le Grade de Docteur ès-Sciences Naturelles

par

Maryvonne WAREMBOURG

Etude Radioautographique de la Fixation d'Hormones Stéroïdes Tritiées (Estradiol, Progestérone, Promégestone, Corticostérone, Dexaméthasone) au Niveau du Système Nerveux Central, de l'Hypophyse et du Tractus Génital chez divers Mammifères



soutenue le 20 Décembre 1979 devant la Commission d'Examen

MM. M. DURCHON,	Président
J. BARRY,	Rapporteur
E.E. BAULIEU,	Rapporteur
B. DROZ,	Rapporteur
C. KORDON,	Examineur
J.-P. ROUSSEAU,	Examineur

DOYENS HONORAIRES De l'Ancienne Faculté des Sciences

MM. R.DEFRETIN, H.LEFEBVRE, M.PARREAU.

PROFESSEURS HONORAIRES des Anciennes Facultés de Droit
et Sciences Economiques, des Sciences et des Lettres

MM. ARNOULT, Mme BEAUJEU, BONTE, BROCHARD, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, CORSIN, DECUYPER, DEHEUVELS, DEHORS, DION, FAUVEL, FLEURY, P.GERMAIN, GLACET, GONTIER, HEIM DE BALSAC, HOCQUETTE, KAMPE DE FERIET, KOUGANOFF, LAMOTTE, LASSERRE, LELONG, Mme LELONG, LHOMME, LIEBAERT, MARTINOT-LAGARDE, MAZET, MICHEL, PEREZ, ROIG, ROSEAU, ROUELLE, SAVARO, SCHILTZ, WATERLOT, WIEMAN, ZAMANSKI.

ANCIENS PRESIDENTS DE L'UNIVERSITE
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

MM. R.DEFRETIN, M.PARREAU, J.LOMBARD.

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

M. M.MIGEON.

PROFESSEURS - 1ère Classe

M. BACCHUS Pierre	Astronomie
M. BEAUFILS Jean-Pierre	Chimie Physique
M. BECART Maurice	Physique Atomique et Moléculaire
M. BILLARD Jean	Physique du Solide
M. BIAYS Pierre	Géographie
M. BONNOT Ernest	Biologie Végétale
M. BOUGHON Pierre	Algèbre
M. BOURIQUET Robert	Biologie Végétale
M. CELET Paul	Géologie Générale
M. COEURE Gérard	Analyse
M. CONSTANT Eugène	Electronique
M. CORDONNIER Vincent	Informatique
M. DEBOURSE Jean-Pierre	Gestion des Entreprises
M. DELATTRE Charles	Géologie Générale
M. DELHAYE Michel	Chimie Physique
M. DERCOURT Jean	Géologie Générale
M. DURCHON Maurice	Biologie Expérimentale
M. ESCAIG Bertrand	Physique du Solide
M. FAURE Robert	Mécanique
M. FOURET René	Physique du Solide
M. GABILLARD Robert	Electronique
M. GRANELLE Jean-Jacques	Sciences Economiques
M. GRUSON Laurent	Algèbre
M. GUILLAUME Jean	Microbiologie
M. HECTOR Joseph	Géométrie
M. HEUBEL Joseph	Chimie Minérale

M. LABLACHE-COMBIER Alain	Chimie Organique
M. LACOSTE Louis	Biologie Végétale
M. LANSRAUX Guy	Physique Atomique et Moléculaire
M. LAVEINE Jean-Pierre	Paléontologie
M. LEBRUN André	Electronique
M. LEHMANN Daniel	Géométrie
Mme LENOBLE Jacqueline	Physique Atomique et Moléculaire
M. LHOMME Jean	Chimie
M. LOMBARD Jacques	Sociologie
M. LOUCHEUX Claude	Chimie Physique
M. LUCQUIN Michel	Chimie Physique
M. MAILLET Pierre	Sciences Economiques
M. MONTREUIL Jean	Biochimie
M. PARREAU Michel	Analyse
M. PAQUET Jacques	Géologie Générale
M. POUZET Pierre	Analyse Numérique
M. PROUVOST Jean	Minéralogie
M. SALMER Georges	Electronique
Mme SCHWARTZ Marie-Hélène	Géométrie
M. SEGUIER Guy	Electrotechnique
M. STANKIEWICZ François	Sciences Economiques
M. TILLIEU Jacques	Physique Théorique
M. TRIDOT Gabriel	Chimie Appliquée
M. VIDAL Pierre	Automatique
M. VIVIER Emile	Biologie Cellulaire
M. WERTHEIMER Raymond	Physique Atomique et Moléculaire
M. ZEYTOUNIAN Radyadour	Mécanique

PROFESSEURS - 2ème Classe

M. AL FAKIR Sabah	Algèbre
M. ANTOINE Philippe	Analyse
M. BART André	Biologie Animale
Mme BATTIAU Yvonne	Géographie
M. BEGUIN Paul	Mécanique
M. BELLET Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. BKOUCHE Rudolphe	Algèbre
M. BOBE Bernard	Sciences Economiques
M. BODARD Marcel	Biologie Végétale
M. BOILLY Bénoni	Biologie Animale
M. BOIVIN Jean-Claude	Chimie Minérale
M. BONNELLE Jean-Pierre	Chimie
M. BOSCOQ Denis	Probabilités
M. BREZINSKI Claude	Analyse Numérique
M. BRIDOUX Michel	Chimie Physique
M. BRUYELLE Pierre	Géographie
M. CAPURON Alfred	Biologie Animale
M. CARREZ Christian	Informatique
M. CHAMLEY Hervé	Géotechnique
M. CHAPOTON Alain	Electronique
M. COQUERY Jean-Marie	Psychophysiologie
Mme CORSIN Paule	Sciences de la Terre
M. CORTOIS Jean	Physique Nucléaire et Corpusculaire
M. COURBIS Bernard	Sciences Economiques
M. COUTURIER Daniel	Chimie Organique
M. CRAMPON Norbert	Sciences de la Terre
M. CROSNIER Yves	Electronique
Mme DACHARRY Monique	Géographie
M. DEBRABANT Pierre	Géologie Appliquée
M. DEGAUQUE Pierre	Electronique
M. DELORME Pierre	Physiologie Animale

M.	DE PARIS Jean-Claude	Mathématiques
M.	DEPREZ Gilbert	Physique du Solide et Cristallographie
M.	DERIEUX Jean-Claude	Microbiologie
M.	DEVRAINNE Pierre	Chimie Minérale
M.	DHAINAUT André	Biologie Animale
M.	DOUKHAN Jean-Claude	Physique du Solide
M.	DUBOIS Henri	Physique
M.	DUBRULLE Alain	Physique
M.	DUEE Gérard	Géologie
M.	DYMENT Arthur	Mécanique
Mme	EVARD Micheline	Chimie Appliquée
M.	FLAMME Jean-Marie	Technologie de Construction
M.	FOCT Jacques	Génie Mécanique
M.	FONTAINE Hubert	Physique
M.	FONTAINE Jacques	Electronique, Electrotechnique, Automatique
M.	FOURNET Bernard	Biochimie Structurale
M.	GOBLOT Rémi	Algèbre
M.	GOSSELIN Gabriel	Sociologie
M.	GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M.	GREVET Patrick	Sciences Economiques
M.	GUILBAULT Pierre	Physiologie Animale
M.	HERMAN Maurice	Physique Spatiale
M.	HOUDART René	Mathématiques
M.	JACOB Gérard	Informatique
M.	JOURNEL Gérard	Physique Atomique et Moléculaire
M.	KREMBEL Jean	Biochimie
M.	LAURENT François	Automatique
Mlle	LEGRAND Denise	Algèbre
Mlle	LEGRAND Solange	Algèbre
M.	LEMAIRE Jean	Physique
M.	LENTACKER Firmin	Géographie
M.	LEROY Jean-Marie	Méthodologie
M.	LEROY Yves	Electronique, Electrotechnique, Automatique
M.	LEVASSEUR Michel	Sciences Economiques
M.	LHENAFF René	Géographie
M.	LOCQUENEUX Robert	Physique Théorique
M.	LOSFELD Joseph	Informatique
M.	LOUAGE Francis	Electronique
M.	MACKÉ Bruno	Physique
M.	MAHIEU Jean-Marie	Physique Atomique et Moléculaire
M.	MAIZIERES Christian	Automatique
Mlle	MARQUET Simone	Probabilités
M.	MESSELYN Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M.	MIGEON Michel	Chimie Physique
M.	MIGNOT Fulbert	Analyse Numérique
M.	MONTEL Marc	Physique du Solide
M.	MONTUELLE Bernard	Biologie et Biochimie Appliquée
Mme	N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M.	NICOLE Jacques	Chimie Analytique
M.	NOTELET Francis	Electronique, Electrotechnique, Automatique
M.	PARSY Fernand	Mécanique
Mlle	PAUPARDIN Colette	Biologie Physiologie Végétales
M.	PECQUE Marcel	Chimie Organique
M.	PERROT Pierre	Chimie Appliquée
M.	PERTUZON Emile	Physiologie Animale
M.	PETIT Francis	Chimie Organique, Minérale et Analytique
M.	PONSOLLE Louis	Chimie Physique
M.	PORCHET Maurice	Biologie
M.	POVY Lucien	Automatique
M.	RACZY Ladislav	Electronique
M.	RICHARD Alain	Biologie

M. RIETSCH François
M. ROGALSKI Marc
M. ROUSSEAU Jean-Paul
M. ROY Jean-Claude
M. SALAMA Pierre
Mme SCHWARZBACH Yvette
M. SCHAMPS Joël
M. SIMON Michel
M. SLIWA Henri
M. SOMME Jean
Mle SPIK Geneviève
M. STERBOUL François
M. TAILLIEZ Roger
M. THERY Pierre
M. TOULOTTE Jean-Marc
M. VANDORPE Bernard
M. VILETTE Michel
M. WALLART Francis
M. WATERLOT Michel
M. WERNER Georges
Mme ZINN-JUSTIN Nicole

Chimie
Analyse
Physiologie Animale
Psychophysiologie
Sciences Economiques
Mathématiques
Physique
Sociologie
Chimie Organique
Géographie
Biochimie
Informatique
Biologie
Electronique, Electrotechnique, Automatique
Automatique
Chimie Minérale
Résistance des Matériaux
Chimie
Géologie Générale
Informatique Fondamentale Appliquée
Algèbre

C'est avec un très grand plaisir que je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur le Professeur DURCHON qui me fait l'honneur de présider le Jury de cette Thèse. C'est sous sa haute compétence scientifique que j'ai fait mes premiers pas dans la recherche. Il n'a cessé ensuite de s'intéresser à l'évolution de mon travail. Ses conseils judicieux ont contribué à améliorer la présentation de ce mémoire. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma vive reconnaissance.

Qu'il me soit permis de témoigner mon admiration et mon respectueux attachement à Monsieur le Professeur BARRY à qui je dois d'avoir pu entreprendre et développer ce travail. Sa haute compétence en matière de neuroendocrinologie, son esprit intuitif, sa constante disponibilité et ses qualités humaines m'ont permis de mener à bien mes recherches. Qu'il sache combien la confiance qu'il m'a toujours accordée et l'enthousiasme qu'il a su sans cesse me communiquer m'ont aidée dans ma tâche. Je suis fière de compter parmi ses élèves. Son exemple restera pour moi un stimulant pour la poursuite de ma carrière. Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Il m'est particulièrement agréable de remercier Monsieur le Professeur RAULIEU qui m'a fait le grand honneur d'accepter de juger cette Thèse malgré ses très lourdes tâches. Ses importants résultats scientifiques concernant les récepteurs des stéroïdes ont contribué à l'orientation de ce travail. Je le prie d'accepter l'assurance de mon admiration et l'expression de ma respectueuse considération.

Monsieur le Professeur DROZ m'a fait l'honneur de parrainer mes recherches dès mon entrée à l'I.N.S.E.R.M. et de juger ce travail en acceptant de participer à mon Jury de Thèse. Il m'a fait bénéficier de ses grandes connaissances en matière de techniques radioautographiques. L'appui que j'ai toujours trouvé auprès de lui, les conseils et les encouragements qu'il m'a prodigués m'ont été particulièrement précieux. Qu'il me permette de lui témoigner ma sincère et respectueuse reconnaissance.

Je tiens à remercier Monsieur KORDON, Maître de Recherche au C.N.R.S., qui m'a fait l'honneur de s'intéresser à mes recherches et d'en examiner les résultats. Sa grande compétence en neuroendocrinologie me rend son jugement important. Qu'il trouve ici l'expression de ma vive gratitude.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur ROUSSEAU qui a très aimablement accepté d'examiner cette Thèse. Ma satisfaction serait grande s'il pouvait trouver dans ce travail quelque intérêt. Je le prie de croire à toute ma reconnaissance.

Monsieur le Professeur MILGROM a toujours suivi mes travaux avec beaucoup de bienveillance. Ses conseils m'ont permis à maintes reprises de mieux orienter mes recherches. Je le prie d'accepter mes remerciements les plus chaleureux pour son aide efficace. Que cette Thèse soit l'occasion de lui exprimer ma reconnaissance.

Qu'il me soit également permis de remercier ceux dont les conseils, les encouragements de tous les jours et la grande compréhension m'ont été particulièrement précieux. Que mes parents trouvent dans cette Thèse le témoignage muet de ma très profonde gratitude.

S O M M A I R E

<u>INTRODUCTION</u>	P. 1
<u>PREMIERE PARTIE</u> : MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE RADIOAUTO- GRAPHIQUE POUR LA DETECTION DES RECEPTEURS DES HORMONES STEROIDES	P. 8
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES CONCERNANT LES RECEPTEURS ET LE ME- CANISME D'ACTION DES HORMONES STEROIDES	P. 9
I - DEFINITION DU "RECEPTEUR"	P. 9
II - MODELE CLASSIQUE DU MECANISME D'ACTION DES HORMONES STEROIDES	P. 10
MISE EN EVIDENCE PAR LA RADIOAUTOGRAPHIE DES RECEPTEURS DES HORMONES STEROIDES	P. 15
I - PROBLEMES POSES ET OBJECTIFS	P. 15
II - LES DIFFERENTES ETAPES TECHNIQUES	P. 16
1) Préparation du tracteur radioactif et con- gélation du spécimen contenant ce traceur .	P. 16
2) Montage de l'émulsion pelliculable (techni- que au stripping film)	P. 17
3) Préparation des radioautographies	P. 18
4) Exposition	P. 19
5) Développement et coloration	P. 19
6) Précautions à prendre et contrôles à effec- tuer	P. 20
III - LIMITES DE LA TECHNIQUE DANS LA DETECTION DES RECEP- TEURS DES STEROIDES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE	P. 21
IV - COMMENT DISTINGUER LA LIAISON SPECIFIQUE DE L'HORMONE AUX RECEPTEURS	P. 22
1) La spécificité tissulaire	P. 22
2) La spécificité hormonale	P. 23
3) L'affinité élevée	P. 23
4) La capacité limitée	P. 23
DISCUSSION et CONCLUSION	P. 25

<u>DEUXIEME PARTIE</u> : FIXATION DE L'OESTRADIOL ³ H AU NIVEAU DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL ET DE L'HYPOPHYSE CHEZ DIFFERENTS MAMMIFERES	P.	27
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES ET OBJECTIFS	P.	28
I - ROLE DE L'OESTRADIOL DANS LE CONTROLE NEUROENDOCRINE DE LA FONCTION GONADOTROPE	P.	28
1) Chez la rate	P.	28
2) Chez le singe rhésus femelle	P.	30
II - DIFFERENCES FONDAMENTALES DANS LES MECANISMES QUI CONTROLENT LE MODE DE DECHARGE DE LA SECRETION DE LH CHEZ CES ESPECES	P.	32
III - OBJECTIFS	P.	33
RESULTATS	P.	35
I - FIXATION DE L'OESTRADIOL ³ H CHEZ LA SOURIS FEMELLE ..	P.	35
1) Système nerveux central	P.	36
a) <i>Télencéphale</i>	P.	36
b) <i>Septum</i>	P.	37
c) <i>Aire préoptique, hypothalamus antérieur</i>	P.	37
d) <i>Hypothalamus médio-basal</i>	P.	38
2) Hypophyse	P.	38
II - FIXATION DE L'OESTRADIOL ³ H CHEZ LE COBAYE FEMELLE ..	P.	39
1) Système nerveux central	P.	40
a) <i>Télencéphale</i>	P.	40
b) <i>Septum</i>	P.	41
c) <i>Aire préoptique, hypothalamus antérieur</i>	P.	41
d) <i>Hypothalamus médio-basal</i>	P.	42
2) Hypophyse	P.	42
III - FIXATION DE L'OESTRADIOL ³ H CHEZ LE SINGE ECUREUIL FEMELLE	P.	43
1) Système nerveux central	P.	43
a) <i>Télencéphale</i>	P.	43
b) <i>Septum</i>	P.	44
c) <i>Aire préoptique, hypothalamus antérieur</i>	P.	44
d) <i>Hypothalamus médio-basal</i>	P.	44

2) Hypophyse	P.	45
DISCUSSION	P.	46
I - NATURE DU PRODUIT RESPONSABLE DE LA REACTION RADIOAUTOGRAPHIQUE	P.	46
II - DEMONSTRATION BIOCHIMIQUE DES RECEPTEURS DE L'OESTRADIOL DANS LES REGIONS MARQUEES PAR RADIOAUTOGRAPHIE .	P.	48
III - COMPARAISON DE NOS RESULTATS AVEC CEUX OBTENUS CHEZ D'AUTRES ESPECES	P.	50
IV - CONNEXIONS NEUROANATOMIQUES DES GROUPES CELLULAIRES OESTROGENO-SENSIBLES	P.	52
V - RELATIONS DES NEURONES OESTROGENO-SENSIBLES AVEC LES NEURONES ELABORANT DES POLYPEPTIDES	P.	55
VI - RELATIONS DES NEURONES OESTROGENO-SENSIBLES AVEC LES NEURONES AMINERGIQUES	P.	57
VII - REGIONS FIXANT L'OESTRADIOL ³ H IMPLIQUEES DANS LE CONTROLE DE L'OVULATION ET DE LA SECRETION GONADOTROPE	P.	59
1) Sites de rétroaction des oestrogènes chez les rongeurs	P.	59
a) <i>Rétroaction négative</i>	P.	59
b) <i>Rétroaction positive</i>	P.	60
α) Au niveau cérébral	P.	60
β) Au niveau hypophysaire	P.	62
2) Sites de rétroaction négative et positive des oestrogènes chez les primates	P.	63
CONCLUSION DE LA DEUXIEME PARTIE	P.	65

<u>TROISIEME PARTIE</u> : FIXATION DE PROGESTAGENES ³ H AU NIVEAU DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL, DE L'HYPHYPHYSE ET DU TRACTUS GENITAL CHEZ LE CO- BAYE ET LE RAT FEMELLES	P. 67
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES - PROBLEMES POSES ET OBJECTIFS	P. 68
I - LES RECEPTEURS DE LA PROGESTERONE DANS LE TRACTUS GE- NITAL DES RONGEURS	P. 68
1) Démonstration biochimique de la présence de récepteurs dans le tractus génital de diffé- rents rongeurs	P. 68
2) Variations dans la concentration des récep- teurs de la progestérone au cours du cycle oestral et lors de l'implantation chez le cobaye	P. 69
II - LES RECEPTEURS DE LA PROGESTERONE DANS LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL ET L'HYPHYPHYSE DES RONGEURS	P. 70
1) Tentatives de mise en évidence des récepteurs dans le système nerveux central et l'hypo- physe	P. 70
2) Découverte d'un composé de synthèse, le R5020 permettant la mise en évidence des récepteurs de la progestérone	P. 72
III - ACTION DE LA PROGESTERONE SUR LA SECRETION GONADOTRO- PE	P. 73
1) Influence facilitante	P. 73
2) Influence inhibitrice	P. 74
IV - ACTION DE LA PROGESTERONE SUR LE COMPORTEMENT SEXUEL	P. 75
1) Influence facilitante	P. 75
2) Influence inhibitrice	P. 76
V - PROBLEMES POSES ET OBJECTIFS	P. 77
RESULTATS	P. 81
I - FIXATION AU NIVEAU DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL ET DE L'HYPHYPHYSE	P. 81
1) Etude chez ³ le cobaye après injection de pro- gestérone ³ H	P. 81

a) <i>Système nerveux central</i>	P.	82
α) Aire préoptique	P.	82
β) Hypothalamus médio-basal	P.	82
b) <i>Hypophyse</i>	P.	82
2) Etude chez le rat après injection de R5020 ³ H	P.	83
a) <i>Système nerveux central</i>	P.	84
α) Régions du télencéphale et du septum	P.	84
β) Aire préoptique	P.	84
γ) Hypothalamus	P.	85
b) <i>Hypophyse</i>	P.	85
c) <i>Expériences de compétition</i>	P.	86
α) R5020 ³ H et corticostérone non marquée	P.	86
β) R5020 ³ H et progestérone non marquée	P.	86
II - FIXATION AU NIVEAU DU TRACTUS GENITAL	P.	86
1) Etude chez le cobaye ovariectomisé après injection et ³ après incubation avec la pro- gestérone ³ H	P.	86
a) <i>Expériences in vivo</i>	P.	87
α) Après injection de progestérone ³ H	P.	87
β) Expériences de compétition	P.	88
b) <i>Expériences in vitro : incubations</i>	P.	89
2) Etude chez le cobaye au cours du cycle oes- tral après injection de progestérone ³ H ..	P.	89
a) <i>Au cours du cycle oestral après injection de progestérone</i> ³ H	P.	90
α) Cornes utérines	P.	90
β) Endocol	P.	91
γ) Vagin	P.	91
b) <i>Après injection de progestérone ³H 24 heures après l'ova-</i> <i>riectomie pratiquée entre les dioestrus I et II</i>	P.	92

3) Etude chez le rat ovariectomisé après injection de R5020 ³ H (promégestone)	P. 92
a) Après injection de R5020 ³ H	P. 94
α) Utérus (cornes utérines et endocol)	P. 94
β) Vagin	P. 94
γ) Organe non cible	P. 94
b) Expériences de compétition	P. 96
α) R5020 ³ H et corticostérone non marquée	P. 96
β) R5020 ³ H et progestérone non marquée	P. 96
DISCUSSION	P. 97
I - NATURE DU PRODUIT RESPONSABLE DE LA REACTION RADIOAUTOGRA- TOGRAPHIQUE	P. 97
1) Après injection de progestérone ³ H	P. 97
2) Après injection de R5020 ³ H	P. 98
II - DISCUSSION DE NOS RESULTATS CONCERNANT LA DETECTION RADIOAUTOGRAPHIQUE DES RECEPTEURS DE LA PROGESTERONE	P. 99
1) Au niveau du tractus génital	P. 99
a) Mise en évidence des récepteurs chez le cobaye et le rat	P. 99
b) Variations quantitatives des récepteurs au cours du cycle oestral chez le cobaye	P. 101
2) Au niveau du cerveau et de l'hypophyse	P. 102
a) Distribution des cellules cibles aux progestagènes ³ H ...	P. 102
b) Comparaison entre la topographie des cellules fixant les progestagènes ³ H et celles des cellules oestrogéno-sensi- bles	P. 104
III - ROLE DES REGIONS MARQUEES DANS LE CONTROLE DE L'OVULA- TION ET DE LA DECHARGE GONADOTROPE	P. 106
IV - ROLE DES REGIONS MARQUEES DANS LA REGULATION DU COMPOR- TEMENT SEXUEL	P. 108
CONCLUSION DE LA TROISIEME PARTIE	P. 112

<u>QUATRIEME PARTIE</u> : FIXATION DE GLUCOCORTICOIDES ³ H AU NIVEAU DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL ET DE L'HYPO- PHYSE CHEZ LE RAT MALE	P. 115
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES - OBJECTIFS	P. 116
I - REGULATION DE LA SECRETION D'ACTH	P. 116
II - SITES EVENTUELS DE LA RETROACTION DES GLUCOCORTICOI- DES	P. 118
III - OBJECTIFS	P. 122
RESULTATS	P. 124
I - FIXATION DE LA CORTICOSTERONE ³ H CHEZ LE RAT MALE ..	P. 124
1) Système nerveux central : concentration de la radioactivité une heure après l'injection	P. 124
a) <i>Région olfactive</i>	P. 124
b) <i>Septum</i>	P. 125
c) <i>Formation hippocampique</i>	P. 126
a) <i>Hippocampe ou corne d'Ammon</i>	P. 126
b) <i>Gyrus dentatus</i>	P. 127
c) <i>Subiculum hippocampique</i>	P. 127
d) <i>Amygdale</i>	P. 128
e) <i>Cortex</i>	P. 128
f) <i>Thalamus, hypothalamus</i>	P. 128
2) Hypophyse : concentration de la radioactivité une heure après l'injection	P. 129
3) Système nerveux central et hypophyse : concen- tration de la radioactivité en fonction du temps entre l'injection et le sacrifice	P. 129
II - FIXATION DE LA DEXAMETHASONE ³ H CHEZ LE RAT MALE ...	P. 130
1) Système nerveux central	P. 130
2) Hypophyse	P. 131
DISCUSSION	P. 132
I - NATURE DU PRODUIT RESPONSABLE DE LA REACTION RADIOAU- TOGRAPHIQUE	P. 133
1) Après injection de corticostérone ³ H	P. 133
2) Après injection de dexaméthasone ³ H	P. 133
II - DISCUSSION ET COMPARAISON DE NOS RESULTATS AVEC CEUX OBTENUS DANS D'AUTRES ESPECES	P. 134

III - DEMONSTRATION BIOCHIMIQUE ET PROPRIETES DES RECEPTEURS DES GLUCOCORTICOIDES DANS LES REGIONS MARQUEES PAR RADIOAUTOGRAPHIE	P. 135
1) Présence et propriétés des récepteurs dans le cerveau et l'hypophyse	P. 135
2) Existe-t-il plusieurs populations de récep- teurs des glucocorticoïdes dans l'hypophyse et le cerveau ?	P. 136
a) <i>Cytosol de l'hypophyse</i>	P. 137
b) <i>Cytosol du cerveau</i>	P. 139
IV - ROLE DES REGIONS MARQUEES PAR LES GLUCOCORTICOIDES ³ H DANS LES MECANISMES DE REGULATION DE L'AXE HYPOPHYSE- SURRENALE	P. 140
1) Régions cérébrales	P. 140
2) Hypophyse	P. 143
CONCLUSION DE LA QUATRIEME PARTIE	P. 145
 <u>CONCLUSION GENERALE</u>	P. 148
 <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	P. 156

LISTE DES ABBREVIATIONS RETENUES DANS LE TEXTE

(d'autres abréviations rencontrées dans la littérature figurent entre parenthèses).

- - - -

- ACTH : hormone corticotrope ou corticotropine
- LH : hormone lutéinisante ou lutropine
- FSH : hormone folliculostimulante ou folliculotropine
ou follitropine
- Gn RH : stimuline des hormones gonadotropes
FSH et LH (= gonadotropin releasing hormones)
- CRH : stimuline de la libération d'hormone corti-
cotrope ou corticolibérine (= CRF)
- LH - RH : stimuline de l'hormone lutéinisante
LH ou lulibérine (= LRF).

INTRODUCTION

BERTHOLD (1849) semble avoir été le premier à soupçonner l'existence d'une sécrétion interne du testicule, responsable du développement et de la fonction des organes génitaux, ainsi que de l'apparition et du maintien du comportement sexuel. Il a montré en effet que la castration provoque chez le coq une atrophie du tractus génital et une diminution de l'activité sexuelle, cette dernière étant corrigée par la réimplantation du testicule dans la cavité abdominale.

Nous savons actuellement que les hormones stéroïdes, sécrétées par les gonades et par le cortex surrénal, sont des substances très actives susceptibles d'agir au niveau de "cibles" tissulaires multiples, notamment du système nerveux central. Nous ne pouvons pas, malgré son intérêt, entrer ici dans le détail de l'évolution historique des connaissances concernant ce sujet (conférer : BENOIT et ASSENMACHER, 1955 ; GIROD, 1968 ; BARRY, 1979b).

La fonction gonadotrope de l'hypophyse est démontrée pour la première fois par ASCHNER (1912) qui observe une atrophie des gonades chez des chiens après hypophysectomie. Les gonadotropines sont ensuite découvertes par ASCHHEIM et ZONDEK (1927), SMITH et ENGLE (1927). La sécrétion des différentes hormones élaborées par le lobe antérieur de l'hypophyse (préhypophyse ou adénohypophyse) est placée sous le contrôle du système nerveux central.

Des cellules neurosécrétrices hypothalamiques synthétisent des neuropeptides "préhypophysiotropes". Ces neuropeptides sont transportés à l'adénohypophyse par le système porte hypophysaire. Ils ont le pouvoir, soit d'augmenter l'activité sécrétoire des différents groupes cellulaires hypophysaires : ce sont les libérines (R F ou R H "releasing factors" ou "releasing hormones"), soit de l'inhiber : ce sont les statines (I F ou I H, "inhibiting factors" ou "inhibiting hormones"). Ces hormones peptidiques agissent principalement sur des récepteurs spécifiques liés au système adénylcyclasique membranaire des cellules adénohypophysaires.

La précision des actions exercées par les hormones préhypophysaires sur leurs effecteurs spécifiques, qu'il s'agisse des gonadotropines (FSH et LH) sur les glandes sexuelles ou de l'ACTH sur le cortex surrénal (pour ne citer que celles dont nous parlerons ici), implique que le débit de leur sécrétion ne puisse pas être laissé au simple jeu du hasard mais exige un système de régulation précis. Comme tous les systèmes de régulation, ceux qui contrôlent chacune des sécrétions préhypophysaires ont pour effet de moduler l'activité fonctionnelle des organes cibles et de l'intégrer dans l'ensemble des diverses manifestations métaboliques caractéristiques de la vie d'une espèce.

D'une manière générale, on considère que la sécrétion d'une hormone hypophysaire est en équilibre avec celle de la cellule cible. La régulation devient alors automatique : à toute variation de la sécrétion d'une hormone préhypophysaire répond une variation de la sécrétion hormonale de la glande cible. Ce mécanisme, actuellement reconnu comme étant à la base des régulations des hormones préhypophysaires a été désigné par HOSKINS (1949) sous le nom de "feedback" qui signifie rétroaction ou rétrocontrôle. Ce rétrocontrôle est dit négatif lorsque l'effet s'oppose à la cause qui lui a donné naissance ou la diminue. Ce mécanisme est véritablement régulateur. Il existe

aussi des mécanismes de rétrocontrôle positif. Dans ce cas, l'effet renforce la cause qui lui a donné naissance. Ce mécanisme n'est pas régulateur mais au contraire il s'agit d'un système régulièrement renforceur auto-entretenu. C'est un tel type de liaison qui existe entre l'appareil hypothalamo-hypophysaire et les glandes cibles sur lesquelles agissent les hormones préhypophysaires.

Cette régulation procède d'informations reçues au niveau des structures hypothalamiques et extra-hypothalamiques. Celles-ci tiennent sous leur dépendance les éléments neuroglandulaires hypothalamiques capables d'élaborer les neuropeptides ("gonadotropin releasing hormones" ou Gn RH) qui règlent la libération (et peut-être aussi la synthèse) des gonadotropines. Parmi ces informations, celles qui proviennent des glandes endocrines distales au moyen des rétroactions hormonales sont particulièrement importantes. Ainsi, la principale action de l'oestradiol et à un degré moindre celle de la progestérone dans le système nerveux central semblent être la régulation de la sécrétion gonadotrope préhypophysaire.

En 1932, HOHLWEG et JUNKMANN postulent l'existence d'un "sex center" dans le cerveau contrôlant les fonctions gonadotropes. FLERKÓ et SZENTÁGOTHAÏ (1957) sont les premiers à montrer que l'implantation de fragments ovariens dans l'aire hypothalamique antérieure entraîne une diminution du poids de l'utérus. Quant aux implantations d'oestradiol dans l'hypothalamus médio-basal, elles :

- diminuent la taille du nucléole des neurones du noyau arqué (LISK et NEWLON, 1963),
- empêchent l'apparition des "cellules de castration" dans l'hypophyse (LISK, 1963),
- réduisent la production des gonadotropines à en juger par l'atrophie des gonades et du tractus génital (LISK, 1960, 1967).

De tels effets sur la sécrétion gonadotrope soulèvent le problème des mécanismes par lesquels agissent les oestrogènes. En 1961, BARRACLOUGH et GORSKI distinguent un "sex center" rostral localisé dans la région préoptique, contrôlant la sécrétion cyclique des gonadotropines chez la femelle et un centre caudal, localisé dans la région hypothalamique ventro-médiane, responsable de la sécrétion tonique des gonadotropines. La localisation exacte de ces centres reste à préciser.

De ce fait, établir la localisation des sites de fixation des stéroïdes s'avérait être d'une importance primordiale pour la compréhension des mécanismes de contrôle des sécrétions préhypophysaires.

Dans le domaine de la biochimie, la découverte des sites récepteurs intracellulaires des hormones stéroïdiennes dans le cerveau et les tissus cibles non nerveux est rendue possible par la synthèse au cours de ces vingt dernières années de stéroïdes marqués au tritium de haute activité spécifique. Les expériences de GLASCOCK et HOEKSTRA (1959), de JENSEN et JACOBSON (1962), démontrent par des techniques biochimiques, qu'après injection d'oestrogènes radioactifs, certains organes cibles tels que l'utérus et l'hypophyse, sont capables de concentrer sélectivement et de retenir l'hormone radioactive. Ultérieurement les travaux effectués par les équipes de recherches de JENSEN (JENSEN et coll. 1968), de BAULIEU (ALBERGA et BAULIEU, 1965 ; BAULIEU et coll. 1967, 1971) de GORSKI (TOFT et GORSKI, 1966 ; GORSKI et coll. 1968) établissent la nature protéique et la localisation intracellulaire des récepteurs des oestrogènes qui sont les premiers récepteurs hormonaux à être caractérisés. Des résultats semblables sont ensuite établis pour d'autres hormones stéroïdes aussi bien sexuelles (progestérone et testostérone) que corticosurréaliennes (conférer : RASPÉ, 1971).

Cependant, les techniques biochimiques, ne respectant pas l'organisation tissulaire, ne permettent pas de détecter *in situ* les récepteurs des stéroïdes dans les cellules cibles. La méthode qui présente l'avantage de localiser des substances à l'intérieur des cellules spécifiques en maintenant en place les structures biologiques, est la radioautographie (conférer : LARRA et DROZ, 1970 ; DROZ, 1975 ; LEBLOND, 1976).

Avant d'examiner les sites d'impact des hormones stéroïdes dans divers organes, il nous a fallu mettre au point au laboratoire une technique radioautographique qui tient compte des propriétés physico-chimiques de ces traceurs que sont les stéroïdes tritiés. Cette méthode est présentée dans la première partie de cette thèse.

Nous étudierons ensuite les sites de fixation de stéroïdes sexuels femelles ^3H impliqués dans le contrôle de la fonction gonadotrope et de glucocorticoïdes ^3H impliqués dans le contrôle de la fonction corticotrope.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous décrirons les sites de fixation de l'oestradiol ^3H au niveau du système nerveux central et de l'hypophyse chez différents mammifères.

Dans une troisième partie, nous examinerons la fixation de progestagènes ^3H (progestérone et R 5020) chez le cobaye et chez le rat non seulement au niveau cérébral mais également au niveau du tractus génital.

Enfin, la dernière partie de cette thèse sera consacrée à la localisation des glucocorticoïdes ^3H au niveau du système nerveux central et de l'hypophyse chez le rat.

Pour chaque partie, nous ferons un bref rappel des connaissances qui consacrent l'importance du rôle de l'hormone considérée dans les organes étudiés. De ces données nous dégagerons les objectifs qui ont fait l'objet de nos recherches puis nos résultats personnels seront discutés.

PREMIERE PARTIE

MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE RADIO-
AUTOGRAPHIQUE POUR LA DÉTECTION DES
RÉCEPTEURS DES HORMONES STÉROÏDES

L'application de la radioautographie à la détection des récepteurs des hormones stéroïdes pose des problèmes techniques particuliers. Avant de les exposer et de présenter la technique actuellement utilisée, nous ferons un bref rappel de la définition et des caractéristiques principales des stéroïdes ainsi que de leur mode d'action.

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES
CONCERNANT LES RECEPTEURS ET LE
MECANISME D'ACTION DES HORMONES STEROIDES

Nous rappellerons, dans ce paragraphe, quelques données essentielles (d'après les articles de synthèse de : BAULIEU, 1974, 1976, 1978 a et b ; O'MALLEY et MEANS, 1974 ; O'MALLEY et SCHRADER, 1976 ; McEWEN, 1976a; SCHWARTZ et Coll., 1977 ; SAEZ et BERTRAND, 1977), qui nous ont permis d'aborder, avec plus de précision, la détection des récepteurs des stéroïdes au moyen de la radioautographie. Certaines précautions méthodologiques qui facilitent l'interprétation et l'analyse des résultats obtenus seront considérées.

I - DEFINITION DU "RECEPTEUR"

Les hormones stéroïdes, élaborées par les glandes endocrines, sont de petites molécules qui sont efficaces même à de très faibles concentrations. Messagers chimiques, elles vont agir sur des organes ou cellules cibles qui renferment "des récepteurs" pour l'hormone considérée. En fait, un récepteur est une cible moléculaire de l'hormone. Il doit la reconnaître et déclencher une réponse cellulaire spécifique. Ainsi, les protéines plasmatiques de transport qui lient

les hormones de façon très spécifique ne sont pas des récepteurs au sens propre du terme.

L'existence de protéines intracellulaires, reconnaissant spécifiquement les molécules hormonales, est démontrée dans les cellules cibles. Ces mécanismes de reconnaissance impliquent des sites de liaison, ou sites "réceptifs". La liaison de l'hormone mène à l'activation d'un site "exécutif" du récepteur qui interagit au niveau d'un site "accepteur" cellulaire où aura lieu l'expression de l'action physiologique de l'hormone considérée.

Il a été démontré que l'administration d'un stéroïde à un animal entraîne une augmentation de la synthèse d'ARN dans les cellules cibles, suivie par une augmentation de la synthèse des protéines. Cependant, il n'a pas encore été exactement établi comment les hormones activent un gène.

II - MODELE CLASSIQUE DU MECANISME D'ACTION DES HORMONES STEROIDES

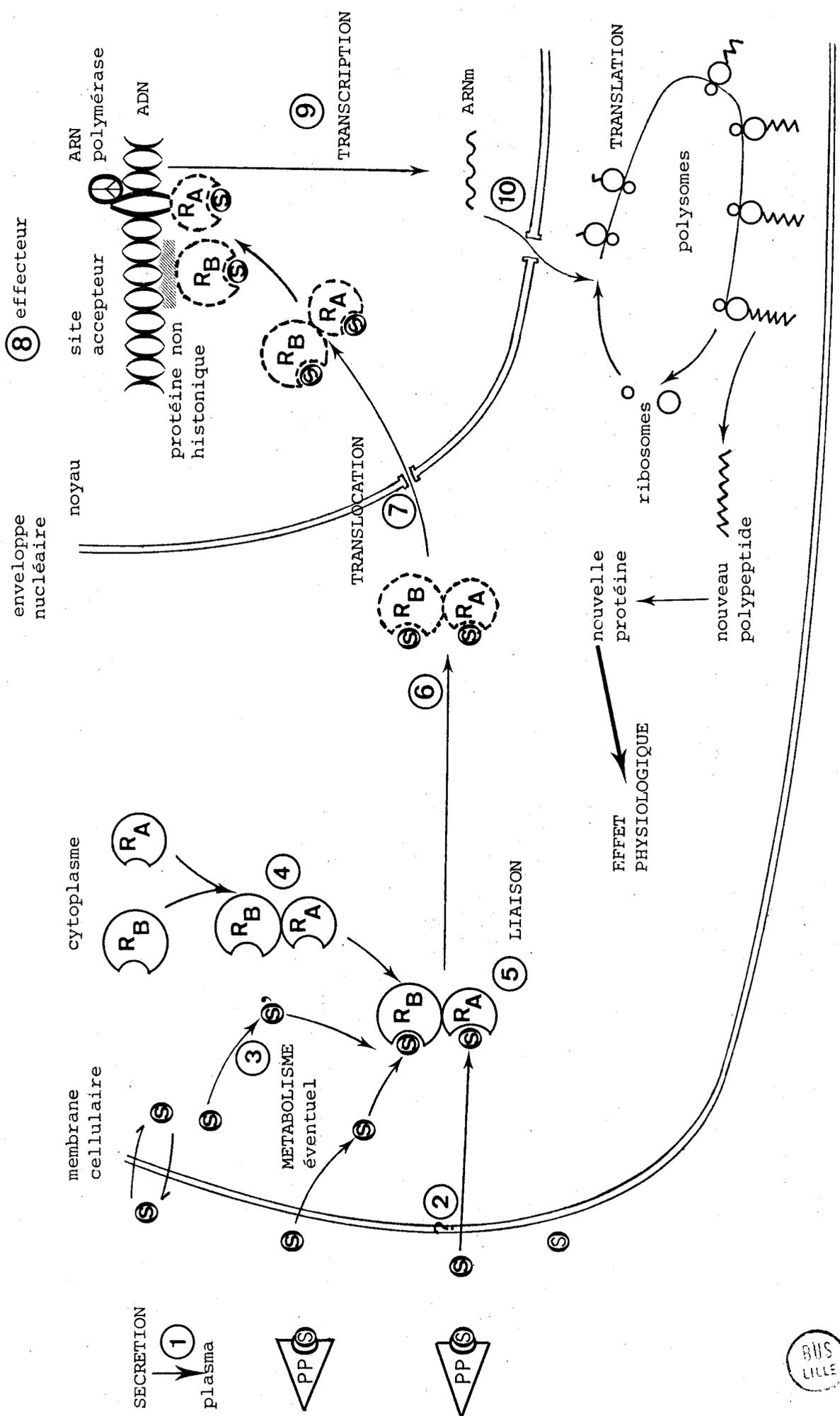
La connaissance du mécanisme d'action des hormones stéroïdes a considérablement progressé grâce à la biologie moléculaire et à l'utilisation de modèles simples tels que l'oviducte de poule. Celui-ci permet d'étudier la régulation par les stéroïdes de la biosynthèse d'une protéine du blanc d'oeuf: l'ovalbumine. Bien que ce modèle soit très éloigné de celui des cellules cibles du système nerveux central, il est vraisemblable que le mode d'action par lequel les stéroïdes hormonaux stimulent leurs cibles soit très similaire.

Résumons les différentes phases du mécanisme d'action des hormones stéroïdes au niveau de l'oviducte du poulet (fig. 1) :

F I G U R E 1

Schéma du mécanisme d'action des hormones stéroïdes dans l'oviducte de poulet (d'après SCHWARTZ et Coll., 1977 , modifié).

PP : protéine plasmatique transporteuse - RA et RB : les 2 sous-unités du récepteur cytosolique - S : stéroïde - S' : métabolite de S.



BUS LILLE

- ① Le stéroïde (S) sécrété circule dans le plasma essentiellement lié à un système protéique transporteur (PP) (par exemple, dans le sang humain, la transcortine pour le cortisol et la progestérone et la protéine plasmatique S.B.P. ou "sex steroid binding plasma protein" pour l'oestradiol et la testostérone).
- ② Le stéroïde entre dans la cellule cible sous sa forme libre. Il doit probablement rentrer dans les cellules non cibles et en ressortir. Il semble traverser assez facilement la membrane cellulaire. Le processus de passage transmembranaire n'est pas encore élucidé. Du fait de la solubilité lipidique des stéroïdes, on considère actuellement qu'il s'effectue par "diffusion". Ce passage pourrait être facilité par la présence tout à fait hypothétique d'une protéine membranaire transporteuse. Il a été récemment observé que les stéroïdes pouvaient agir à la surface de certaines cellules et conduire à des changements métaboliques sans intervenir au niveau nucléaire.
- ③ Dès son arrivée dans le cytoplasme, le stéroïde est actif par lui-même ou peut subir un métabolisme hormonal. Les métabolites peuvent alors être actifs.
- ④ La présence du récepteur cytosoluble spécifique caractérise la cellule cible. Ce récepteur est différent de la protéine correspondante du plasma. Il se trouve dans la fraction subcellulaire que constitue le surnageant d'un homogénat de tissu ultracentrifugé à 105 000 g pendant 90 minutes. Cette fraction, particulière, définie comme une fraction cytosoluble est appelée "cytosol" et contient les protéines solubles. Ces protéines sont de grosses molécules polymériques et asymétriques. Très instable, ce récepteur cytosoluble préexiste à l'entrée du stéroïde. Son ontogénèse et sa régulation sont encore mal connues. Sa forme "native" (4 à 8 S) réelle n'est pas parfaitement précisée car elle varie selon les conditions d'extraction et de purification. Il s'agit certainement d'une structure constituée d'un assemblage de sous-unités (RA, RB : fig. 1).

- ⑤ Le stéroïde ou son métabolite forme avec les sous-unités du récepteur un complexe relativement stable uni par des liaisons de haute affinité.

Dans les expériences *in vitro*, en milieux acellulaires, la liaison récepteur cytosolique - stéroïde s'effectue entre 0° et 37°C. La vitesse de réaction augmente en fonction de la température et en fonction de la quantité présente de stéroïde. La quantité d'hormone liée croît avec le temps jusqu'à saturation des "sites" libres du récepteur, où elle reste en plateau. La liaison est stable à 0°C pendant un temps variable selon le récepteur et le stéroïde.

La formation du complexe est régie par la loi d'action de masse. La vitesse d'association et celle de dissociation dépendent de la température, de la concentration en récepteur et en stéroïde. La liaison est réversible : si l'on modifie l'un des facteurs de la réaction d'équilibre, on peut renverser la réaction jusqu'à un autre équilibre. Suivant le stéroïde envisagé, la constante d'association est de l'ordre de 10^{10} M^{-1} , ce qui représente une très forte affinité. Cette constante est plus élevée que celle des protéines liantes du plasma, ce qui permet l'occupation sélective des sites de liaison par un ligand en faible concentration. Cette grande affinité implique aussi une très lente dissociation des complexes non covalents formés, ce qui explique la rétention tissulaire de l'hormone. Le nombre de sites de liaison est de l'ordre de 10^4 par cellule et peut varier entre 10^3 et $5 \cdot 10^4$ par cellule.

- ⑥ L'hormone va induire un changement des propriétés du récepteur qui a été appelé "activation acidophile". Celle-ci est thermo-dépendante ($0 \geq 20^\circ\text{C}$), elle semble consister en des modifications conformationnelles. Cette phase qui rend le complexe hormone-récepteur capable d'interagir avec une série de polyanions et l'ADN est capitale et nécessaire dans le déroulement du processus.

- ⑦ Ce complexe cytosolique activé ou "complexe néo-nucléaire" migre vers le noyau : c'est la translocation nucléaire.
- ⑧ Dans le noyau, le complexe hormone-récepteur activé va interagir avec des constituants de la chromatine au niveau d'un site appelé "accepteur nucléaire" pour stimuler la transcription de certains gènes d'ADN en ARN messagers spécifiques (ARNm). Ce site "accepteur" est constitué d'ADN et de protéines chromatinienne non histoniques. C'est ce complexe ternaire, entre stéroïde, récepteur cytosolique activé et accepteur nucléaire qui constitue "l'effecteur".
- ⑨ La transcription est activée au niveau de certains gènes qui codent pour la formation d'ARNm qui déterminent eux-mêmes les synthèses cellulaires caractéristiques de l'action hormonale.

D'après SCHWARTZ et Coll. (1977) (fig. 1) les deux sous-unités (A et B) du dimère récepteur de la progestérone lient une molécule d'hormone. La sous-unité B ne se lie pas à l'ADN seul mais aux complexes ADN-protéine non histonique de la chromatine de l'oviducte tandis que la sous-unité A se lie à l'ADN seul mais peu à la chromatine. Ces observations ont suggéré, à leurs auteurs, que la sous-unité A pouvait être la protéine régulatrice au niveau du gène tandis que la sous-unité B déterminerait la localisation de la protéine A. Ainsi, en l'absence du composant B, l'élément A isolé devrait rencontrer des difficultés à localiser les sites spécifiques (gènes) au niveau desquels il intervient tandis que la sous-unité B seule serait totalement inactive comparable à un stimulant transcriptionnel. En quelque sorte, il y aurait initialement reconnaissance, par la sous-unité B du récepteur, des sites spécifiques de liaison pour A dans certaines régions de la chromatine. La sous-unité A du dimère serait active en "déstabilisant" une portion d'ADN rendant ainsi de nouveaux sites disponibles à l'ARN polymérase pour déclencher la synthèse d'ARN.

- ⑩ Les ARNm spécifiques sont transférés dans le cytoplasme et migrent vers le réticulum endoplasmique. Cette phase post-transcriptionnelle va entraîner la synthèse de protéines spécifiques.

La liaison, la translocation et l'attachement nucléaire se font en quelques minutes.

Cet exposé du mécanisme commun d'action des stéroïdes hormonaux ne doit être considéré que comme un schéma général. Chaque stéroïde possède en effet des particularités propres dans son mode d'action.

MISE EN EVIDENCE PAR LA RADIOAUTOGRAPHIE
DES RECEPTEURS DES HORMONES STEROIDES.

I - PROBLEMES POSES ET OBJECTIFS

Les hormones stéroïdes sont classées dans le groupe des composés dits "solubles" qui peuvent être facilement perdus ou déplacés au cours du traitement histologique et lors de l'application de l'émulsion photographique. Toutes ces hormones dérivent du cholestérol. Elles en conservent l'essentiel de la structure polycyclique ainsi que les particularités lipophiles. De ce fait, l'utilisation de solvants organiques (alcools, toluène, ...) nécessairement employés lors d'une inclusion des tissus dans la paraffine est exclue. De plus, la réaction radioautographique des stéroïdes tritiés dans les tissus cibles résulte de la liaison non covalente de l'hormone marquée avec ses macromolécules réceptrices. L'immobilisation de cette liaison doit être préservée en évitant le passage des tissus dans des milieux liquides.

Au cours des années 1960 à 1970, diverses techniques susceptibles de réduire l'extraction et la translocation de substances diffusibles ont été proposées pour la microscopie photonique (FITZGERALD, 1961; FITZGERALD et Coll., 1961; STUMPF et ROTH, 1966, 1967; STUMPF, 1971 a et b; APPLETON, 1964, 1966, 1967, 1968). A l'heure actuelle, deux méthodes sont principalement employées pour étudier la localisation des récepteurs des stéroïdes. La première technique est basée sur l'emploi de coupes congelées, lyophilisées, montées à sec sur des lames émulsionnées séchées ("dry-mount" technique). La deuxième, qui est celle que nous employons, utilise des coupes congelées qui sont déposées sur des lames émulsionnées séchées ("thaw-mount" technique). Ce dernier procédé a été initialement décrit par APPLETON. Après quelques petites modifications, nous l'avons mis au point dans notre laboratoire et adapté à notre matériel.

II - LES DIFFERENTES ETAPES TECHNIQUES

La figure 2 résume les différentes étapes de la technique radioautographique que nous utilisons (WAREMBOURG, 1976). Les diverses manipulations décrites dans ce chapitre sont communes à l'ensemble des expériences que nous rapportons dans cette thèse. Les détails sur le matériel utilisé et le protocole expérimental propres à chaque type d'expérience sont précisés dans le chapitre spécifique.

1) Préparation du traceur radioactif et congélation du spécimen contenant ce traceur

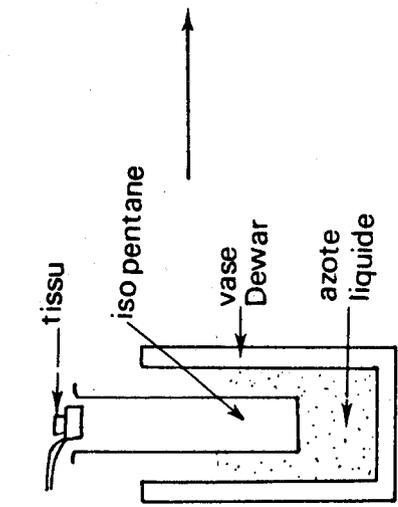
Les stéroïdes marqués au tritium sont obtenus de sources commerciales diverses (C.E.A., Saclay ; New England Nuclear Corporation, Boston) dans une solution benzène-éthanol (90 - 10). Les formules structurales des différentes hormones tritiées utilisées au cours de ce travail sont indiquées dans la figure 3. Le tritium présente le double avantage d'émettre un rayonnement de faible énergie et de conférer à ces molécules une haute radioactivité spécifique.

Nos expériences sont toujours programmées de façon à utiliser les traceurs dans les quelques jours suivant leur réception au laboratoire. Ainsi, la durée très limitée du stockage évite une détérioration du produit et une diminution de sa pureté.

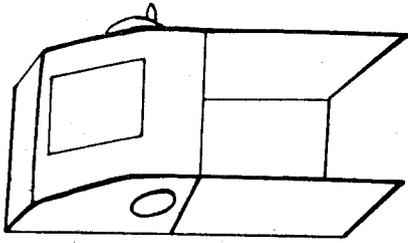
Avant l'expérimentation, le stéroïde marqué est mis à sec par évaporation sous vide ou sous un courant lent et continu d'azote. Il est ensuite mis en solution dans du sérum physiologique additionné de 10 à 20 % d'éthanol. Cette préparation est injectée à l'animal par voie sous-cutanée. L'animal est tué par décapitation un certain temps après l'injection ; ce temps est variable selon le type d'expérimentation. Les organes sont alors disséqués, le plus rapidement possible, et découpés en pièces. Selon la grosseur de ces dernières, deux modes de congélation ont été utilisés au cours de nos différentes expériences :

FIGURE 2

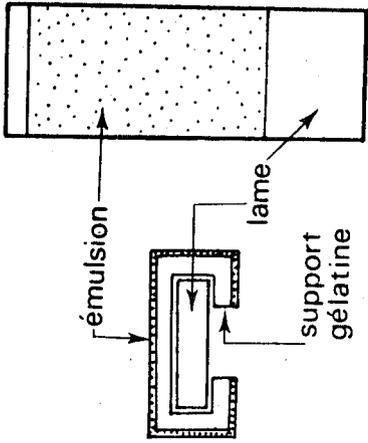
Les différentes étapes de la technique radioautographique pour la détection de substances diffusibles en microscopie photonique.



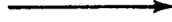
Tissus congelés dans iso-pentane refroidi à l'azote liquide



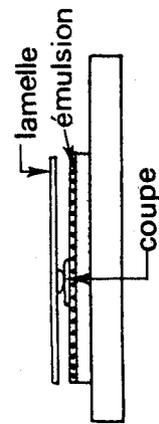
Coupes effectuées au cryostat (-20°C) en chambre noire (lampe rouge)



Coupes recueillies sur film à 0°C



Radioautographies exposées à -18°C. Les coupes restent congelées



Montage de la préparation

Développement
Coloration des coupes

Fixation

des coupes

- Dans le cas où les fragments d'organes prélevés sont peu volumineux (jusqu'à 3 à 4 mm³) ils sont plongés pendant 30 sec. à 1 mn dans de l'isopentane refroidi ou dans du propane liquéfié par l'azote liquide. L'isopentane est d'utilisation plus commode et moins dangereuse que le propane. Etant donné la petite taille des pièces, le danger de fragmentation des tissus est ainsi écarté. Avec ce mode de congélation, les tissus peuvent être stockés dans l'azote liquide jusqu'au moment de leur utilisation. Les pièces sont ensuite transférées et fixées sur le porte-objet du microtome du cryostat à - 20°C.

- Lorsque les échantillons d'organes à étudier sont de taille plus importante, ils sont congelés directement sur le porte-objet du microtome du cryostat qui possède une réfrigération rapide à - 35°C. Une congélation plus lente empêche la fissuration du spécimen mais ce dernier doit être découpé rapidement. Du fait de la complexité des structures de certains organes, en particulier l'hypothalamus, il est parfois préférable de ne pas les sectionner si l'on veut obtenir des repères anatomiques satisfaisants lors de l'observation.

2) Montage de l'émulsion pelliculable (technique au stripping film)

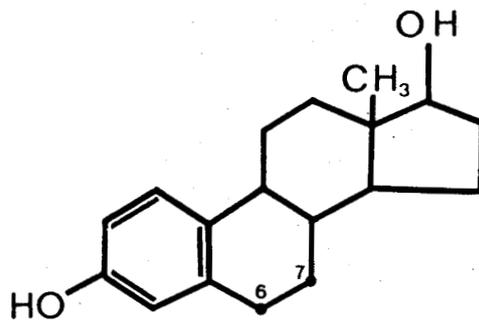
La pose de l'émulsion pelliculable se réalise en chambre noire équipée d'un éclairage inactinique (filtre rouge, Wratten n° 2 Kodak), disposé à 1,25 m du plan de travail. Le film est décollé avec beaucoup de précautions de son support de verre, afin d'éviter les chocs mécaniques et la production de décharges électrostatiques qui entraîneraient la formation d'artéfacts. La chambre noire doit être à une température ambiante située entre 16°C et 20°C et à un taux d'humidité relative de 60 à 80 %.

Des lames porte-objet parfaitement propres sont préalablement gélatinées dans une solution à 0,5 % et séchées à l'étuve. Elles sont ensuite recouvertes d'une émulsion pelliculable

F I G U R E 3

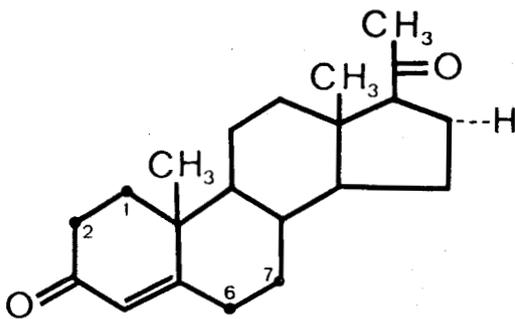
Formules structurales des stéroïdes utilisés dans ce travail.
Les chiffres indiquent les positions de marquage au tritium.

ŒSTROGENE



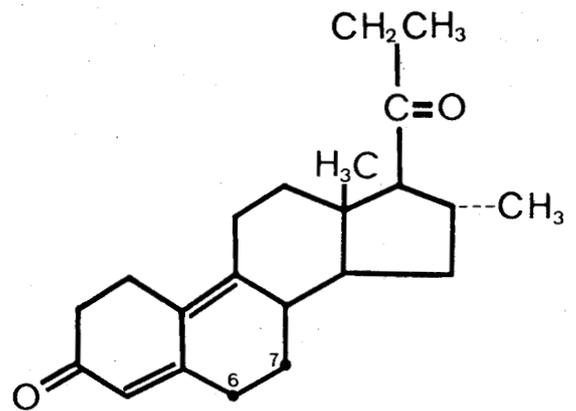
Œstradiol ³H-6,7

PROGESTAGENES



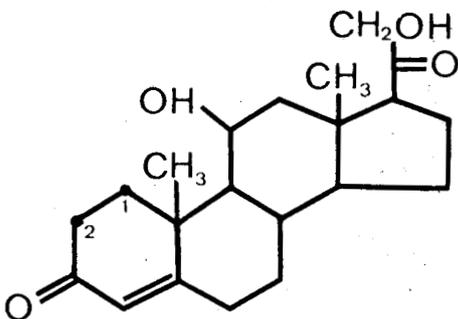
Progestérone ³H-1,2
et

Progestérone ³H-1,2,6,7

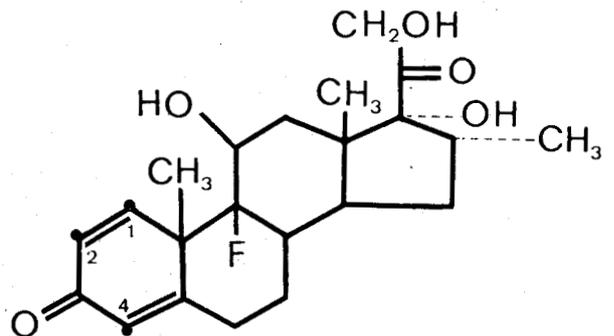


Promegestone (R 5020) ³H-6,7

GLUCOCORTICOÏDES



Corticostérone ³H-1,2



Dexaméthasone ³H-1,2,4

Kodak AR 10. Ce film d'émulsion nucléaire est monté sur les lames selon la méthode générale de flottaison sur l'eau (PELC, 1947) avec cependant une particularité dans le cas de notre technique adaptée à la détection des substances diffusibles. Cette modalité est la suivante : l'émulsion pelliculable mise au contact de l'eau distillée pendant environ deux minutes est recueillie de façon à ce que son support de gélatine soit appliqué contre la lame, l'émulsion nucléaire se trouvant vers l'extérieur. Les lames ainsi émulsionnées sont mises à sécher à l'abri de la lumière, en présence d'un dessiccateur (anhydride phosphorique) sous les conditions de température et d'humidité définies précédemment, pendant au moins 24 heures. Elles sont ensuite stockées au réfrigérateur à 4°C dans des boîtes à rainures, noires, étanches (CLAYS-ADAMS) en présence d'un dessiccateur (P_2O_5).

3) Préparation des radioautographies

Des coupes de tissu congelé de 6 à 10 μ d'épaisseur, frontales et sagittales dans le cas du cerveau, sont effectuées au cryostat. Ce dernier est placé en chambre noire et est équipé à l'extérieur d'une source lumineuse inactinique (lampe rouge : 15 watts). Le cryostat que nous utilisons est un W.K.F. 1150 (W.K.F. Brandau, Allemagne) possédant des ouvertures latérales et une vitre stratifiée antérieure avec dispositif de dégivrage. La température intérieure du cryostat est maintenue entre - 18° et - 22°C. Les coupes sont recueillies à l'aide d'un fin pinceau et sont déposées sur l'émulsion nucléaire recouvrant les lames précédemment traitées et refroidies à 0°C. En général, la différence de température permet une bonne adhérence de la coupe au film AR 10. Si un léger réchauffement est nécessaire pour assurer un meilleur contact entre la coupe et l'émulsion nucléaire, il peut s'effectuer par une rapide pression du doigt sous la lame à l'endroit où la coupe a été déposée.

4) Exposition

Pour éviter une totale décongélation des coupes, l'exposition des radioautographies se fait au congélateur à - 18°C dans des boîtes noires. Afin de maintenir l'atmosphère sèche au cours de l'exposition, un sachet contenant de l'anhydride phosphorique est placé dans la boîte avant d'en assurer l'étanchéité avec un ruban adhésif. La durée d'exposition est assez longue (de plusieurs semaines à quelques mois). Elle est contrôlée en développant des lames tests à différents intervalles de temps. L'agent dessiccateur est renouvelé environ tous les mois.

5) Développement et coloration

Avant le développement, les lames sont ramenées quelques heures à la température ambiante pour permettre aux coupes de mieux adhérer à l'émulsion. Une fixation histologique des coupes est faite avant la révélation pendant 5 minutes, en chambre noire, soit à l'alcool méthylique, soit à l'alcool à 95° acétifié à 5 %. Réhydratées pendant 5 minutes dans de l'eau distillée, les radioautographies sont ensuite développées dans du D 19 b (Kodak) pendant 4 minutes à 20°C. Puis elles sont lavées 30 secondes à l'eau distillée et fixées au thiosulfate de sodium à 30 % pendant 6 minutes. Après un rinçage de 5 minutes à l'eau distillée, les coupes doivent être immédiatement et rapidement colorées.

La coloration au vert de méthyle-pyronine dans une solution tamponnée (acétate de Na, acide acétique) à pH 4,2 pendant 20 minutes est utilisée. Les coupes sont ensuite déshydratées suivant la technique histologique classique. Le dos de la lame peut alors être facilement débarrassé, à l'aide d'un scalpel, de l'excès d'émulsion pelliculable. Les radioautographies sont montées sous lamelle après un passage final des coupes, dans un mélange constitué à parties égales de toluène et de milieu de montage (Eukitt).

Les observations et photographies sont faites au microscope photonique Zeiss (photomicroscope II).

6) Précautions à prendre et contrôles à effectuer

Ce procédé radioautographique peut être non seulement employé pour la détection des stéroïdes mais également pour des drogues ou autres substances diffusibles liées de façon non covalente. Cependant, certaines limitations de la technique ainsi que les artéfacts susceptibles de se produire doivent être considérés en fonction du type de produit utilisé.

Lors de la mise au point de la méthode, il est bon de vérifier celle-ci à partir d'une substance diffusible dont on connaît au préalable la localisation sur des sites définis ou dans des compartiments cellulaires donnés.

Le maintien des tissus à basse température et en atmosphère sèche sont les points essentiels pour préserver les molécules de leur site d'origine. Si les sections sont soumises à des taux d'humidité élevés, non seulement la diffusion du traceur, mais aussi l'autolyse des constituants tissulaires peuvent se produire.

Le tissu n'étant pas dénaturé par les fixateurs, beaucoup d'enzymes sont encore actives. L'application de sections congelées, non fixées, sur le film peut entraîner une interaction chimique entre l'émulsion et les tissus. Cette interaction est une réaction de chémographie positive. Bien que de courte durée, elle donne lieu à la formation d'images latentes. Inversement, des disparitions d'images latentes peuvent se produire. Ces réactions de chémographie négative apparaissent soit par suite d'une interaction entre l'émulsion et les tissus, soit après une exposition prolongée des radioautographies en atmosphère humide. Ces deux sortes d'artéfacts peuvent être identifiées par examen de lames contrôles.

- Pour détecter des artéfacts de chémographie positive, des coupes provenant de spécimens identiques à ceux des lames expérimentales, soumises au même traitement mais non radioactives, sont déposées sur l'émulsion nucléaire.

- Pour les artéfacts résultant d'une réaction de chémographie négative, des coupes radioactives sont appliquées sur des lames émulsionnées à la lumière blanche.

ROGERS et JOHN (1969) ont considéré toute une série de facteurs qui, à chaque étape de la technique, peuvent provoquer des artéfacts. Ils ont également procédé à des estimations quantitatives sur la perte d'images latentes. Nous ne détaillerons pas, dans ce travail, les résultats obtenus par ces auteurs. Néanmoins, nous en avons tenu compte, lors de la mise au point de la technique dans notre laboratoire, afin de minimiser l'interaction chimique entre spécimen et émulsion et de travailler dans les meilleures conditions expérimentales.

III - LIMITES DE LA TECHNIQUE DANS LA DETECTION DES RECEPTEURS DES STEROIDES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE

La technique radioautographique permet la détection des cellules cibles des stéroïdes. Aussi, dans l'exposé de nos résultats, nous employerons beaucoup plus fréquemment les expressions "organes ou cellules cibles" que le mot "récepteurs" qui en terme biochimique est défini au niveau moléculaire.

Au cours de nos expériences, le traceur est injecté par voie sous-cutanée aux animaux chez qui, la source d'hormone endogène est le plus souvent éliminée. Si l'hormone injectée est l'oestra-

diol ou un progestagène, l'animal sera ovariectomisé ; si le traceur est un glucocorticoïde, il sera surrénalectomisé.

La présence des récepteurs des stéroïdes est caractérisée *in vivo* par la rétention prolongée de l'hormone dans l'organe cible et la pénétration du complexe stéroïde-récepteur à l'intérieur du noyau cellulaire (voir page 13). Cette pénétration est visible par radioautographie puisque le marquage observé est le plus souvent nucléaire, (fig. 4).

D'après les données rapportées précédemment on peut en déduire que, sur les radioautographies, le traceur peut se trouver sous des formes différentes. La radioactivité, visualisée par les grains d'argent, peut correspondre soit :

- à de l'hormone liée spécifiquement aux récepteurs des stéroïdes,
- à de l'hormone libre, non liée, dans le cytoplasme cellulaire,
- à de l'hormone liée non spécifiquement aux membranes ou à des organelles cellulaires.

IV - COMMENT DISTINGUER LA LIAISON SPECIFIQUE DE L'HORMONE AUX RECEPTEURS

Pour pouvoir distinguer la liaison hormonale de type spécifique et conclure à la présence de récepteurs dans les cellules marquées, il est important d'examiner la spécificité de la liaison selon les quatre critères définis au cours d'études biochimiques. Ceux-ci sont la double spécificité hormonale et tissulaire, l'affinité élevée et la faible capacité. Pour cela, des expériences "contrôles" doivent être effectuées en parallèle avec les expériences de mise en évidence des récepteurs.

1) La spécificité tissulaire

On ne peut pas s'attendre à trouver de liaison spécifique dans les organes qui ne sont pas classés comme "organes

F I G U R E 4

Cellules marquées au niveau nucléaire de l'aire préoptique
après injection d'oestradiol ³H (G. X 3600).





cibles". Pour s'assurer de la spécificité tissulaire, il faudra examiner à la fois un organe cible et un organe non cible chez un animal ayant reçu le stéroïde radioactif. Ceci n'empêche pas que les organes non cibles puissent manifester quelque réponse aux hormones. Cette action pourrait ne pas être mise en évidence par la technique radioautographique, peut être parce que la concentration des protéines de liaison est trop faible pour être détectée ou peut être parce que le mécanisme d'action diffère de celui qui est en jeu au niveau des organes cibles.

2) La spécificité hormonale

Pour vérifier la spécificité de l'interaction d'un stéroïde donné avec son récepteur, on réalise des expériences dans lesquelles le traceur est injecté simultanément avec un excès d'un autre stéroïde non radioactif n'ayant aucune affinité pour le récepteur du traceur. Si le stéroïde non radioactif n'entre pas en compétition avec l'hormone donnée, il ne doit pas modifier sa liaison avec ses sites récepteurs. Dans ces conditions, la radioactivité ne sera pas déplacée et les images de marquage seront les mêmes que celles obtenues avec le traceur seul.

3) L'affinité élevée

Cette caractéristique ne peut pas être vérifiée avec la technique radioautographique. Pour rester intact, le complexe stéroïde-protéine nécessite que l'on travaille à basse température.

4) La capacité limitée

La liaison est saturable : sa capacité est limitée au nombre de sites libres du récepteur. Dans cette perspective, on effectue des expériences dans lesquelles le traceur est injecté simul-

tanément avec un excès de la même hormone non radioactive. Dans ce cas, les sites de liaison qui sont, en nombre limité, "saturables", seront occupés en grande partie par l'hormone non radioactive tandis que le traceur lié aux sites non spécifiques ne sera pas "déplacé". En effet, ces sites non spécifiques (n'ayant qu'une activité relativement faible pour les différents stéroïdes qu'ils peuvent lier) ont souvent une capacité très grande qui ne permet pas la saturation. En comparant les images obtenues en présence et en absence d'un excès d'hormone froide, on pourra distinguer :

- la radioactivité déplacée par l'hormone non radioactive qui correspond à la fixation hormonale spécifique, et
- la radioactivité non déplaçable qui appartient au stéroïde fixé non spécifiquement et au stéroïde libre.

DISCUSSION et CONCLUSION

La technique que nous utilisons exclut les principales sources d'artéfacts de diffusion, puisqu'aucun solvant n'est utilisé. De plus, une bonne préservation morphologique des structures est respectée dans les sections de tissus non inclus mais préparées et maintenues à basse température et sous certaines conditions d'humidité. La translocation et l'extraction de substances diffusibles sont évitées par montage direct des sections congelées sur l'émulsion photographique sèche. Cependant, la validité de la détection radioautographique impose qu'un certain nombre de conditions soient remplies.

Cette technique radioautographique, décrite pour la microscopie photonique, permet de déceler la présence de récepteurs des stéroïdes hormonaux dans des cellules en respectant l'organisation tissulaire des organes cibles. Cela est un avantage sur la plupart des techniques biochimiques qui ne tiennent pas compte de la complexité structurale des organes et des cellules. L'organe cible renferme une population cellulaire hétérogène aussi bien sur le plan anatomique (origine et morphologie) que sur le plan physiologique. Par exemple, l'utérus et le cerveau, qui sont parmi les organes étudiés dans ce travail, exercent des fonctions différentes et sont constitués d'une variété de types cellulaires. L'utérus est composé de cellules épithéliales, conjonctives, musculaires tandis que le cerveau contient des cellules nerveuses, gliales, épendymaires. La radioautographie peut révéler dans ces tissus l'existence de récepteurs au niveau d'un type cellulaire ou dans des cellules individuelles. En maintenant en place les structures biologiques, elle apporte des informations sur la localisation anatomique des cellules cibles au sein de l'organe considéré. L'intérêt de cette méthode radioautographique est également de pouvoir visualiser les récepteurs chez l'animal après l'injection de l'hormone marquée. Dans ces conditions, les résultats sont plus en rapport avec

la réalité physiologique. Les méthodes biochimiques permettent, lorsque des tissus sont soumis à l'homogénéisation, d'isoler des fractions cellulaires à partir desquelles on peut obtenir des constituants plus ou moins purifiés. Dans l'étude méthodologique de la liaison des stéroïdes à des protéines réceptrices, l'hormone marquée est ajoutée à des fractions cellulaires, homogénats ou incubée avec l'organe cible ou un morceau d'organe cible. Les résultats obtenus dans ces conditions expérimentales ne peuvent pas toujours s'appliquer directement à ce qui se passe *in vivo*.

La radioautographie, par contre, ne met pas en évidence la nature du produit détecté et il ne faut pas oublier que le traceur peut être métabolisé. D'où l'intérêt, lorsque ceci est possible, d'associer les techniques biochimiques et la technique radioautographique.

DEUXIEME PARTIE

FIXATION DE L'OESTRADIOL ³H AU NIVEAU DU
SYSTEME NERVEUX CENTRAL ET DE L'HYPOPHYSE
CHEZ DIFFERENTS MAMMIFERES

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES ET OBJECTIFS

Les données bibliographiques se rapportant aux interactions entre les hormones gonadiques et gonadotropes qui gouvernent la rythmicité ovarienne chez les mammifères ont été abondantes ces dernières années. De ces données, se dégage le rôle joué par l'oestradiol au niveau du système nerveux central et de l'hypophyse en tant que modulateur spécifique et important de la sécrétion gonadotrope.

I - ROLE DE L'OESTRADIOL DANS LE CONTROLE NEUROENDOCRINE DE LA FONCTION GONADOTROPE

1) Chez la rate

Du fait de son cycle oestral court (4 à 5 jours), la rate est l'animal de choix pour l'étude des mécanismes de régulation de la sécrétion gonadotrope. Au cours du cycle, cette sécrétion se traduit, dans le sérum, par un taux relativement bas mais constant de LH (sécrétion tonique) interrompu l'après-midi du prooestrus par une décharge cyclique de LH qui provoque l'ovulation (GAY et Coll., 1970). Cette libération préovulatoire est réglée par un signal nerveux qui déclenche une augmentation de LH-RH dans la circulation porte hypophysaire (SARKAR et Coll., 1976). Chez la rate, l'oestradiol est considéré comme le régulateur ovarien principal du contrôle de la sécrétion à la fois tonique et cyclique de LH.

L'ovariectomie provoque une rapide élévation plasmatique de LH et également de FSH, qui est inhibée par l'administration chronique de fortes doses d'oestradiol (LEGAN et Coll., 1973 ; RAMIREZ et McCANN , 1963). Cette hormone entraîne une diminution du taux plas-

matique de LH lors d'une augmentation de ce dernier en réponse au LH-RH (FERLAND et Coll., 1976). De ce fait, les oestrogènes exercent un effet inhibiteur sur la sécrétion de la neurohormone au niveau hypothalamique.

Si les oestrogènes semblent principalement avoir une influence inhibitrice, il est évident qu'ils peuvent également avoir des effets stimulants sur la sécrétion de LH et de FSH au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cela est prouvé par :

- l'induction d'une cession de LH dans les heures qui suivent l'injection de benzoate d'oestradiol à des rates ovariectomisées (BALDWIN et Coll., 1974),
- le déclenchement d'une décharge préovulatoire de LH et l'avancement de l'ovulation lors de l'injection d'oestrogènes à des stades précoces du cycle oestral (EVERETT, 1948),
- l'abolition de la sécrétion préovulatoire de LH en prooestrus après administration d'un sérum anti-oestrogénique (JEWELWICZ et Coll., 1974).

Les expériences effectuées *in vitro* et *in vivo* mènent aux conclusions suivantes : au niveau hypothalamique, l'effet des oestrogènes sur la sécrétion de LH-RH peut être stimulant ou inhibiteur en fonction de la dose et du moment de l'administration du stéroïde tandis que, au niveau hypophysaire, leur effet est stimulant à la fois sur la production de LH et de FSH.

De nombreux chercheurs ont essayé de déterminer les sites anatomiques de la rétroaction positive de l'oestradiol à l'aide :

- de lésions hypothalamiques (CLEMENS et Coll., 1976 ; GRAY et Coll., 1978),
- d'implantations locales d'oestrogènes (DÖCKE et DÖRNER, 1965 ; PALKA et Coll., 1966 ; SMITH et DAVIDSON, 1974 ; TERASAWA et KAWAKAMI, 1974 ; KALRA et McCANN, 1975 ; GOODMAN, 1978),
- ou d'anti-oestrogènes dans l'hypothalamus ou l'hypophyse (BRAINBRIDGE et LABHSETVAR, 1971 ; BILLIARD et McDONALD, 1973).

Les résultats de ces expériences sont contradictoires et l'interprétation en est rendue difficile par le fait que les stéroïdes, implantés dans des régions hypothalamiques proches de la zone de contact neurovasculaire de l'éminence médiane, peuvent atteindre la préhypophyse par la circulation porte (BOGDANOVE, 1963 ; PALKA et Coll., 1966).

Certains auteurs concluent à une rétroaction positive de l'oestradiol au niveau de l'hypothalamus médio-basal (PALKA et Coll., 1966 ; BILLARD et McDONALD, 1973) ; d'autres, à un effet au niveau hypophysaire (DÖCKE et DÖRNER, 1965 ; SMITH et DAVIDSON, 1974 ; TERASAWA et KAWAKAMI, 1974). Plus récemment, GOODMAN (1978), GRAY et Coll., (1978), prouvent que l'aire préoptique est le siège du "feedback" positif des oestrogènes.

2) Chez le singe rhésus femelle

Ces dernières années, le rôle des stéroïdes ovariens dans le rétrocontrôle de la sécrétion gonadotrope chez le singe rhésus, a attiré l'attention de plusieurs auteurs (KNOBIL, 1974 ; KNOBIL et Coll., 1972). Durant le cycle menstruel (de 28 à 36 jours) du singe rhésus, les taux de gonadotropines circulantes (LH et FSH) peuvent être considérés comme étant le résultat d'une sécrétion tonique interrompue, une fois tous les 28 jours en moyenne, par une décharge cyclique de ces hormones. Cette dernière est suivie 36 heures plus tard par l'ovulation (MONROE et Coll., 1970 ; WEICK et Coll., 1973). Ces modes de sécrétion ressemblent étroitement à ceux mis en évidence chez la femme (ROSS et Coll., 1970). Ils sont contrôlés apparemment par des rétroactions négative et positive de l'oestradiol impliquant deux composants principaux : l'ovaire et le système médio-basal hypothalamo-hypophysaire.

L'ovariectomie conduit à une augmentation du niveau plasmatique des gonadotropines (ATKINSON et Coll., 1970). Cette élévation se traduit par des décharges pulsatiles (fréquence d'une par

heure approximativement) de LH et de FSH (DIERSCHKE et Coll., 1970 ; KREY et Coll., 1975). Chez des singes ovariectomisés, KARSCH et Coll. (1973c) procèdent à des implantations sous-cutanées d'oestradiol, à une dose permettant d'obtenir des concentrations en oestrogènes circulants identiques à celles observées en phase folliculaire précoce du cycle menstruel. Dans ces conditions, les taux moyens de gonadotropines caractéristiques de cette phase du cycle sont rétablis. Ces observations permettent à KARSCH et Coll. (1973c) de conclure que l'oestradiol est le principal composant ovarien de la rétroaction négative qui gouverne la sécrétion gonadotrope tonique.

La libération gonadotrope périodique est la conséquence d'une rétroaction positive de ce même stéroïde quand sa concentration dans le sérum dépasse un seuil bien défini et reste élevée pendant 36 heures. Les taux d'hormones gonadotropes existants durant le cycle menstruel peuvent être rétablis expérimentalement chez des singes ovariectomisés, déjà soumis à des concentrations constantes d'oestradiol par implantation de capsules d'oestrogènes. Il suffit pour cela de provoquer, par une injection d'oestradiol, une augmentation de cette hormone dans le sérum. Les taux de LH et de FSH au cours du cycle menstruel sont contrôlés par la sécrétion ovarienne cyclique d'oestrogène et l'ovaire peut être considéré comme "l'horloge biologique" dans le déclenchement de l'ovulation chez le singe rhésus (KARSCH et Coll., 1973 a).

Les mécanismes de "feedback" de l'oestradiol sur la sécrétion gonadotrope peuvent intervenir soit :

- au niveau de l'hypothalamus médio-basal en contrôlant la décharge de LH-RH,
- au niveau de l'adénohypophyse en modulant la réponse des cellules gonadotropes à la stimulation hypophysiotrope,
- au niveau des deux régions à la fois (KNOBIL et PLANT, 1978).

FERIN et Coll. (1974) observent que la libération pulsatile de LH chez les singes ovariectomisés est inhibée par la microinjection d'oestradiol

dans différentes régions de l'hypothalamus. Cependant, ces mêmes auteurs (CARMEL et Coll., 1976) reportent plus tard que de simples injections intraveineuses d'oestradiol n'altèrent par les niveaux immunoréactifs de LH-RH dans le sang porte hypophysaire. NEILL et Coll., (1977) suggèrent que l'action de "feedback" positif de l'oestradiol comme son effet inhibiteur sont exercés principalement au niveau cérébral.

II - DIFFERENCES FONDAMENTALES DANS LES MECANISMES QUI CONTROLENT LE MODE DE DECHARGE DE LA SECRETION DE LH CHEZ CES ESPECES

Le contrôle de la sécrétion de LH apparaît similaire chez le rat et le singe en ce sens qu'une élévation préalable d'oestradiol circulant constitue le déclencheur ovarien requis pour sa libération cyclique préovulatoire. Cependant, des différences frappantes surgissent entre les mécanismes neuroendocrines qui gouvernent le cycle ovarien des rongeurs et ceux qui régissent le cycle menstruel des primates supérieurs.

- Premièrement, chez ces animaux ovariectomisés soumis à des taux constants d'oestradiol circulant, la décharge de LH en réponse à une seule injection de benzoate d'oestradiol se manifesterait différemment. Chez le rat, la cession de LH se produira de façon répétitive (une par heure) ; chez le singe au contraire, elle sera unique telle une réponse à un stimulus (CALIGARIS et Coll., 1971a; NEILL, 1972 ; KNOBIL, 1974 ; LEGAN et Coll., 1975 ; LEGAN et KARSCH, 1975).
- Deuxièmement, chez le rat le mécanisme est couplé à un rythme nyctéméral (lumière-obscurité). Celui-ci est susceptible d'être bloqué par une anesthésie au pentobarbital, phénomène jamais observé chez le singe (EVERETT et SAWYER, 1950 ; SCHWARTZ, 1969 ; DAANE et PARLOW, 1971 ; KARSCH et Coll., 1973b; WEICK et Coll., 1973 ; KNOBIL, 1974 ; LEGAN et KARSCH, 1975).

- Troisièmement, la rétroaction positive de l'oestradiol, qui induit la libération de LH, requiert chez les rongeurs des connexions afférentes intactes à l'hypothalamus médio-basal. Cela suggère que d'autres régions du cerveau doivent jouer un rôle indispensable dans le contrôle de cette sécrétion (HALASZ et GORSKI, 1967 ; KOVES et HALASZ, 1970 ; BLAKE et Coll., 1972 ; NEILL, 1972). Chez le singe rhésus, le mécanisme neuroendocrine provoquant la cession de LH apparaît être situé à l'intérieur de l'hypothalamus médio-basal et de l'hypophyse (KREY et Coll., 1975 ; HESS et Coll., 1977 ; FERIN et Coll., 1977, 1979).

Ces données résument les actions de "feedback" de l'oestradiol chez deux mammifères représentatifs : le rat et le singe. Elles permettent de dégager les objectifs de nos recherches exposées dans cette deuxième partie et d'aborder certains points dans la discussion de nos propres résultats, obtenus chez d'autres espèces. Les conclusions des travaux cités serviront, en partie, de référence lorsque nous envisagerons le rôle éventuel des régions fixant l'oestradiol ^3H dans le contrôle de la sécrétion gonadotrope.

III - OBJECTIFS

Bien que certains effets des oestrogènes sur la décharge des gonadotropines fussent connus au moment où nous commençons nos recherches, leurs sites d'action demeuraient très controversés. Notre premier objectif a été de rechercher par radioautographie les sites de fixation de l'oestradiol ^3H aux niveaux cérébral et hypophysaire chez la souris ovariectomisée (WAREMBOURG, 1970a et b, 1971, 1977a). Puis, il nous a semblé intéressant d'effectuer cette même recherche chez le cobaye (WAREMBOURG, 1977 b) afin de voir si à l'intérieur de l'ordre des rongeurs pouvaient apparaître des différences interspécifiques dans la distribution des cellules oestrogéno-sensibles. Nos résultats peuvent également être confrontés à ceux obtenus chez le

rat pendant la même période par d'autres auteurs (STUMPF, 1968 ; PFAFF et KEINER, 1973).

L'examen de la bibliographie montre que les mécanismes neuroendocrines intéressant l'axe gonadotrope diffèrent sur certains points entre le rat et le singe (paragraphe précédent). Cela justifie l'étude radioautographique que nous avons menée ensuite chez le singe écureuil (WAREMBOURG, 1977c). Notre objectif était de déceler entre rongeurs et primates d'éventuelles différences topographiques dans la distribution des cellules fixant l'oestradiol ³H.

R E S U L T A T S

I - FIXATION DE L'OESTRADIOL ³H CHEZ LA SOURIS FEMELLE

L'expérimentation porte sur quinze souris albinos femelles matures ovariectomisées 2 à 3 semaines avant l'injection du traceur. L'ovariectomie a pour but d'éliminer la source de l'hormone endogène et d'éviter ainsi une saturation des récepteurs avec l'hormone exogène. Les animaux reçoivent une injection de 70 µCi de 17 β-oestradiol ³H-6,7 (activité spécifique: 40 Ci/m Mole). Ils sont ensuite sacrifiés par décapitation 1 h 30 ou 2 h après l'injection. La technique radioautographique (exposée dans la première partie) est appliquée sur les cerveaux rapidement prélevés et congelés. La durée d'exposition des radioautographies est de 2 à 3 mois.

Les comptages de grains reportés dans cette étude, ont été effectués, exceptionnellement, avec le Micro-Vidéomat 2 (Zeiss) lors d'une démonstration de l'appareil. Les schémas et l'identification des structures sont faites d'après l'atlas du cerveau du rat de KÖNIG et KLIPPEL (1963).

Après injection d'oestradiol ³H, la réaction radioautographique prédomine sur la zone nucléaire de certains neurones du système nerveux central (fig. 4) ou de certaines cellules préhypophysaires. Ces neurones sont localisés dans quelques aires extra-hypothalamiques et dans des noyaux anatomiquement bien individualisés de l'hypothalamus ; ils sont soit regroupés en certaines régions, soit dispersés dans l'ensemble du noyau. Le pourcentage de cellules marquées diffère donc selon les régions et le marquage est plus ou moins intense (tableau I). Au cours de cette thèse, nous rapportons quelques comptages de grains d'argent mais, le plus souvent, nous caractérisons l'intensité du marquage sur les cellules par les termes : "faiblement,

moyennement, fortement marquées". Cela, étant une appréciation du résultat d'observations microscopiques ou de microphotographies, ne peut fournir qu'une simple estimation.

Les cellules gliales ne présentent aucun marquage spécifique. Quelques grains d'argent peuvent être exceptionnellement observés sur quelques cellules épendymaires du 3ème ventricule.

Nos observations ont porté sur les régions s'étendant du septum antérieur au corps mamillaire. Elles peuvent se résumer comme suit (fig. 5) :

1) Système nerveux central

a) Téleencéphale

Dans les régions les plus antérieures examinées, quelques petites cellules faiblement marquées, sont dispersées parmi les îlots de Calleja et les noyaux (n.) du tractus diagonal de Broca tandis que le n. *accumbens* n'est pas marqué.

Au niveau de la formation hippocampique, des cellules isolées, faiblement marquées, sont disséminées dans l'hippocampe ventral au niveau de la couche de cellules pyramidales, dans le *subiculum* et dans le *gyrus dentatus*.

Dans l'amygdale (fig. 5 c), le n. médian est la région la plus fortement marquée (tableau I) suivie par la partie ventro-latérale du n. cortical et du n. basal. Quelques neurones, moyennement marqués, sont éparpillés dans le n. latéral et le n. central. L'aire amygdalienne antérieure et les petites cellules de la masse intercalaire ne retiennent pas le traceur.

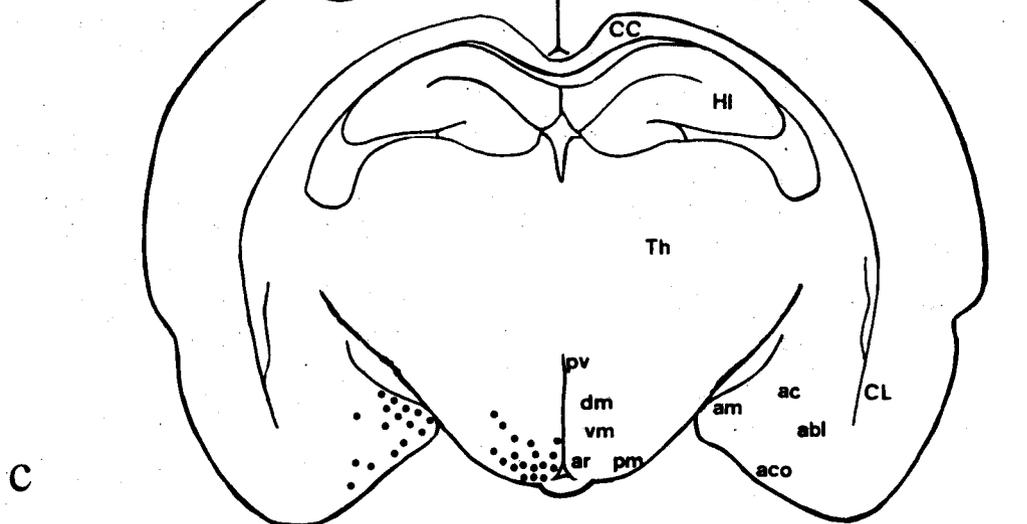
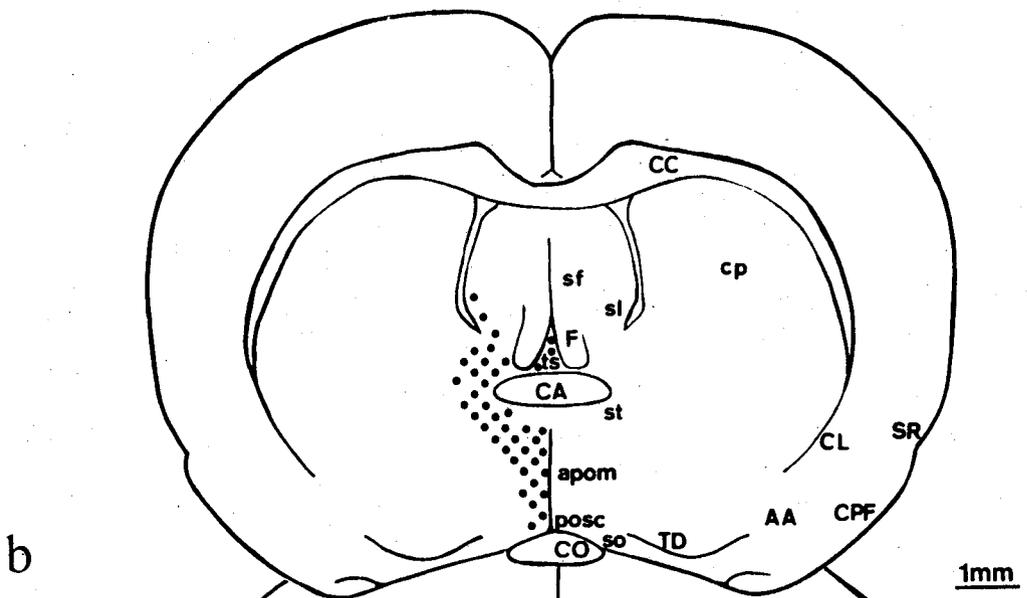
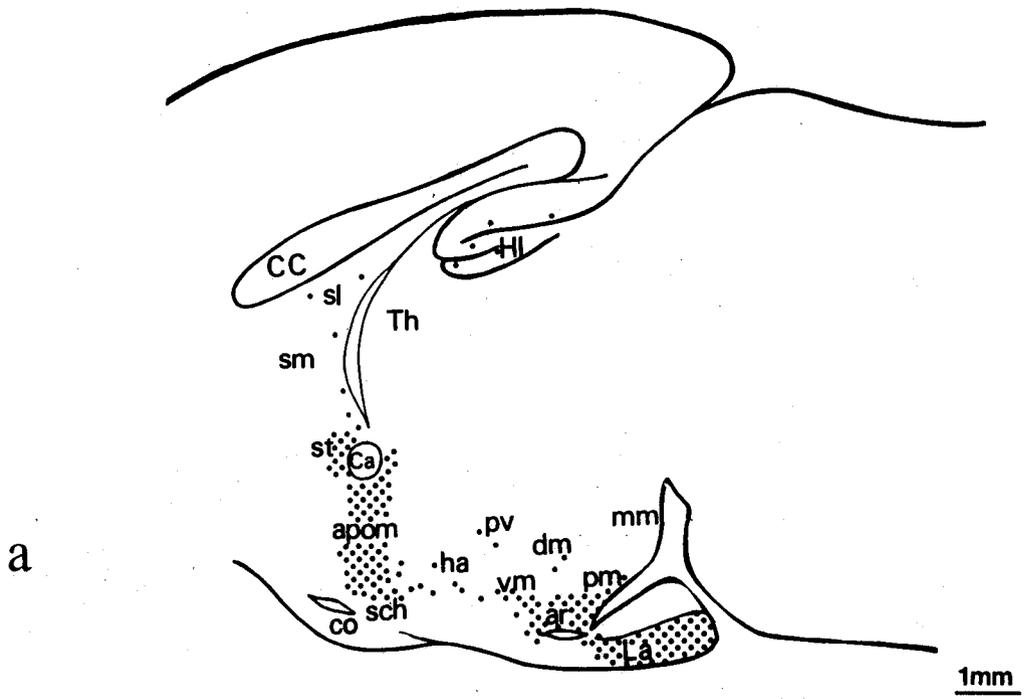
Des cellules faiblement marquées, peuvent exceptionnellement apparaître dans le cortex piriforme à proximité de la scissure

F I G U R E 5

Localisation des cellules marquées (représentées par des points noirs) dans le cerveau et l'hypophyse chez la souris après injection d'oestradiol ³H.

a : coupe sagittale
b et c : coupes frontales.

AA : aire amygdalienne antérieure - abl : n. amygdalien basal, *pars* latérale - ac : n. amygdalien central - aco : n. amygdalien cortical - am : n. amygdalien médian - apom : aire préoptique médiane - ar : n. arqué - CA ou Ca : commissure antérieure - CC : corps calleux - CL : *claustrum* - CO : chiasma optique - CPF : cortex piriforme - Cp : région n. caudé et *putamen* - dm : n. dorso-médian - F : fornix - ha : aire hypothalamique antérieure - HI : hippocampe - La : lobe antérieur de l'hypophyse - mm : n. mamillaire - pm : n. prémamillaire - posc : n. préoptique *pars* suprachiasmatic - pv : n. paraventriculaire - sch : n. suprachiasmatic - sf : n. septal de la fimbria - sl : n. septal latéral - sm : n. septal médian - so : n. supraoptique - SR : scissure rhinale - st : n. interstitiel de la strie terminale - TD : tractus diagonal - Th : thalamus - ts : n. septal triangulaire - vm : n. ventromédian



BUS LILLE

rhinale. Le n. caudé et le *putamen* sont dépourvus de cellules marquées.

b) Septum

Dans le septum, un marquage notable est à signaler dans le n. septal triangulaire (fig. 5 b ; tableau I), dans les parties latérale et juxta-ventriculaire du n. septal latéral, épargnant le n. médian et dans l'organe subfornical. Chez la souris, la région contenant la proportion la plus élevée de cellules marquées par la plus grande quantité de grains d'argent au $\mu 2$ est située à la base du septum dans le n. du lit de la strie terminale ou n. interstitiel de la strie terminale (tableau I ; fig. 5 a et b ; fig. 6 a et b). En effet, 90 % environ des cellules de ce noyau incorporent le traceur. Elles sont plus fortement marquées dans la région où elles voisinent avec les cellules du n. préoptique que dans la partie rostrale du noyau.

c) Aire préoptique, hypothalamus antérieur

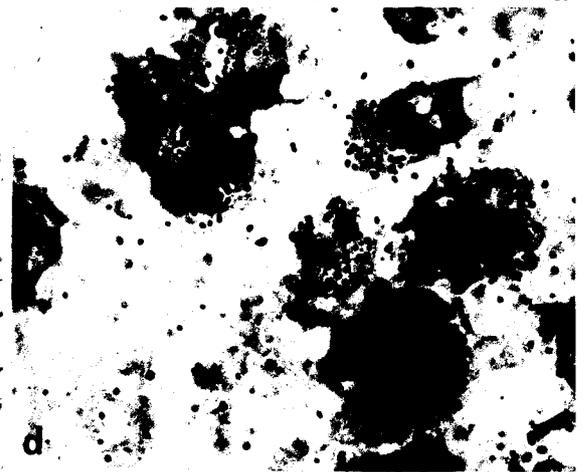
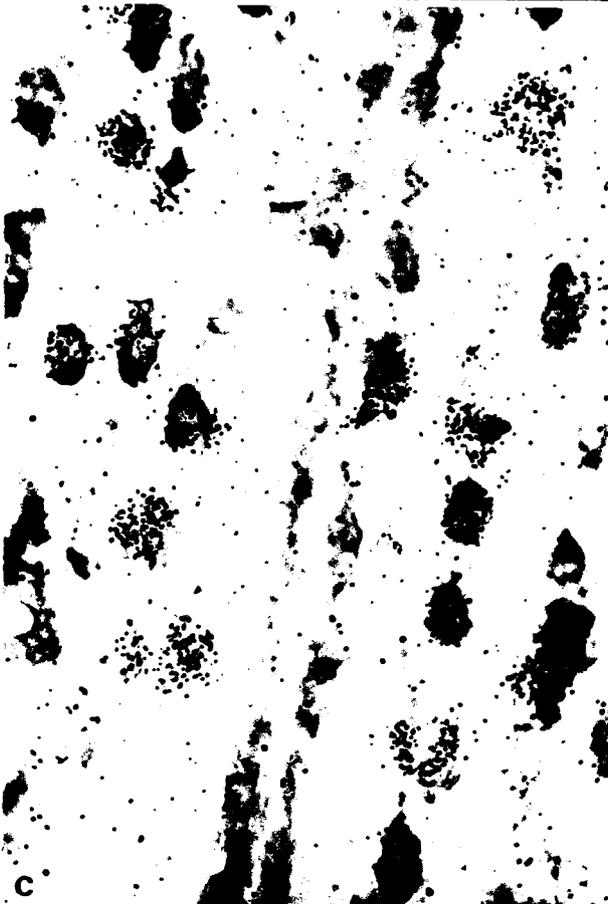
Dans l'aire préoptique de nombreux neurones captent l'hormone marquée (fig. 5 a et b). Antérieurement, des cellules moyennement à fortement marquées, apparaissent dans la région de l'organe vasculaire de la lame terminale (OVL), en avant et autour du récessus optique. Elles jouxtent les cellules fortement marquées de la *pars* suprachiasmatic du n. préoptique. Puis, des cellules fortement marquées envahissent l'intégralité du n. préoptique médian (tableau I ; fig. 6 c) bordant le 3ème ventricule et atteignent la partie latérale du n. préoptique latéral. Sur des coupes frontales, cette zone marquée s'étend de part et d'autre du 3ème ventricule sur une largeur de 0,6 mm dans sa portion dorsale où elle vient se confondre avec le n. de la strie terminale et sur une largeur de 0,3 mm dans sa portion ventrale qui englobe la *pars* suprachiasmatic du n. préoptique. Les noyaux suprachiasmatic et supraoptiques, chez la souris, ne révèlent pas de marquage significatif.

F I G U R E 6

Radioautographies du cerveau de souris après injection
d'oestradiol ³H.

- a : cellules marquées au niveau du n. interstitiel de la strie terminale. Cette photo a été prise avec éclairage en fond noir. Les cellules marquées apparaissent en blanc. (G. X 300).
- b : Cellules marquées du n. interstitiel de la strie terminale (G. X 660).
- c : Cellules marquées de l'aire préoptique médiane, situées de part et d'autre du 3ème ventricule (G. X 850).
- d : Cellules marquées du n. arqué (G. X 1300).
- e : Cellules marquées du n. prémamillaire ventral (G. X 530).





L'aire hypothalamique antérieure et les n. dorso-médians ne concentrent pas la radioactivité. Les n. paraventriculaires ne renferment que de très rares cellules faiblement marquées. Par contre, des neurones moyennement à fortement marqués sont disséminés sur toute l'étendue du n. périventriculaire. Dans l'aire hypothalamique latérale quelques neurones, moyennement marqués, sont dispersés dans la région périfornicale. Aucun marquage spécifique n'est obtenu au niveau des noyaux du thalamus.

d) Hypothalamus medio-basal (fig. 5 a et c)

Des neurones marqués sont observés dans le n. ventromédian, principalement regroupés dans ses régions latéro-ventrale et caudale. Cette population de neurones chevauche les cellules du n. arqué. Dans ce dernier, environ un tiers des cellules sont fortement marquées (tableau I, fig. 6 d) ; elles occupent la totalité de l'aire bordant le recessus infundibulaire. Aucun marquage n'est visible dans l'éminence médiane. Des groupes de neurones moyennement à fortement marqués sont situés dans la région prémamillaire ventrale (tableau I ; fig. 6 e) autour du recessus mamillaire, à la limite entre le n. arqué et la région mamillaire. Cette dernière ne concentre pas l'oestradiol tritié ; il en est de même pour l'aire hypothalamique postérieure.

2) Hypophyse

De très nombreuses cellules du lobe antérieur de l'hypophyse captent l'hormone marquée tandis que les lobes intermédiaire et postérieur ne retiennent pas électivement le traceur. A l'observation ces cellules marquées, au niveau nucléaire, se rencontrent soit isolées, soit en groupes de deux ou trois, réparties sur l'ensemble de la préhypophyse. Elles manifestent un marquage plus ou moins intense. La coloration au vert de méthyle-pyronine ne nous permettant pas d'identifier les types cellulaires, nous ne pouvons pas attribuer cette rétention sélective préférentiellement aux cellules gonadotropes.

Tableau I : Distribution de la radioactivité dans les cellules de quelques noyaux du système nerveux central chez la souris après injection d'oestradiol ^3H .

Régions	Nbre grains/ μ^2
Noyau interstitiel de la strie terminale	2,26 \pm 0,77*
Aire préoptique médiane	2,16 \pm 0,48
Noyau arqué	2,06 \pm 0,49
Noyau prémamillaire ventral	1,84 \pm 1,16
Noyau amygdalien médian	1,45 \pm 0,41
Noyau septal triangulaire	0,99 \pm 0,31

* Chaque valeur est la moyenne des grains d'argent par μ^2 de surface nucléaire (12 cellules de chaque région ont été comptées). Moyenne \pm S.E.M.

II - FIXATION DE L'OESTRADIOL ^3H CHEZ LE COBAYE FEMELLE

L'étude porte sur 5 cobayes (HARTLEY) femelles, matures de 300 à 350 g, ovariectomisés 10 à 27 jours avant l'injection de l'hormone marquée. Les animaux reçoivent une injection de 150 μCi de 17 β - oestradiol ^3H - 6,7 (activité spécifique: 45Ci/m Mole). Ils sont décapités 1 h après l'injection. La durée d'exposition des radioautographies est de 86 à 100 jours.

L'identification des structures est faite d'après l'atlas du cerveau du cobaye de POULAIN (1974).

Tous les animaux expérimentés révèlent une distribution topographique similaire des cellules oestrogéno-sensibles. La réaction radioautographique prédomine sur la zone occupée par le noyau cellulaire des neurones marqués. Ces derniers envahissent des régions cérébrales qui sont, le plus souvent, celles précédemment citées chez la souris. Aussi, il ne nous a pas paru utile de refaire une étude détaillée des différentes régions incorporant électivement l'oestradiol ³H. Nous nous contenterons de les énumérer et d'indiquer les quelques différences constatées dans la localisation anatomique entre les deux espèces. Excepté pour l'hypothalamus médio-basal, la quantité de cellules marquées semble inférieure chez le cobaye à celle rencontrée chez la souris pour l'ensemble des différentes régions examinées.

Nos observations concernent, comme pour la souris, les régions s'étendant, sur des coupes frontales, du septum très antérieur au corps mamillaire.

1) Système nerveux central (fig. 7 a)

a) Téleencéphale

Quelques cellules très faiblement marquées sont disséminées dans les îlots de Calleja et le n. du tractus diagonal de Broca.

Dans l'amygdale (fig. 7 b), c'est au niveau du n. médian que les cellules marquées sont observées en plus grand nombre et avec la charge en radioactivité la plus élevée (fig. 7 c). Elles sont relativement abondantes dans la région du n. central adjacente à la strie terminale. La partie médiane du n. amygdalien basal contient des neurones marqués, principalement localisés dans sa région latérale

FIGURE 7

Fixation de l'oestradiol ³H chez le cobaye.

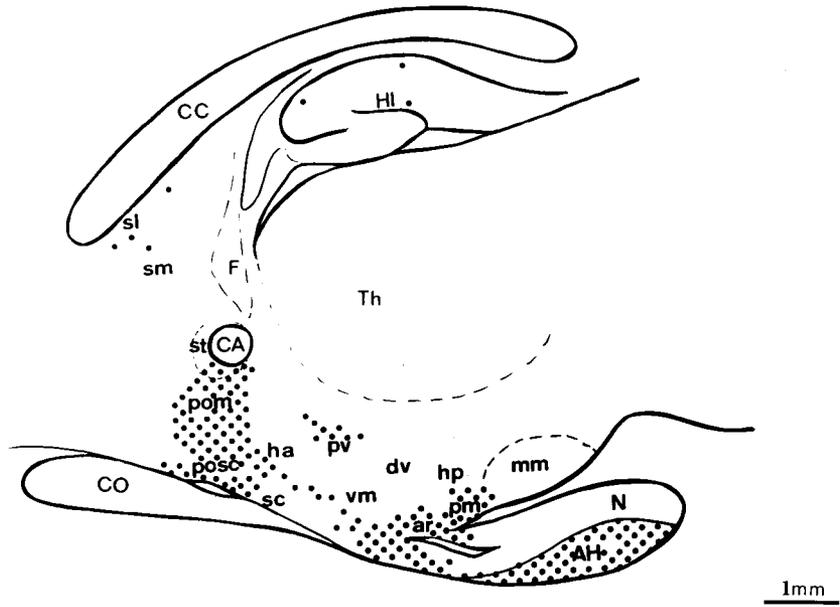
a : Localisation des cellules marquées (représentées par des points noirs) dans le cerveau et l'hypothalamus du cobaye en coupe sagittale.

AH : lobe antérieur de l'hypophyse - ar : n. arqué -
CA : commissure antérieure - CC : corps calleux -
CO : chiasma optique - dv : n. hypothalamique dorsomédian -
F : fornix - ha : n. hypothalamique antérieur - HI : hip-
pampe - hp : n. hypothalamique postérieur - mm : n. mamil-
laire - N : lobe nerveux de l'hypophyse - pm : n. prémamil-
laire - pom : n. préoptique médian - posc : n. préoptique,
pars suprachiasmatique - pv : n. paraventriculaire -
sc : n. suprachiasmatique - sl : n. septal latéral - sm :
n. septal médian - st : n. interstitiel de la strie termi-
nale - Th : thalamus - vm : n. hypothalamique ventromédian.

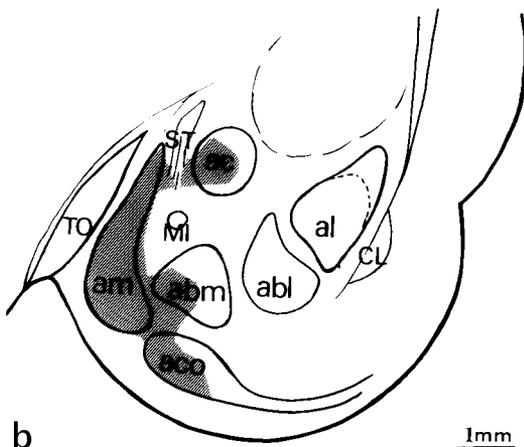
b : Localisation des cellules marquées (représentées par des hachures) dans l'amygdale du cobaye en coupe frontale.

ac : n. amygdalien central - aco : n. amygdalien cortical -
abl : n. amygdalien basal, partie latérale - abm : n. amyg-
dalien basal, partie médiane - am : n. amygdalien médian -
al : n. amygdalien latéral - CL : *claustrum* - MI : *massa*
intercalata - ST : strie terminale - TO : tractus optique.

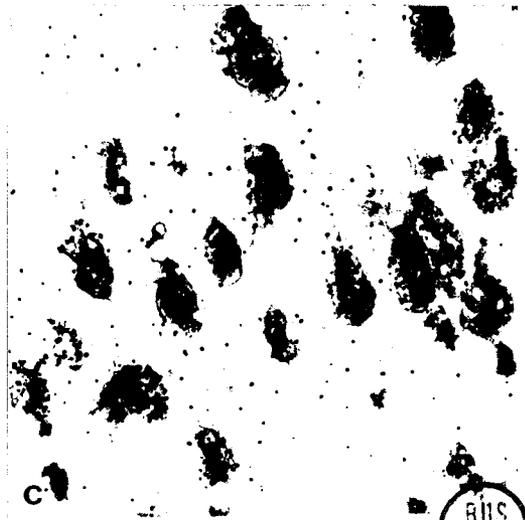
c : Cellules marquées du n. amygdalien médian. (G. X 685).



a



b



c

BUS
LILLE

proche des n. médian et cortical. Ce dernier noyau montre dans sa partie latéro-ventrale des cellules marquées, contiguës à celles du n. médian.

La présence de neurones montrant quelques grains d'argent dans le cortex piriforme, le néocortex et l'hippocampe n'est que très occasionnelle.

b) Septum

Quelques cellules, faiblement marquées, sont dispersées dans le n. septal latéral et le n. septal triangulaire. Le n. interstitiel de la strie terminale est marqué sur toute son étendue (fig. 7 a). Cependant, une hétérogénéité dans la répartition des neurones marqués se remarque, si on compare entre elles les différentes régions de ce noyau. Ils sont moins nombreux dans la zone antérieure et dorsale à la commissure antérieure que dans la portion du noyau, adjacente au foramen intraventriculaire, associée en partie avec la composante précommissurale de la strie terminale. Dans cette dernière région, un grand nombre de cellules caractérisées par une charge importante en radioactivité est constaté.

c) Aire préoptique, hypothalamus antérieur

Autour du récessus optique, des cellules moyennement à fortement marquées, existent dans la *pars* suprachiasmatic du n. préoptique (fig. 7 a et 8 a), dans la région de la crête supraoptique et dans le n. préoptique périventriculaire, bordant le 3ème ventricule.

Les cellules du n. préoptique médian (fig. 7 a) constituent un centre de marquage important, d'où émergent dans plusieurs directions des groupes cellulaires qui vont avoisiner les neurones marqués d'autres noyaux :

F I G U R E 8

Radioautographies du cerveau et de l'hypophyse chez le cobaye après injection d'oestradiol ³H.

a : Cellules marquées de la partie suprachiasmatique du n. préoptique.

CO : chiasma optique - RO : récessus optique.

Cette photo a été prise avec éclairage en fond noir; les cellules apparaissent en blanc. (G. X 200).

b et c : Cellules marquées du n. arqué ;

b (G. X 820) - c (G. X 1640).

Les grains d'argent sont concentrés sur le noyau cellulaire.

d : Cellules marquées du n. prémamillaire ventral.

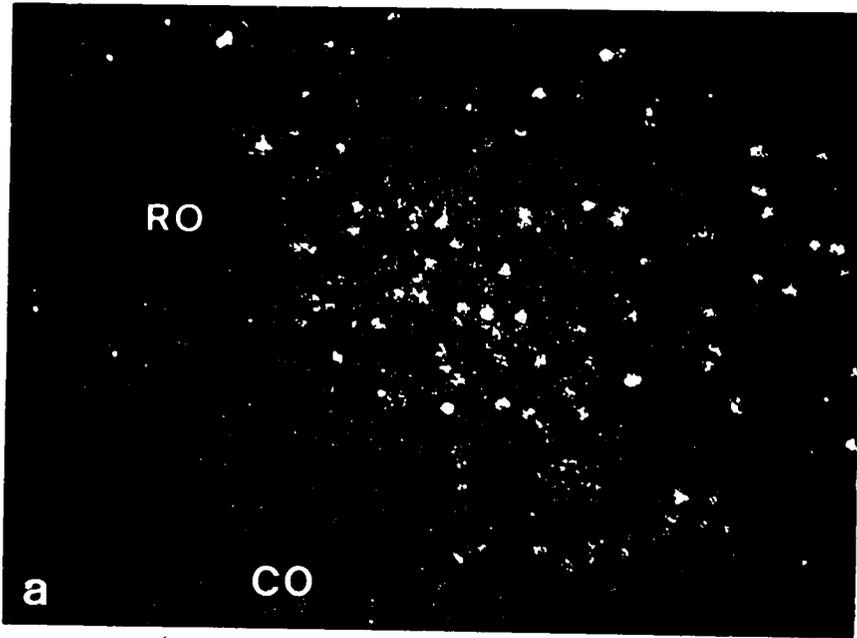
RM : récessus mamillaire.

(G. X 820).

e et f : Cellules marquées de l'adénohypophyse.

e (G. X 1020) - f (G. X 1640).





BUS
LILLE

- au centre, le n. périventriculaire,
- latéralement, le n. préoptique latéral,
- dorsalement, le n. interstitiel de la strie terminale,
- vers l'arrière, l'aire hypothalamique antérieure qui est peu marquée par rapport aux régions précédemment énumérées.

Aucune concentration de radioactivité n'est visible dans les noyaux suprachiasmatiques. Par contre, chez le cobaye, quelques grains d'argent sont observés sur les neurones magnocellulaires du n. supraoptique et parvocellulaires du n. paraventriculaire.

Dans l'hypothalamus latéral, quelques cellules marquées sont découvertes dans la région périfornicale.

d) Hypothalamus médio-basal (fig. 7 a)

La totalité du n. arqué (fig. 8 b et c), du n. prémamillaire ventral (fig. 8 d) et la partie latéro-ventrale du n. ventromédian révèlent des cellules moyennement à fortement marquées. Le corps mamillaire ne retient pas le traceur.

2) Hypophyse

Des cellules marquées sont réparties sur l'ensemble du lobe antérieur de l'hypophyse (fig. 8 e). L'intensité du marquage, au niveau nucléaire, est variable d'une cellule à l'autre (fig. 8 f). Les lobes intermédiaire et postérieur sont dépourvus de cellules fixant le stéroïde.

III - FIXATION DE L'OESTRADIOL ³H CHEZ LE SINGE ECUREUIL FEMELLE

L'expérimentation porte sur 5 singes écureuil (*Saimiri sciureus*) femelles matures de 500 - 550 g. Les animaux sont ovariectomisés 10 à 15 jours avant l'injection du traceur. Ils reçoivent une injection de 650 µCi de 17 β- oestradiol ³H - 6,7 (activité spécifique: 45 ci/m Mole) et sont tués par décapitation une heure après l'injection. La durée d'exposition des radioautographies est de 90 à 130 jours.

L'identification des structures est faite selon l'atlas du cerveau du singe écureuil de EMMERS et AKERT (1963).

Chez le singe, nos observations se sont principalement limitées aux aires septales, préoptiques, hypothalamiques et amygdaliennes. Les cellules gliales et épendymaires n'incorporent pas le traceur. Les neurones concentrant l'oestradiol ³H montrent une fixation sur la zone nucléaire. Ces derniers sont localisés dans les régions cérébrales précédemment décrites chez la souris et le cobaye. Entre les rongeurs et le singe, on note cependant, au sein de ces régions, des changements quant à la distribution et au nombre des cellules marquées. Nous signalerons tout particulièrement les principales différences observées.

1) Système nerveux central (fig. 9 a)

a) Téleencéphale

Au niveau de l'amygdale, le marquage n'est pas très étendu ; il semble essentiellement limité aux n. basal et médian où les cellules comportent de nombreux grains d'argent.

Les n. du tractus diagonal de Broca, l'hippocampe et le cortex ne fixent pas l'hormone marquée.

FIGURE 9

Fixation de l'oestradiol ³H chez le singe.

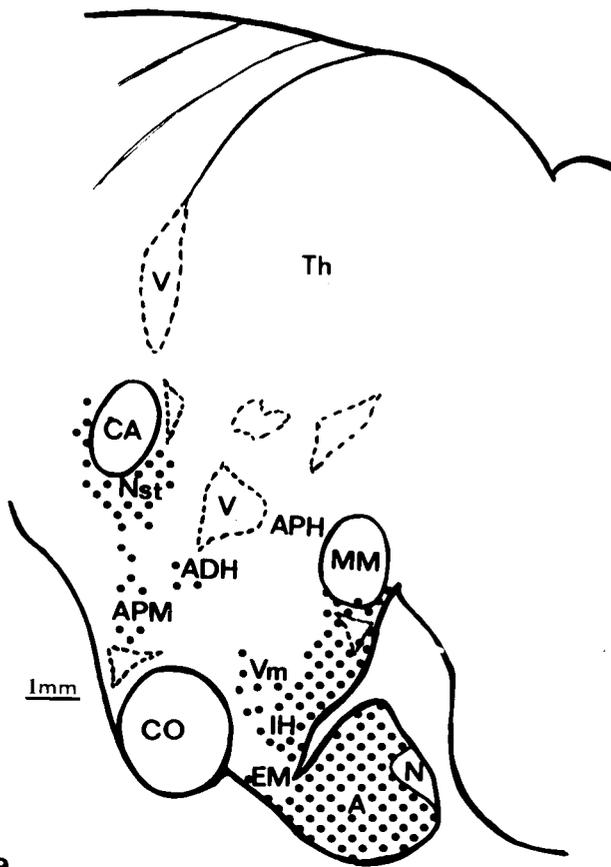
a : localisation des cellules marquées (représentées par des points noirs) dans le cerveau et l'hypophyse du singe écureuil en coupe sagittale.

A : lobe antérieur de l'hypophyse - ADH : aire hypothalamique dorsale - APH : aire hypothalamique postérieure - APM : aire préoptique médiane - CA : commissure antérieure - CO : chiasma optique - EM : éminence médiane - IH : n. infundibulaire - MM : corps mamillaire - N : lobe nerveux de l'hypophyse - Nst : n. de la strie terminale - Th : thalamus - V : ventricule - Vm : n. ventromédian.

b et c : Cellules marquées du n. arqué.
b (G. X 900) - c (G. X 1350).

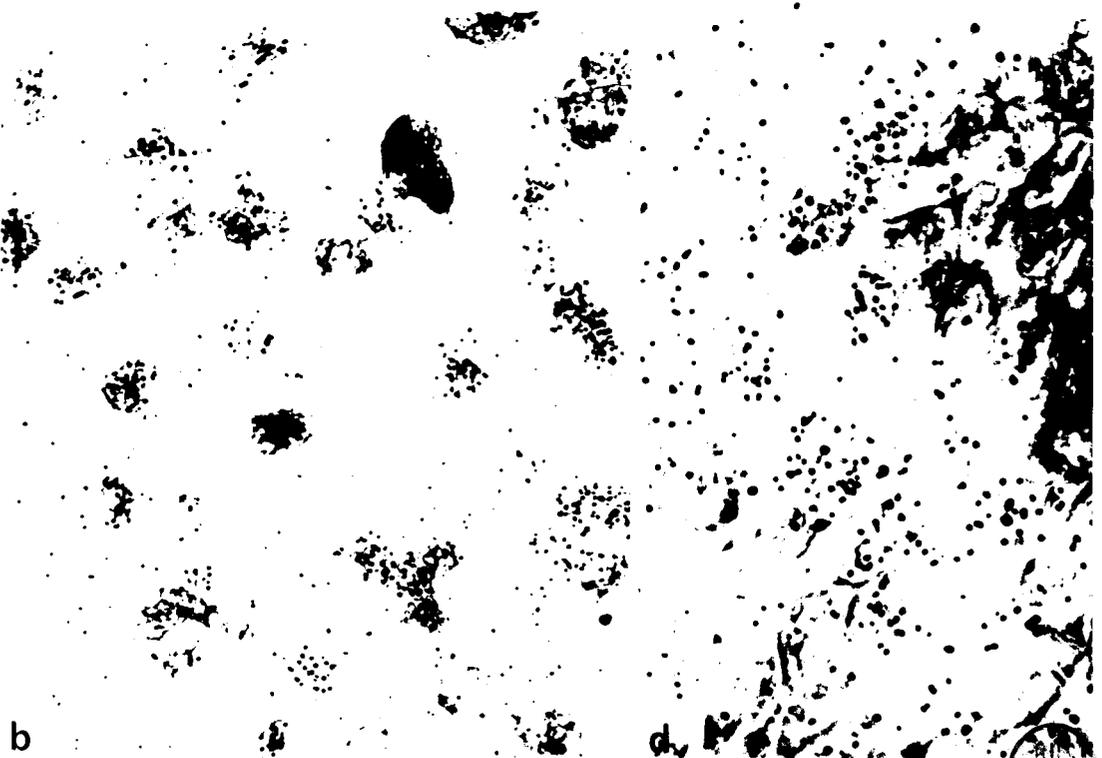
d : Cellules marquées du lobe antérieur de l'hypophyse (G. X 1350).





a

c



b

d



b) Septum

Très peu de neurones marqués sont présents dans les structures du septum. Dans le n. interstitiel de la strie terminale, les cellules marquées apparaissent moins nombreuses que chez la souris. Elles sont principalement situées au pourtour du foramen interventriculaire, dans la région associée avec la composante précommissurale de la strie terminale. Seulement quelques cellules, faiblement marquées, sont identifiées dans la portion antérieure du noyau, en relation avec la composante supracommissurale de la strie terminale.

c) Aire préoptique, hypothalamus antérieur (fig. 9 a)

Dans l'aire préoptique médiane, les cellules marquées sont également moins abondantes que chez les rongeurs et sont réparties dans une zone plus restreinte. Leur localisation est principalement périventriculaire. Elles sont absentes du n. suprachiasmatique supraoptique, préoptique latéral, de l'aire hypothalamique dorsale et latérale.

Dans l'aire hypothalamique antérieure, latéralement au n. paraventriculaire, un petit groupe cellulaire compact appelé n. hypothalamique antérieur (d'après l'atlas de EMMERS et AKERT, 1963) contient une proportion importante de cellules, fortement à moyennement marquées. Certaines d'entre elles rejoignent les quelques neurones magnocellulaires faiblement marqués du n. paraventriculaire. Le n. périventriculaire est faiblement à moyennement marqué sur toute son étendue.

d) Hypothalamus médio-basal (fig. 9 a)

Des neurones montrant souvent une forte intensité de marquage sont observés dans la totalité du n. infundibulaire (fig. 9 b et c) tandis qu'aucune concentration de radioactivité n'est dé-

tectée dans l'éminence médiane. Cette fixation présente une extension latérale sous forme de croissant, en contact antérieurement avec le n. ventromédian et postérieurement avec le n. prémamillaire. De ce fait, des cellules marquées occupent les portions latérale externe et ventrolatérale du n. ventromédian, de la région périfornicale vers la zone infundibulaire, délaissant la partie du noyau proche du 3ème ventricule. Dans le n. prémamillaire ventral mal défini anatomiquement, des neurones marqués voisinent avec ceux du n. infundibulaire, entourant le récessus mamillaire. L'aire hypothalamique postérieure et le corps mamillaire ne captent pas le traceur.

2) Hypophyse

Une population importante de cellules du lobe antérieur de l'hypophyse concentre la radioactivité. Ces cellules, soit isolées, soit par petits groupes, occupent l'intégralité du lobe (fig. 9 d).

DISCUSSION

La radioautographie est un moyen de localiser les cellules cibles à l'oestradiol ^3H sur un plan morphologique mais ne permet pas d'identifier la nature du produit détecté, ni de conclure à la présence de récepteurs de l'oestradiol en termes biochimiques.

Pour cela, nous devons faire appel à des résultats de travaux obtenus au moyen d'autres techniques. Aussi, nous commencerons notre discussion en analysant la nature du produit responsable de la réaction radioautographique. Puis, nous examinerons les régions cérébrales pour lesquelles une concentration et une rétention spécifique d'hormone, ainsi que l'existence de récepteurs de l'oestradiol, sont mises en évidence.

Nous comparerons ensuite nos résultats radioautographiques avec ceux obtenus par d'autres auteurs chez diverses espèces. Cela nous amènera à examiner les connexions neuroanatomiques des différentes régions fixant l'oestradiol ^3H , avant de discuter de leur rôle fonctionnel éventuel dans le contrôle de la sécrétion gonadotrope.

I - NATURE DU PRODUIT RESPONSABLE DE LA REACTION RADIOAUTOGRAPHIQUE

Nous avons signalé dans la première partie de ce travail que le stéroïde peut être métabolisé à son entrée dans la cellule : le métabolite est alors responsable de la réaction radioautographique. Nous n'avons pas effectué l'analyse du produit détecté au cours de nos expériences. Aussi, discuterons-nous de sa nature sur la base des résultats d'ordre biochimique, obtenus par d'autres auteurs.

La nature du produit retenu dans le cerveau et l'hypophyse chez le rat est analysée, entre 1 h et 2 h après l'injection d'oestradiol ^3H , par KATO et VILLEE(1967 a), ZIGMOND et McEWEN (1970), FEDER et Coll. (1974). Dans l'hypothalamus, 75 à 85 % de la radioactivité correspondent à l'oestradiol non métabolisé et 10 à 24 % à de l'oestrone : principal métabolite détecté. Dans l'hypophyse antérieure 85 à 95 % de la radioactivité appartiennent à de l'oestradiol inchangé et 5 % à de l'oestrone.

Cette étude faite par WADE et FEDER(1972b), FEDER et Coll. (1974) chez le cobaye, entre 30 min. et 2 h après l'injection sous-cutanée d'oestradiol ^3H , a pratiquement donné les mêmes pourcentages que chez le rat : hypothalamus (70 % de la radioactivité = oestradiol, 20 % = oestrone), hypophyse (80 % = oestradiol, 3 % = oestrone). Par contre, dans le cortex la moitié de la radioactivité se présente sous forme d'oestradiol et l'autre moitié sous forme d'oestrone.

L'analyse chromatographique du produit responsable de la réaction radioautographique est réalisée chez le singe écureuil par KEEFER et STUMPF (1975b). Trente minutes après l'injection d'oestradiol ^3H , 52 % de la radioactivité dans le cortex et 70 % de la radioactivité dans l'hypothalamus ont la mobilité de l'oestradiol, le reste étant sous forme d'oestrone (4 à 30 %) d'oestriol (3 à 10 %) et d'autres métabolites (2 à 9 %).

D'après ces résultats, on peut considérer que la plus grande partie du marquage observé chez la souris, le cobaye et le singe, est dû à la fixation d'oestradiol ^3H au niveau des récepteurs cellulaires plutôt qu'à celle de ses métabolites.

II - DEMONSTRATION BIOCHIMIQUE DES RECEPTEURS DE L'OESTRADIOL DANS
LES REGIONS MARQUEES PAR RADIOAUTOGRAPHIE

Au moment où nos recherches ont débuté, des études biochimiques avaient montré que l'hypothalamus peut accumuler préférentiellement et retenir l'oestradiol ^3H *in vivo* (EISENFELD, 1967 ; EISENFELD et AXELROD, 1965, 1966, 1967 ; KATO et VILLEE, 1967 a et b). La présence d'un récepteur stéréospécifique de cette hormone est postulée dans la préhypophyse (KATO et VILLEE, 1967 b). Une heure après l'injection d'oestradiol ^3H , une grande quantité d'hormone est associée avec la fraction nucléaire des tissus répondant aux oestrogènes (EISENFELD, 1967, JENSEN et Coll., 1968 ; ZIGMOND et McEWEN, 1970 ; WHALEN et MASSICCI, 1975). Ces résultats suggèrent une translocation du complexe hormone-récepteur dans le noyau. Nous nous sommes basés sur ces observations pour déterminer la durée qui, entre l'injection de l'hormone et le sacrifice de l'animal expérimenté, était susceptible de provoquer un marquage optimal sur nos radioautographies.

Les sites de liaison de l'oestradiol sont ensuite caractérisés dans l'hypothalamus et l'hypophyse chez le rat (McGUIRE et LISK, 1969 ; EISENFELD, 1970 ; KAHWANAGO et Coll., 1970 ; NOTIDES, 1970 ; KATO et Coll., 1970 a ; PLAPINGER et McEWEN, 1973 ; MAURER, 1974) et chez la souris (FOX et JOHNSTON, 1974). Ils ont un coefficient de sédimentation en gradient de densité de saccharose de 8 S approximativement. Des estimations quantitatives des paramètres de liaison indiquent que dans ces tissus l'affinité pour l'oestradiol est élevée et analogue pour les différents tissus sensibles aux oestrogènes. Cependant, le maximum de concentration des sites de liaison est 30 fois plus élevé dans l'hypophyse que dans l'hypothalamus pris dans son ensemble.

L'oestradiol attaché aux sites de liaison cytosoliques est transféré à l'intérieur du noyau ; des taux substantiels d'hormone marquée sont retrouvés dans les noyaux isolés de l'hypothalamus

et de l'hypophyse (ZIGMOND et McEWEN, 1970 ; KATO et Coll., 1970 b ; CLARK et Coll., 1972 ; ANDERSON et Coll., 1973 ; MCEWEN et Coll., 1975, 1979). Dans ces tissus, l'ampleur relative de la liaison au noyau cellulaire suit étroitement l'importance relative de la concentration en récepteurs cytosoliques. Le complexe nucléaire récepteur-oestrogène, qui peut être extrait par KCl 0,3 M, correspond à une molécule sédimentant autour de 5 - 7 S pour l'hypothalamus (MOWLES et Coll., 1971 ; VERTES et KING, 1971) et de 6 - 7 S pour l'hypophyse (KATO et Coll., 1970 b).

Les résultats radioautographiques peuvent être rapprochés de ceux obtenus par des procédés de fractionnements cellulaires. Chez le singe rhésus, les noyaux isolés incorporent l'oestradiol ^3H dans les différentes régions, suivant cet ordre : hypophyse > amygdale > hypothalamus antérieur (de l'aire préoptique au n. ventromédian) > hypothalamus postérieur = septum = hippocampe. La rétention nucléaire dans l'amygdale excède celle de l'hypothalamus antérieur (GERLACH et Coll., 1976). L'ordre est inversé par rapport au rat. Chez ce dernier, une étude similaire a été pratiquée sur des cellules isolées par plusieurs auteurs (NOTIDES, 1970 ; LEAVITT et Coll., 1973 ; MCEWEN et Coll., 1975). Elle indique que les concentrations en radioactivité, les plus élevées, sont rencontrées dans la préhypophyse avec une capacité de liaison nucléaire de 12.500 molécules par cellule suivie par les régions cérébrales soit : l'aire préoptique médiane avec 4.700 molécules par cellule, l'hypothalamus médio-basal avec 4.400 molécules/cellule, l'amygdale cortico-médiane avec 2.850 molécules/cellule et les autres régions du cerveau : le cortex 200 molécules/cellule et l'hippocampe 120 molécules/cellule.

Si l'on compare ces données aux comptages de grains d'argent par μ^2 de surface nucléaire reportés dans le tableau I, une bonne concordance apparaît entre la démonstration radioautographique de la fixation de l'oestradiol ^3H dans les différentes aires cérébrales et les expériences réalisées sur les noyaux cellulaires isolés. Les variations quantitatives de grains d'argent enregistrées reflètent

vraisemblablement une concentration différente des récepteurs des oestrogènes au niveau cellulaire dans ces régions.

III - COMPARAISON DE NOS RESULTATS AVEC CEUX OBTENUS CHEZ D'AUTRES ESPECES

Bien que quelques petites variations entre les espèces puissent apparaître dans la localisation des cellules marquées et dans l'intensité du marquage au sein de certaines régions, on constate chez les rongeurs comme chez les primates 3 zones cérébrales accumulant intensément et spécifiquement la radioactivité :

- une accumulation préoptico-striale constituée principalement par les groupes cellulaires marqués du n. préoptique et du n. interstitiel de la strie terminale.
- une accumulation hypothalamique médio-basale comprenant les neurones marqués du n. arqué, du n. ventromédian et du n. prémamillaire ventral.
- une accumulation amygdalienne formée surtout des cellules marquées du n. médian et accessoirement du n. basal et du n. cortical.

Ces zones d'accumulation principale de radioactivité sont suivies de zones d'accumulation secondaire telles que le septum, l'aire hypothalamique antérieure, l'hippocampe.....

Chez la souris, nos résultats confirmés ultérieurement par STUMPF et SAR (1975a) sont en accord avec ceux obtenus chez le rat (STUMPF, 1968 ; ANDERSON et GREENWALD, 1969 ; TUOHIMAA, 1970 ; ATTRAMADAL, 1970 a et b ; ATTRAMADAL et AAKWAAG, 1970 ; PFAFF et KEINER, 1973 ; STUMPF et Coll., 1975) et chez le hamster (KRIEGER et Coll., 1976). Un plus grand nombre de cellules marquées est décelé dans l'aire préoptique et dans le n. interstitiel de la strie terminale chez le rat et la souris que chez le cobaye.

La topographie des cellules fixant l'oestradiol ^3H est décrite chez deux carnivores : le chat (MICHAEL, 1965) et le vison (MORRILL et Coll., 1977) et un insectivore : le tupai (KEEFER et STUMPF, 1975 a). Entre ces espèces et les rongeurs, une similitude est apparente dans la localisation des cellules marquées.

Chez le singe écureuil, nos observations corroborent celles de KEEFER et STUMPF (1975, b) et sont à rapprocher de celles effectuées chez le singe rhésus (GERLACH et Coll., 1976 ; PFAFF et Coll., 1976). La distribution des cellules oestrogéno-sensibles suivant un trajet septo-préoptico hypothalamique est retrouvée chez les primates. Néanmoins, les cellules marquées apparaissent, comparative-ment aux rongeurs, moins nombreuses dans le septum, l'hippocampe, l'aire préoptique et l'amygdale. Elles semblent, par contre, plus abondantes dans l'hypothalamus médio-basal.

La disposition sélective des structures cérébrales, retenant l'oestradiol ^3H , constitue une sorte d'"anatomie neuroendocrine". Celle-ci pourrait bien recouper certaines grandes lignes d'une organisation neuroanatomique définie par d'autres méthodes. Dans cette optique, on constate que les régions hypothalamiques et limbiques marquées correspondent grossièrement à plusieurs structures télencéphaliques et diencéphaliques, phylogénétiquement anciennes, envisagées par PAPEZ (1937) et MacLEAN (1949, 1958, 1970) comme étant un substrat anatomique au "comportement émotionnel". Pour RAMON-MOLINER et NAUTA (1966), la formation réticulée du tronc cérébral appartient à une aire phylogénétiquement ancienne ; les régions limbiques et hypothalamiques, sensibles aux oestrogènes, peuvent être considérées en partie comme une composante ou une extension de ce système réticulé ancien.

L'hypothèse d'un système limbique-hypothalamique fixant les oestrogènes peut être envisagée. En effet, non seulement chez les mammifères mais aussi chez différents autres vertébrés, les

cellules oestrogéno-réceptrices sont regroupées au sein des mêmes structures limbiques et hypothalamiques bien distinctes du cerveau antérieur. Ces constatations faites chez les poissons (MORRELL et Coll., 1976 ; DAVIS et Coll., 1977 ; KIM et Coll., 1978 a, 1979 a et b) les batraciens (MORRELL et Coll., 1975 ; KELLEY et Coll., 1978), les reptiles (KIM et Coll., 1978 b) les oiseaux (MARTINEZ-VARGAS et Coll., 1975) témoignent en faveur de la continuité d'une topographie de base au cours de l'évolution. Pour vérifier une telle hypothèse, il serait nécessaire de déterminer par des techniques physiologiques comment et jusqu'à quel point les neurones des régions retenant l'oestradiol ^3H fonctionnent ensemble de façon systématisée. Toutefois, une condition minimale pour désigner sous le nom de système ces différentes structures est qu'elles entretiennent entre elles, directement ou indirectement, des relations neuroanatomiques.

IV - CONNEXIONS NEUROANATOMIQUES DES GROUPES CELLULAIRES OESTROGENO-SENSIBLES

La figure 10 résume, à partir des données neuroanatomiques tirées de la littérature, les relations les mieux connues entre les régions hypothalamiques et extra-hypothalamiques retenant l'oestradiol ^3H . Nous envisagerons accessoirement les rapports existant entre des aires moins réceptrices aux oestrogènes mais qui, nous le verrons ultérieurement, fixent d'autres stéroïdes. Ce diagramme, très schématique, ne prétend pas mettre en évidence toutes les projections originaires de ces structures et ne veut pas laisser supposer que les trajets indiqués sont exclusivement issus des neurones oestrogéno-sensibles. Il n'est pas prouvé, non plus, que ces territoires soient plus interconnectés que certaines autres structures du système nerveux. Néanmoins, la densité des projections montre clairement l'existence d'un support neuroanatomique permettant une action physiologique systématisée et coordonnée par des cellules interconnectées.

FIGURE 10

Diagramme schématique des connexions neuroanatomiques bien connues entre les structures cérébrales fixant l'oestradiol ³H. Les régions encadrées renferment des neurones plus nombreux et plus fortement marqués que les régions encerclées.

- Abréviations: AHA : aire hypothalamique antérieure ; Amygdale :
Med : n. médian, Cort : n. cortical ; APOM : aire préoptique médiane ;
AR : n. arqué ; BDB : bande diagonale de Broca ; bo : bulbe ol-
factif ; boa : bulbe olfactif accessoire ; ENT : cortex entorhinal ;
FMT : faisceau médian du télencéphale ; HPV : hippocampe ventral ;
NST : n. interstitiel de la strie terminale ; PIR : cortex piriforme ;
PMV : n. prémamillaire ventral ; SG : substance grise centrale mésen-
céphalique ; SL : septum latéral ; Sm : septum médian ; TO : tubercule
olfactif ; VM : n. ventromédian.

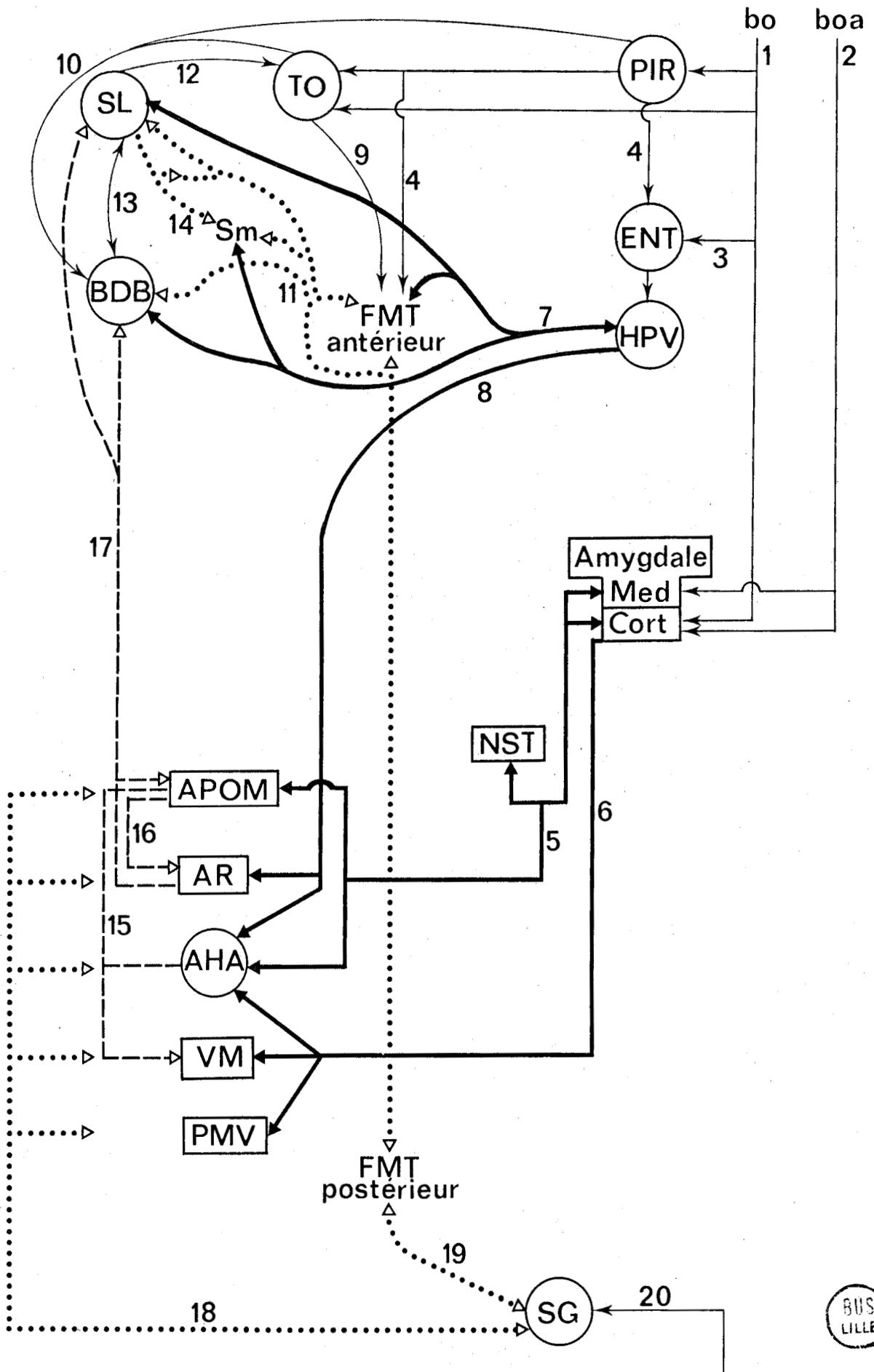
- Dans un but de clarification, les connexions sont schématisées par des lignes aux tracés différents. L'épaisseur du trait n'est pas pour autant proportionnelle à l'importance relative des trajets. Les connexions sont décomposées en 5 groupes caractérisés chacun par un type de ligne : les circuits olfactifs sont représentés par des lignes droites et minces ; les connexions entre septum, tubercule olfactif et bande diagonale de Broca par des lignes courbes ; les projections limbiques à l'hypothalamus par des traits épais ; les connexions intrahypothalamiques par des traits pointillés et les trajets longitudinaux comprenant les connexions multisynaptiques par des pointillés.

- Les numéros se rapportent à des projections décrites dans la littérature dont les références sont citées ci-après :

1 : Le tractus olfactif latéral : POWELL et Coll. (1965), HEIMER (1968)

2 : WINANS et SCALIA (1970).

3 : HEIMER (1968).



- 4 : POWELL et Coll. (1965); MILLHOUSE (1969) ; SCOTT et LEONARD (1971).
- 5 : La strie terminale post-commissurale : COWAN et Coll. (1965) ;
HEIMER et NAUTA (1969), MILLHOUSE (1969) ; LEONARD et SCOTT (1971); De
OLMOS et INGRAM (1972), SWANSON et COWAN (1979).
- 6 : La strie terminale supra-commissurale : COWAN et Coll. (1965) ;
HEIMER et NAUTA (1969) ; RAISMAN (1970) ; LEONARD et SCOTT (1971) ;
- 7 : Le fornix : NAUTA (1956) ; RAISMAN et Coll. (1966) ; RAISMAN
(1966, 1970) ; SWANSON et COWAN (1979).
- 8 : Le tractus médian cortico-hypothalamique : NAUTA (1956) ;
GUILLERY (1956) ; RAISMAN et Coll. (1966) ; RAISMAN (1970).
- 9 : MILLHOUSE (1969) ; SCOTT et LEONARD (1971).
- 10 : RAISMAN (1966) ; SCOTT et LEONARD (1971).
- 11 : GUILLERY (1957), RAISMAN (1966).; SWANSON et COWAN (1979).
- 12 : RAISMAN (1966).
- 13 : RAISMAN (1966) ; MILLHOUSE (1969).; SWANSON et COWAN (1979).
- 14 : NAUTA (1958) ; RAISMAN (1966) ; MILLHOUSE (1969).
- 15 : CHI (1970 a).
- 16 : CONRAD et PFAFF (1976 a) ; SWANSON (1976).
- 17 ; CONRAD et PFAFF (1976 b) ; KRIEGER et Coll. (1978).
- 18 : Le système de fibres périvericulaires : GUILLERY (1957);
SZENTÁGOTHAI et Coll.(1962); CHI (1970 b) ; DAIKOKU et Coll. 1976 ;
CONRAD et PFAFF (1976 a).
- 19 : Projections du faisceau médian du télencéphale à la substance
grise centrale du mésencéphale GUILLERY (1957) ; NAUTA (1958,
1963) ; McCLURE et CLARK (1968) ; MILLHOUSE (1969).
Projections de la substance grise centrale au faisceau médian du
télencéphale : CHI (1970 b) ; HAMILTON et SKULTETY (1970).
- 20 : Projections de la moelle épinière à la substance grise centrale :
GOLDBERG et MOORE (1967) ; SCHROEDER et JANE (1971).

Dans un but de simplification, les connexions sont disposées et schématisées de façon à pouvoir distinguer plusieurs groupes :

- 1 - le premier groupe de projections (lignes droites dans l'angle supérieur droit de la figure 10) relie le bulbe olfactif, par la voie du tractus olfactif, au cortex piriforme, au tubercule olfactif, au cortex entorhinal et au n. amygdalien cortical. Des fibres originaires du bulbe olfactif accessoire se projettent aux n. cortical et médian de l'amygdale.
- 2 - Le deuxième groupe de connexions (lignes courbes dans l'angle supérieur gauche de la figure 10) schématise les relations entre le septum, le tubercule olfactif et la bande diagonale de Broca. Pour certains auteurs, le septum médian se présente comme un relais pour les influx provenant du septum latéral en direction d'autres structures. Le faisceau médian du télencéphale qui offre un important système longitudinal de communications, semble être, pour ces structures, la voie la plus importante et la plus longue pour le cheminement des informations.
- 3 - Certaines régions limbiques, fixant l'oestradiol ³H, émettent des projections vers des structures hypothalamiques (lignes au trait épais de la figure 10). Des n. amygdaliens contribuent à la formation de la strie terminale et établissent des relations avec le n. du lit de la strie terminale, l'aire préoptique médiane et l'hypothalamus : n. ventromédian, n. prémamillaire (tractus n° 5 et n° 6 de la figure 10). Réciproquement, des fibres probablement issues du n. du lit de la strie terminale aboutissent à l'amygdale. Certains territoires de l'hippocampe envoient des fibres au septum latéral, médian et à la bande diagonale de Broca (tractus n° 7 de la figure 10). De plus, le faisceau cortico-hypothalamique médian (tractus n° 8 de la figure 10), prenant vraisemblablement naissance dans le *prosubiculum* se dirige vers la partie la plus médiane de l'hypothalamus antérieur et vers la région antérieure du n. arqué.

- 4 - Les connexions intra-hypothalamiques doivent aussi être considérées bien qu'elles soient parfois le sujet de controverses. Les axones de cellules préoptiques ou hypothalamiques antérieures se projettent dans le n. ventromédian (tractus n° 15 de la figure 10). L'intégralité de la région préoptique délègue un fort contingent de fibres dans le faisceau médian du télencéphale. Certaines d'entre elles bifurquent au niveau du n. ventromédian pour rejoindre le n. arqué; (tractus n° 16 de la figure 10). Un groupe de fibres, provenant de l'hypothalamus médio-basal remonte, sans emprunter le faisceau médian du télencéphale, en direction de l'aire préoptique et de structures plus antérieures telles que le tractus diagonal de Broca et le septum (tractus n° 17 de la figure 10).
- 5 - Les systèmes de fibres longitudinales reliant les structures télencéphaliques et diencephaliques au mésencéphale sont formés du groupe de fibres périventriculaires, longeant le 3ème ventricule jusqu'à l'éminence médiane (tractus n° 18 de la figure 10) et du faisceau médian du télencéphale (tractus n° 19 de la figure 10). Ce dernier constitue le support des relations septo-hypothalamiques. L'ensemble de ces systèmes longitudinaux présente vraisemblablement des trajets multisynaptiques de longueurs variées. Les études en "Golgi" relatives au faisceau médian du télencéphale tendent à montrer, à différents niveaux de l'axe préoptico-hypophysaire, la présence d'une communication entre les structures médianes et latérales. Celle-ci est facilitée par des collatérales axoniques et de larges neurones dendritiques dispersés de l'hypothalamus médian et latéral.

Ainsi, si un important courant d'informations suit un axe longitudinal (composé par le faisceau médian du télencéphale et les fibres périventriculaires), une autre voie importante peut être empruntée dans le sens transversal. Dans ce cas, le trajet est constitué par des collatérales axoniques reliant les structures hypothalamiques médianes et latérales vers les aires amygdaliennes et par, le réseau

dense de connexions parmi les régions du septum, du tractus diagonal de Broca, du tubercule olfactif et du cortex piriforme.

L'organisation de ces relations neuroanatomiques entre les structures accumulant l'oestradiol ^3H (et leurs projections vers d'autres régions non envisagées dans ce paragraphe), ainsi que l'affinité sélective de certains neurones pour l'hormone, contribuent probablement à expliquer au niveau cérébral les actions séquentielles engendrées par les rétroactions des oestrogènes. Néanmoins, seules des études neurophysiologiques et neurochimiques peuvent préciser comment ces actions successives, relatives à divers événements endocriniens et comportementaux, sont exactement déclenchées et articulées.

V - RELATIONS DES NEURONES OESTROGENO-SENSIBLES AVEC LES NEURONES ELABORANT DES POLYPEPTIDES

La radioactivité combinée avec une technique immunocytochimique à la peroxydase a permis à KEEFER et Coll. (1976) à la fois d'identifier quatre types cellulaires hypophysaires et d'y examiner la fixation d'oestradiol ^3H . Après quantification des grains d'argent, l'intensité du marquage décroît suivant cet ordre : cellules gonadotropes > somatotropes > à prolactine > thyrotropes. Ainsi une même cellule hypophysaire peut être à la fois une cellule cible aux oestrogènes et le site de production d'une hormone polypeptidique. Cette technique immunoradioautographique n'a pas jusqu'à présent été appliquée au système nerveux central.

Si on établit un rapprochement entre les aires de distribution des neurones fixant les oestrogènes et celles des neurones à LH-RH, qui ont fait l'objet de nombreuses publications ces dernières années, on s'aperçoit qu'elles sont très voisines voire identiques chez certaines espèces. L'immunofluorescence à l'aide d'anti-sérums anti LH-RH de synthèse, a permis de caractériser la topographie des corps

cellulaires et des voies à LH-RH dans le cerveau de différents rongeurs : cobaye (BARRY et Coll., 1973 a et b, 1974 ; LEONARDELLI et Coll., 1973 ; MAZZUCA et DUBOIS, 1974 ; SILVERMAN, 1976 ; BARRY, 1976), souris (ZIMMERMAN et Coll., 1974 ; HOFFMAN et Coll., 1978) rat (KORDON et Coll., 1974 ; NAIK, 1975 a et b ; KING et Coll., 1974 a ; SÉTALÓ et Coll., 1975, 1976) et de plusieurs primates (BARRY et CARETTE, 1975 ; BARRY et Coll., 1976 ; BARRY, 1978 ; MAZZUCA, 1977).

Chez le cobaye, les péricaryons de neurones immuno-réactifs se rencontrent principalement dans les régions septales, pré-optiques et même parolfactives. Ils sont peu abondants dans l'hypothalamus médio-basal. La distribution de ces neurones dans les régions pré-commissurale, supraoptique, rétrochiasmatique se superpose assez bien avec celle des cellules fixant l'oestradiol ^3H . Une similitude dans la localisation de ces deux populations cellulaires apparaît également chez le singe écureuil pour lequel les péricaryons immunoréactifs au LH-RH sont principalement observés dans l'aire médio-basale de l'hypothalamus (région rétrochiasmatique, n. infundibulaire et n. prémamillaire) et dans l'organe vasculaire de la lame terminale. Chez ces deux espèces, citées en exemple, le nombre total de cellules réagissant avec l'anti LH-RH semble beaucoup moins important que le nombre de cellules marquées par l'oestradiol ^3H .

On peut supposer que les neurones oestrogéno-sensibles correspondent aux neurones à LH-RH ou qu'ils entretiennent entre eux des relations morphologiques privilégiées. Ainsi, la rétroaction des oestrogènes peut s'adresser soit à des neurones élaborant LH-RH, soit à des neurones appartenant à des structures hypothalamiques et extra-hypothalamiques intervenant dans le contrôle de la sécrétion gonadotrope.

Des neurones réagissant avec l'anti-neurophysine, vasopressine ou ocytocine sont localisés dans des noyaux magnocellulaires hypothalamiques (n. supraoptique et n. paraventriculaire) (ZIMMERMAN 1976). Un groupe de péricaryons vasopressine-positifs est également

observé dans le n. suprachiasmatique et dans le n. septal triangulaire (WEINDL et SOFRONIEW, 1976). Des corps cellulaires contenant de la somatostatine sont mis en évidence dans l'aire périventriculaire (DUBOIS et KOŁODZIEJCZYK, 1975 ; ELDE et PARSONS, 1975 ; PELLETIER et Coll., 1975). De par leur localisation, les neurones élaborant ces différents polypeptides pourraient correspondre à des neurones susceptibles de capter plus ou moins intensément l'oestradiol ^3H .

La distribution des cellules, fibres et terminaisons nerveuses enképhalines-positives est étudiée par immunohistochimie (ELDE et Coll., 1976 ; SIMANTOV et Coll., 1977 ; HÖKFELT et Coll., 1977 ; SAR et Coll., 1978 ; TRAMU et LEONARDELLI, 1979). Des fibres et terminaisons nerveuses innervent des péricaryons du n. interstitiel de la strie terminale, du n. amygdalien central et du n. ventromédian. Quelques corps cellulaires immunoréactifs sont dispersés dans ces mêmes noyaux et également dans le n. préoptique médian, périventriculaire et prémamillaire ventral. Il est possible que ces éléments contenant des enképhalines innervent (ou appartiennent à) des neurones fixant les oestrogènes. Cela reste à établir par une technique permettant de localiser simultanément sur une même préparation les enképhalines et les hormones stéroïdes.

VI - RELATIONS DES NEURONES OESTROGENO-SENSIBLES AVEC LES NEURONES AMINERGIQUES

Les résultats de plusieurs travaux laissent actuellement supposer que les stéroïdes sexuels agissent sur la fonction gonadotrope et le comportement en partie par l'intermédiaire d'interactions avec des neurones producteurs d'amines biogènes. Ils suggèrent une action directe de ces stéroïdes sur les neurones aminergiques centraux, étant donné les effets qu'ils produisent sur la synthèse ou le renouvellement ("turnover") des amines biogènes (dopamine, noradrénaline, adrénaline, sérotonine) dans le système nerveux central.

L'existence de relations morphologiques entre neurones catécholaminergiques et sites de marquage oestrogénique a été démontrée au moyen de la radioautographie combinée à la technique de fluorescence permettant ainsi de localiser les oestrogènes et les catécholamines sur les mêmes cellules (GRANT et STUMPF, 1973, 1975). Quarante à cinquante pour cent des cellules dopaminergiques du n. arqué et du n. périventriculaire fixent l'oestradiol ³H. Ces cellules dopaminergiques appartiennent au groupe A 12 tubéro-infundibulaire. De tels neurones, appelés oestrogéno-dopaminergiques n'ont pas été identifiés parmi les cellules dopaminergiques du groupe A 14 périventriculaire rostral. Des neurones oestrogéno-sensibles non dopaminergiques de la région périventriculaire - arquée peuvent être entourés par des terminaisons catécholaminergiques, probablement noradrénergiques. Plusieurs auteurs (KORDON et GLOWINSKI, 1969, 1972 ; KORDON et Coll., 1976 ; KORDON et ROTSZTEJN, 1977 ; ROTSZTEJN et Coll., 1976, 1977) attribuent à la dopamine un rôle facilitant envers la cession de LH-RH. Il est possible que la fonction de "feedback" négatif des oestrogènes sur la décharge gonadotrope puisse s'exercer au niveau de la région périventriculaire - arquée en bloquant la stimulation dopaminergique ou noradrénergique de la libération de LH-RH dans l'éminence médiane. La présence de cellules oestrogéno-réceptrices, de cellules dopaminergiques et de cellules à LH-RH dans cette région fournit un critère anatomique à cette hypothèse.

L'hydroxylation de l'oestradiol et de l'oestrone en position 2 pour former des catéchol-oestrogènes a été démontrée dans l'hypothalamus (FISHMAN et NORTON, 1975). Cette conversion est limitée à cette seule région et ne se produit pas dans le cortex. Bien que la structure des catéchol-oestrogènes puisse laisser penser qu'ils aient un effet direct sur les récepteurs dopaminergiques et noradrénergiques, leur fonction neuroendocrine n'est pas bien établie. Le concept qu'une certaine catécholamine serve de médiateur à l'action des stéroïdes sur le tissu cérébral est intéressant.

VII - REGIONS FIXANT L'OESTRADIOL ³H IMPLIQUEES DANS LE CONTROLE DE L'OVULATION ET DE LA SECRETION GONADOTROPE

1) Sites de rétroaction des oestrogènes chez les rongeurs

a) Rétroaction négative

Le noyau arqué, qui retient fortement l'oestradiol ³H, est considéré actuellement par de nombreux auteurs comme le site de l'action de "feedback" négatif des oestrogènes. Des implantations de cristaux d'oestradiol dans le noyau arqué chez les rates provoquent une atrophie de l'utérus et des ovaires. Ces changements atrophiques qui ressemblent à ceux observés après hypophysectomie, ne se manifestent pas si les implantations sont effectuées dans d'autres régions cérébrales (LISK, 1960). De plus, elles inhibent après gonadectomie l'apparition des cellules de "castration" préhypophysaires tandis que des implantations pratiquées dans l'adénohypophyse n'empêchent pas leur formation (LISK, 1963). De même, la déafférentation complète de l'hypothalamus médio-basal ne s'oppose pas à leur développement après gonadectomie (HALASZ et GORSKI, 1967). La présence des cellules de "castration" semble consécutive à l'interruption d'une action de "feedback" négatif des oestrogènes sur l'hypothalamus médio-basal.

L'ovariectomie produit, chez la rate, dans approximativement 20 % des cellules du noyau arqué, des altérations de certains constituants cellulaires telle l'hypertrophie de l'ergastoplasme avec apparition d'images d'enroulement (KING et Coll., 1974b). Ces modifications sont interprétées comme étant une manifestation de l'augmentation de la synthèse des protéines (BRAUER, 1971 ; KING et Coll., 1974b) et les cellules intéressées représentent probablement au niveau hypothalamique l'équivalent des cellules hypophysaires de "castration". Cette hypothèse est renforcée par le fait que l'incorporation de lysine ³H est augmentée de façon très significative dans le noyau arqué (LITTERIA,

1973). Après traitement intensif à l'oestradiol, BRAWER et SONNENSCHNEIN (1975) observent qu'une petite population de cellules du noyau arqué présente des modifications cytopathologiques. De plus, dans cette région, principalement chez le rat et la souris, un petit groupe cellulaire est immunoréactif au LH-RH (ZIMMERMAN et Coll., 1974 ; NAIK, 1975 a). Bien qu'il n'ait pas été démontré que les neurones qui réagissent à ces divers traitements constituent une et même population, cette hypothèse n'est pas à rejeter. Un argument qui l'appuie est la localisation au niveau ultrastructural de la LH-RH dans des cellules montrant souvent ces images d'enroulement de l'ergastoplasme (NAIK, 1975 b). Ainsi les cellules élaborant LH-RH pourraient correspondre aux cellules répondant au "feedback" négatif des oestrogènes.

La déconnexion hypothalamique, à l'aide du couteau de HALASZ, qui détruit les relations préoptico-infundibulaires, n'influence pas la sécrétion gonadotrope tonique chez le rat (HALASZ et GORSKI, 1967) ni chez le cobaye (BUTLER et DONOVAN, 1971). De plus, l'isolement complet de l'hypothalamus médio-basal ne modifie pas la décharge préovulatoire de LH chez le cobaye (BUTLER et DONOVAN, 1971). Pour KREY et SILVERMAN (1978) , seules des lésions dans le noyau arqué empêchent l'augmentation plasmatique de LH chez le cobaye ovariectomisé. A la vue de ces données, le noyau arqué apparaît comme le site de la rétroaction négative des oestrogènes (fig. 11) qui régularise la sécrétion gonadotrope tonique, contrôlant le développement, la croissance et la maturation des gonades.

b) Rétroaction positive

α) Au niveau cérébral

Des expériences de stimulations électriques et électrochimiques de certaines aires limbiques marquées par l'oestradiol ³H (bande diagonale de Broca, septum et n. du lit de la strie terminale) provoquent l'ovulation et la libération cyclique de LH chez le rat bloqué

en prooestrus par le pentobarbital (KAWAKAMI et Coll., 1970). Si la stimulation est appliquée à l'aire préoptique médiane, l'ovulation peut être déclenchée même après suppression des influx nerveux provenant des aires limbiques. Cela semble indiquer que dans les conditions d'efférences intactes, ces aires limbiques stimulent l'aire préoptique pour conduire à l'ovulation (KIMURA et KAWAKAMI, 1978). Toutefois, la totalité de l'aire préoptique n'apparaît pas être concernée dans le maintien de la rythmicité de l'ovulation, seulement certaines régions seraient impliquées telles que la partie périventriculaire du n. préoptique médian, la *pars* suprachiasmaticque et les n. suprachiasmaticques. D'après ces auteurs (KAWAKAMI et KIMURA, 1975 ; KAWAKAMI et Coll., 1978) le site de la rétroaction positive de l'oestradiol qui induit le pic préovulatoire de LH et/ou l'ovulation, pourrait se situer au niveau du système limbique (n. amygdalien médian ou n. de la strie terminale ou tractus diagonal de Broca ou septum) plutôt que dans l'aire préoptique médiane. Cependant, si cette dernière est déafférentée pendant une longue période, elle répond alors à l'oestradiol par une action stimulante (KAWAKAMI et KIMURA, 1976). La destruction bilatérale à long terme de la *pars* suprachiasmaticque de l'aire préoptique interfère avec la rétroaction positive de l'oestradiol sur la décharge de LH chez la rate ovariectomisée (KAWAKAMI et Coll., 1977). Ces auteurs concluent que la décharge préovulatoire de LH est stimulée, avec une périodicité de 4 à 5 jours, par des influx nerveux originaires des neurones, fixant les oestrogènes du n. médian de l'amygdale et du n. interstitiel de la strie terminale. Ces signaux nerveux convergent vers les neurones oestrogéno-sensibles de l'aire préoptique médiane pour y être intégrés et transformés en rythme circadien (KAWAKAMI et KIMURA, 1976 ; KIMURA et KAWAKAMI, 1978).

Pratiquant d'autres techniques, plusieurs auteurs tels que GOODMAN (1978) après implantations stéréotaxiques bilatérales d'oestradiol dans le cerveau, aboutissent aux conclusions que l'hypothalamus médio-basal n'est pas le site de la rétroaction positive de l'oestradiol mais que cette dernière agit au niveau de l'aire préoptique pour

induire la cession de LH. Pour GRAY et Coll., (1978), des lésions de la région préoptique médiane inhibent la décharge de LH. Néanmoins, la suppression de la rétroaction positive dépend de la taille de la lésion et ne sera que partiellement affectée si la destruction de la région suprachiasmatique n'est pas totale. Cette dernière remarque peut expliquer les résultats négatifs obtenus par CLEMENS et Coll. (1976) et BROWN-GRANT et RAISMAN (1977) après la lésion électrolytique de l'aire préoptique.

D'après ces données, l'aire préoptique chez le rat s'avère être le site effecteur de la rétroaction positive des oestrogènes. Elle assure la commande du déclenchement périodique de LH-RH. L'aire préoptique reçoit et amplifie les influences provenant des régions plus antérieures, septales et limbiques. Ces signaux sont destinés aux structures de l'hypothalamus médio-basal. L'activation en chaîne de ces deux régions aboutit à la libération de LH (fig. 11).

β) Au niveau hypophysaire

De nombreux travaux tendent actuellement à montrer que l'oestradiol exerce une action de "feedback" positif au niveau hypophysaire (fig. 11). Un effet stimulant des oestrogènes sur la sécrétion à la fois, de LH et de FSH est constaté dans l'hypophyse au cours d'expériences réalisées *in vivo* et *in vitro* sur des cellules hypophysaires en culture (FERLAND et Coll., 1976). La sensibilité de l'hypophyse au LH-RH exogène est maximale en prooestrus ainsi que le pouvoir du LH-RH à augmenter la sensibilité des cellules hypophysaires à une administration ultérieure de ce décapeptide (MARTIN et Coll., 1974 ; AIYER et Coll., 1974 ; CASTRO-VAZQUEZ et McCANN, 1975). Ces manifestations présentent donc un caractère oestrogéno-dépendant (ARIMURA et SCHALLY, 1971 ; AIYER et Coll., 1974). Cependant, le rôle physiologique exact de ces effets stimulants de l'oestradiol sur les cellules gonadotropes du lobe antérieur n'est pas totalement élucidé.

2) Sites de rétroaction négative et positive des oestrogènes chez les primates.

La déconnexion chirurgicale complète de l'hypothalamus médio-basal chez le singe rhésus (atteignant l'éminence médiane, le n. arqué, le n. ventromédian, le n. prémillaire et le corps millaire mais excluant l'aire préoptique et la région suprachiasmatique) n'intervient pas sur les décharges pulsatiles de LH et de FSH ni sur l'inhibition de leur sécrétion après traitement à l'oestradiol (KREY et Coll., 1975). L'hypothalamus médio-basal, qui contient un grand nombre de cellules oestrogéno-réceptrices, est vraisemblablement, comme chez le rat, le site de "feedback" négatif des oestrogènes.

Contrairement à ce qui se passe chez le rat, la déconnexion de l'hypothalamus médio-basal chez le singe ne supprime pas les décharges ovulatoires spontanées de LH et de FSH. Elle n'empêche pas, non plus, la production de ces décharges gonadotropes quand elles sont induites par les oestrogènes (KREY et Coll., 1975). Il résulte de ces expériences que les composantes cérébrales du système de contrôle qui gouvernent la sécrétion gonadotrope cyclique sont localisées dans l'hypothalamus médio-basal. Le n. arqué, fortement marqué par l'oestradiol ³H, apparaît comme la structure principale de ce contrôle hypothalamique de la sécrétion gonadotrope à la fois tonique et cyclique (fig. 11). PLANT et Coll. (1978) effectuent, chez le singe ovariectomisé, des lésions électrolytiques qui, focalisées au n. arqué, provoquent une chute brutale des taux de LH et de FSH dans le sérum pour atteindre des niveaux non détectables et abolissent la rétroaction positive de l'oestradiol. Par contre, la destruction incomplète du n. arqué produit des effets moindres et si cette même région est épargnée par la lésion, la sécrétion de LH et de FSH ne diffère pas de celle des animaux contrôles. Il est possible que ces lésions du n. arqué, qui conduisent à la suppression de la sécrétion gonadotrope, endommagent des neurones qui pour certains d'entre eux sont oestrogéno-sensibles, et qui, soit

sécrètent LH-RH, soit contrôlent la sécrétion de cette gonadolibérine. Notons toutefois que des lésions de l'hypothalamus antérieur (NORMAN et Coll., 1976) ou de déafférentation (KOYAMA et Coll., 1977) peuvent empêcher également l'ovulation chez le singe et affecter la réponse de LH plasmatique au LH-RH.

KNOBIL et PLANT (1978) n'excluent pas la possibilité d'une rétroaction positive et négative de l'oestradiol au niveau hypophysaire. Chez des animaux ovariectomisés porteurs de lésions du n. arqué, pour qui de ce fait, la production de LH-RH endogène est supprimée, la sécrétion gonadotrope peut être restaurée par l'injection répétée, à intervalles réguliers, de Gn RH. Par ailleurs, la destruction de l'hypothalamus médio-basal chez le singe rhésus (NAKAI et Coll., 1978), ne gêne pas la libération cyclique de gonadotropines lorsque l'administration en quantités suffisantes d'oestrogènes permet le déclenchement d'une rétroaction positive au niveau hypophysaire. Les résultats d'expériences récentes de sections de la tige hypophysaire (FERIN et Coll., 1979) suggèrent que le foyer d'action des oestrogènes sur la cession gonadotrope se situe dans l'hypophyse et que chez le singe, les oestrogènes sont capables d'induire la sécrétion hypophysaire de LH et de FSH à partir d'une glande non soumise à une décharge préalable de gonadolibérines. La radioautographie révèle l'existence dans l'hypophyse antérieure d'un nombre important de cellules oestrogéno-sensibles susceptibles d'être impliquées dans cette rétroaction des oestrogènes.

Récemment, chez le singe écureuil, BARRY (1979 a) suggère, sur la base de modifications d'immunoréactivité des tractus hypothalamiques à gonadolibérine, que le tractus préoptico-terminal à LH-RH pourrait intervenir en sensibilisant les cellules gonadotropes à la décharge préovulatoire de LH-RH dans le système porte-hypophysaire (fig. 11).

F I G U R E 11

Schéma des mécanismes de commande de la cession portale cyclique de LH-RH chez les mammifères - Rétroactions des oestrogènes.

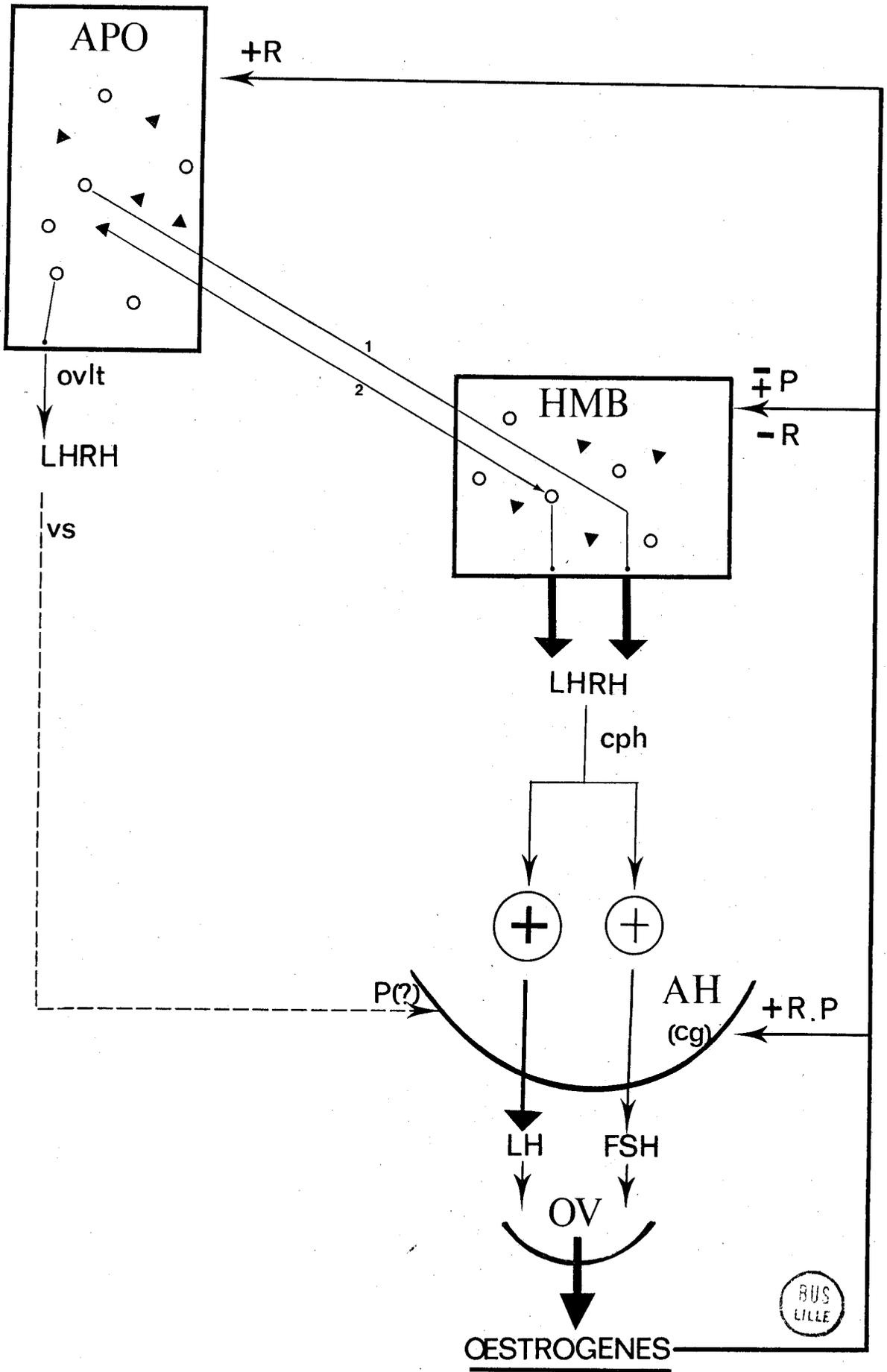
AH (cg) : adénohypophyse (cellules gonadotropes) -
APO : aire préoptique - cph : circulation porte hypophysaire - HMB : hypothalamus médio-basal - OV : ovaire -
ovlt : organe vasculaire de la lame terminale -
P : primates - R : rongeurs - vs : voie veineuse.

▲ : neurones classiques - o : neurones à LH-RH

1 - 2 : relations entre les différents neurones

-----> : sensibilisation des cellules gonadotropes à la décharge portale de LH-RH (dilution de LH - RH dans vs : 1/500 par rapport à celle dans cph : 1/1) (BARRY, 1979 a).

+ : Rétroaction positive ; - : Rétroaction négative des oestrogènes.



CONCLUSION DE LA DEUXIEME PARTIE

Le système nerveux central et l'hypophyse ont le pouvoir de concentrer et de retenir sélectivement l'oestradiol ³H. La radioautographie apporte une information détaillée sur la distribution topographique des cellules fixant cette hormone. Cette dernière est incorporée au niveau de cellules cibles par des macromolécules réceptrices intracellulaires, spécifiques, dont l'existence est démontrée par voie biochimique.

Les cellules marquées sont généralement observées dans des régions bien individualisées du cerveau. Chez les espèces étudiées, elles peuvent être regroupées en trois grandes zones : l'aire préoptico-striale, l'aire hypothalamique médio-basale et l'aire amygdalienne. La localisation de ces cellules est semblable chez les rongeurs et les primates ; seules quelques différences dans l'intensité et l'étendue du marquage apparaissent. La disposition des cellules oestrogénosensibles suivant un axe septo-préoptico-hypothalamique est d'ailleurs retrouvée chez d'autres vertébrés, des poissons aux mammifères. Les régions, renfermant ces cellules, sont considérées comme des structures primitives dans le développement phylogénétique du cerveau.

Il semble que la plus grande partie du marquage obtenu sur les radioautographies soit dû à la fixation d'oestradiol ³H au niveau des récepteurs cellulaires plutôt qu'à celle de ses métabolites.

L'oestradiol facilite la séquence d'évènements qui provoquent la décharge de LH à la fois, en augmentant le taux de LH-RH sécrété et la sensibilité des cellules hypophysaires à libérer LH en réponse à la gonadolibérine. Non seulement, les sites d'action des oestrogènes sur la régulation de la fonction gonadotrope ont été identifiés par des techniques utilisant des stimulations, des lésions ou des implan-

tations d'oestradiol mais également ceux intervenant dans le comportement sexuel, la nutrition, la motricité. On constate que ces sites d'action se situent, le plus souvent, dans les régions marquées par radioautographie.

La fixation nucléaire obtenue témoigne en faveur d'une action de l'hormone au niveau du génome. Le stéroïde affecte vraisemblablement la fonction cellulaire en stimulant la synthèse d'ARN et de protéines. Des effets neuroendocrines et comportementaux produits par les oestrogènes sont inhibés par des agents bloquant la synthèse des protéines. Par exemple, la décharge de LH induite par ces stéroïdes peut être bloquée par l'actinomycine D (JACKSON, 1972, 1973 ; KALRA, 1975). L'oestradiol qui atteint le noyau du neurone, déclenche un signal qui provoque soit une augmentation, soit une diminution de l'activité des gènes. Ainsi, l'hormone est capable d'influencer le fonctionnement de circuits nerveux, préalablement établis au cours du développement, qui contrôlent, par exemple, le comportement sexuel ou la sécrétion gonadotrope.

TROISIEME PARTIE

FIXATION DE PROGESTAGENES ^3H AU NIVEAU DU
SYSTEME NERVEUX CENTRAL, DE L'HYPOPHYSE ET
DU TRACTUS GENITAL CHEZ LE COBAYE ET LE
RAT FEMELLES

I - LES RECEPTEURS DE LA PROGESTERONE DANS LE TRACTUS GENITAL DES RONGEURS

1) Démonstration biochimique de la présence de récepteurs dans le tractus génital de différents rongeurs

La présence de protéines réceptrices spécifiques de la progestérone est clairement démontrée dans l'utérus de plusieurs rongeurs : hamster (LEAVITT et BLAHA, 1972 ; LEAVITT et Coll., 1974), souris (FEIL et Coll., 1972 ; PHILIBERT et RAYNAUD, 1973), rat (MILGROM et BAULIEU, 1970 a ; FEIL et Coll., 1972 ; McGUIRE et BARISO, 1972 ; PHILIBERT et RAYNAUD, 1973), lapin (McGUIRE et BARISO, 1972 ; RAO et Coll., 1973 ; FABER et Coll., 1973 ; PHILIBERT et RAYNAUD, 1974 a ; PHILIBERT et Coll., 1977), cobaye (FALK et BARDIN, 1970 ; MILGROM et Coll., 1970, 1972a ; CORVOL et Coll., 1972 ; PHILIBERT et RAYNAUD, 1974 a ; FREIFELD et Coll., 1974 ; FEIL et BARDIN, 1975).

Dans le cytosol utérin du cobaye, ovariectomisé et soumis aux oestrogènes, existe un système de liaison de la progestérone de haute affinité et de capacité limitée, ayant un coefficient de sédimentation de 6 - 7 S et 4 - 5 S en gradient de saccharose. Ce système de liaison répond aux critères déterminés pour être considéré comme "récepteur" de l'hormone. Présent dans l'utérus (organe cible), il est absent du plasma, du cytosol du rein, de l'intestin et du muscle (organes non cibles). Seuls les progestagènes peuvent entrer en compétition avec les sites de liaison de la progestérone, excluant ainsi le cortisol, la testostérone et l'oestradiol (MILGROM et Coll., 1970).

Dans l'utérus du rat, les recherches sur les récepteurs de la progestérone, principalement quantitatives (VU HAI et MILGROM, 1978 a et b) sont devenues satisfaisantes lors de la découverte d'un composé de synthèse, le R5020, dont nous exposerons les propriétés dans le paragraphe II, 2. Les problèmes rencontrés par différents chercheurs, utilisant de la progestérone naturelle, sont dus au fait que les complexes hormone-récepteur sont très instables (FEIL et Coll., 1972) et à l'existence dans l'utérus du rat d'une globuline liant les corticostéroïdes ("protéine like - CBG") et ayant une grande affinité pour la progestérone (MILGROM et BAULIEU, 1970 a et b).

Il semble établi que l'action d'une hormone sur une cellule cible est modulée non seulement par le taux de l'hormone dans le sang mais aussi par la concentration des récepteurs dans la cellule cible. Les récepteurs utérins de la progestérone sont sous un double contrôle hormonal : un contrôle positif des oestrogènes qui augmente la concentration des récepteurs par un mécanisme nécessitant la synthèse d'ARN et de protéines et un contrôle négatif de la progestérone elle-même qui diminue leur concentration, probablement en rehaussant son taux d'inactivation (MILGROM et Coll., 1973 ; FREIFELD et Coll., 1974 ; LEAVITT et Coll., 1974 ; VU HAI et Coll., 1977). Cette dualité dans la régulation explique les variations observées dans la concentration des récepteurs durant le cycle oestral et la gestation. Ces variations ont été observées pour le récepteur cytosolique chez le cobaye (MILGROM et Coll., 1972b) et pour le récepteur cytosolique et nucléaire chez le rat (VU HAI et Coll., 1978).

2) Variations dans la concentration des récepteurs de la progestérone au cours du cycle oestral et lors de l'implantation chez le cobaye

Chez le cobaye, la constante d'affinité du récepteur pour la progestérone ne change pas durant le cycle oestral mais des variations importantes sont observées dans la concentration des sites

de liaison du récepteur cytosoluble (MILGROM et Coll., 1972b). Celle-ci est maximale en prooestrus (environ 40.000 sites de liaison par cellule) puis diminue progressivement pendant l'oestrus (20.000 sites) et le posteoestrus ou métoestrus (12.000 sites) pour atteindre une valeur 16 fois moindre en dioestrus (fig. 12). Parallèlement des changements dans le coefficient de sédimentation (mesuré en gradient de saccharose) sont constatés : la composante de liaison du récepteur 6 - 7 S est présente pendant le prooestrus, les liaisons 6 - 7 S et 4 - 5 S existent à parties égales en oestrus tandis que la liaison 4 - 5 S prédomine en métoestrus et devient la seule forme détectée en dioestrus.

Il n'est pas possible de différencier les animaux gestants de 3 à 7 jours des animaux non gestants par la concentration et le coefficient de sédimentation des récepteurs de la progestérone (fig. 12). Ainsi l'implantation prend place au moment où la concentration des récepteurs est très basse ce qui laisse supposer que l'implantation est contrôlée par la progestérone sécrétée antérieurement.

II - LES RECEPTEURS DE LA PROGESTERONE DANS LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL ET L'HYPOPHYSE DES RONGEURS

1) Tentatives de mise en évidence des récepteurs dans le système nerveux central et l'hypophyse.

Après injection de progestérone ^3H à différents rongeurs (rat, cobaye, souris, hamster) l'hormone pénètre rapidement dans le cerveau et est retenue dans plusieurs régions à des concentrations supérieures à celles trouvées dans le plasma, mais nettement inférieures à celles mesurées dans l'utérus (LAUMAS et FAROOQ, 1966 ; SEIKI et Coll., 1968, 1969 ; WHALEN et LUTTGE, 1971 a ; WADE et FEDER, 1972 a et b ; LUTTGE et Coll., 1973, 1974 ; WADE et Coll., 1973 ; WHALEN et GORZALKA, 1974). D'après ces résultats, peu de différences apparaissent dans l'accumulation de progestérone ^3H entre l'hypophyse et les différentes régions cérébrales à l'exception d'une concentration

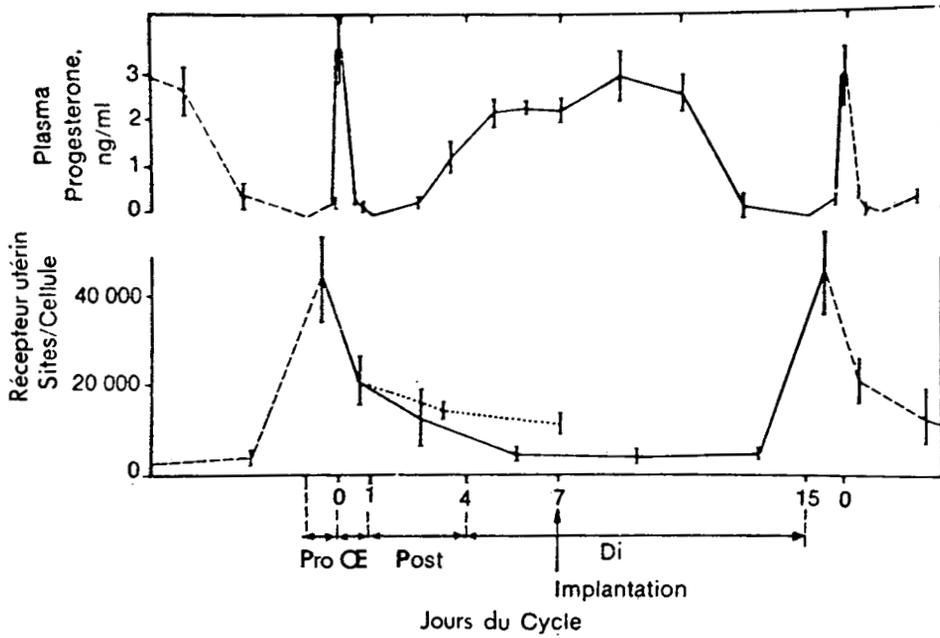


FIGURE 12 : Taux plasmatiques de la progestérone pendant le cycle et concentration, par cellule, du récepteur utérin de la progestérone.

Pro : prooestrus ; OE : oestrus ; Post : postoeustrus ;
 Di : dioestrus ; pointillés : début de gestation
 (d'après MILGROM et Coll., 1972 b).

plus élevée dans certaines aires mésencéphaliques (SEIKI et Coll., 1968, 1969 ; WHALEN et LUTTGE, 1971 a ; WADE et FEDER, 1972 a et b ; LUTTGE et Coll., 1973, 1974 ; WADE et Coll., 1973 ; WHALEN et GORZALKA, 1974) et d'une rétention prolongée de progestérone radioactive dans l'hypophyse et l'éminence médiane (SEIKI et Coll., 1975). Le traitement aux oestrogènes chez les animaux, soit ovariectomisés, soit à la fois surrénalectomisés et ovariectomisés, ne semble pas affecter l'accumulation nerveuse et hypophysaire de progestérone ^3H (WHALEN et LUTTGE, 1971 b ; WADE et FEDER, 1972 a ; WHALEN et GORZALKA, 1974 ; LUTTGE et Coll., 1974). Par contre, WHALEN et LUTTGE (1971 a et b), WHALEN et GORZALKA (1974) rapportent que la surrénalectomie chez le rat provoque une augmentation des taux de radioactivité à la fois dans le plasma et dans le cerveau après injection de progestérone ^3H . Cet effet n'est pas observé chez la souris (LUTTGE et Coll., 1973). Le cerveau du cobaye retient plus fortement l'hormone radioactive que celui du rat (WADE et Coll., 1973).

Les tentatives de mise en évidence des sites de liaison spécifique à capacité limitée pour la progestérone sont nombreuses, mais les résultats obtenus sont très controversés. SEIKI et HATTORI (1973) SEIKI et Coll., (1977) affirment l'existence de récepteurs spécifiques de la progestérone dans la fraction cytosoluble de l'hypothalamus médio-basal et de l'hypophyse chez les rats ovariectomisés soumis aux oestrogènes. De même, IRAMAIN et Coll., (1973) signalent la présence d'une protéine liant la progestérone avec une grande affinité et une capacité élevée dans l'hypophyse antérieure et l'hypothalamus chez le cobaye et le lapin. Une étude radioautographique, effectuée par SAR et STUMPF (1973) montre une fixation nucléaire dans des neurones de l'aire hypophysiotrope chez le cobaye après injection de doses élevées de progestérone ^3H . Néanmoins, ces mêmes auteurs n'observent pas de marquage lors d'expériences similaires chez le rat (STUMPF, 1971 b). Des résultats contradictoires sont également relatés par KATO (1975), McEWEN et Coll., (1976) et McEWEN (1976 b) qui n'obtiennent pas de rétention nucléaire

significative de progestérone ^3H chez le rat ovariectomisé, ou ovariectomisé et surrénalectomisé, soumis aux oestrogènes. Chez le cobaye, WADE et FEDER (1972 a) constatent que le prétraitement à la progestérone froide n'altère pas la concentration de l'hormone radioactive dans les différentes structures cérébrales. ATGER et Coll. (1974) ne réussissent pas à démontrer des sites de liaison de haute affinité pour cette hormone dans le cytosol de l'hypophyse et de l'hypothalamus. Les raisons qui peuvent expliquer les difficultés à identifier les récepteurs de la progestérone sont les suivantes : la présence d'une globuline liant les corticostéroïdes et interférant avec la progestérone, l'instabilité des complexes hormone-récepteur formés, la production importante de métabolites de la progestérone et probablement la petite quantité de récepteurs existants dans ces régions.

2) Découverte d'un composé de synthèse, le R5020 permettant la mise en évidence des récepteurs de la progestérone

Un marqueur spécifique des récepteurs de la progestérone, le R5020 (promégestone) a été synthétisé par PHILIBERT et RAYNAUD (1973, 1974 a et b). Il a l'avantage de ne pas se fixer spécifiquement à la globuline liant les corticostéroïdes du plasma. De plus, le R5020 forme avec le récepteur des progestagènes un composé plus stable, se dissociant plus lentement que la progestérone naturelle (RAYNAUD, 1977). L'analyse en gradient de densité de saccharose de l'extrait cytosoluble utérin incubé avec du R5020 ^3H permet de montrer la présence d'un composé spécifique des progestagènes de 7 - 8 S, identique chez plusieurs espèces : rat, souris (PHILIBERT et RAYNAUD, 1973), lapin, cobaye (PHILIBERT et RAYNAUD, 1974 a) et homme (PHILIBERT et RAYNAUD, 1974 b). Le R5020 ^3H se lie sélectivement au récepteur des progestagènes dans l'utérus, l'hypophyse et l'hypothalamus du rat avec des constantes de dissociation intrinsèques comparables ; mais, le nombre de sites de liaison spécifique varie considérablement selon le tissu cible (MOGUILEWSKY et RAYNAUD, 1977, 1979). Les progestagènes puissants

tels que le norgestrel et la norprogestérone ont un effet compétitif sur la liaison du R5020 ³H tandis que les autres types de stéroïdes (oestradiol, testostérone, aldostérone et dexaméthasone) n'ont que peu ou pas d'effet (RAYNAUD, 1977). Comme la plupart des dérivés pré-gnane, le R5020 est hautement spécifique n'entrant en compétition, presque exclusivement, qu'avec le récepteur des progestagènes.

III - ACTION DE LA PROGESTERONE SUR LA SECRETION GONADOTROPE

La progestérone exerce une influence biphasique à la fois facilitante et inhibitrice sur la décharge des gonadotropines chez la femelle des rongeurs.

1) Influence facilitante

EVERETT (1948) démontre que la progestérone administrée le 3ème jour du dioestrus à des rates ayant un cycle oestral de 5 jours, avance l'ovulation d'environ 24 heures. Comme cet effet est dépendant de la période du cycle, le taux d'oestradiol endogène est un facteur important pour un déclenchement précoce de l'ovulation par la progestérone. L'effet synergique de cette hormone sur l'ovulation est confirmé chez des rates adultes traitées aux oestrogènes pendant une période suffisante (ZEILMAKER, 1966 ; DÖCKE et DÖRNER, 1966).

Parallèlement à l'influence facilitante sur l'ovulation, l'induction de la décharge de LH par la progestérone ne peut s'accomplir qu'après une période adéquate d'imprégnation oestrogénique. La progestérone, donnée à des rates en fin de dioestrus ou en prooestrus (quand les taux d'oestrogènes sont élevés) provoque une augmentation du taux plasmatique de LH, 6 heures après l'injection (NALLER et Coll., 1956). Chez des rates ovariectomisées, traitées aux oestrogènes pendant 2 à 4 jours, elle induit une libération plasmatique de LH au cours des

2 heures suivant son injection (CALIGARIS et Coll., 1971b).

2) Influence inhibitrice

Deux types d'inhibition désignés par les anglo-saxons sous les noms de "concurrent" inhibition et "sequential" inhibition sont observés (FEDER et MARRONE, 1977).

La "concurrent" inhibition que l'on peut nommer inhibition simultanée, se produit avant que le conditionnement aux oestrogènes des tissus nerveux soit terminé et s'accompagne de taux élevés de progestérone dans la circulation. Si la progestérone est administrée à des cobayes (DEMPSEY et Coll., 1936) ou à des rats (EVERETT, 1948) avant que la période de traitement aux oestrogènes soit suffisante, elle va exercer des effets inhibiteurs. Ces derniers se traduisent par un allongement du cycle oestral ce qui laisse supposer un retard dans la cession préovulatoire de LH.

La "sequential" inhibition que l'on peut appeler inhibition consécutive ou résultante se manifeste quand le conditionnement aux oestrogènes est achevé et s'accompagne de taux bas de progestérone endogène. Si, la progestérone chez des rats ovariectomisés, soumis pendant trois jours aux oestrogènes, provoque une rapide augmentation des taux de LH, 24 à 40 heures après son injection, les taux de LH baissent légèrement au-dessous de ceux observés chez les animaux témoins n'ayant pas reçu de progestérone. De plus, durant cette période ces animaux sont réfractaires à une autre dose de progestérone en ce sens qu'ils ne répondent pas par une seconde décharge de LH (CALIGARIS et Coll., 1971b).

IV - ACTION DE LA PROGESTERONE SUR LE COMPORTEMENT SEXUEL

Il est montré expérimentalement que la progestérone exerce également des influences facilitantes et inhibitrices sur le comportement sexuel femelle chez les rongeurs.

1) Influence facilitante

Chez des animaux ovariectomisés, la réceptivité sexuelle peut se manifester si ces animaux sont soumis à une thérapeutique appropriée de remplacement des hormones ovariennes : l'oestradiol et la progestérone. La réceptivité sexuelle est définie par une attitude comportementale particulière de la femelle qui se caractérise, en réponse à une stimulation génitale, par la lordose : courbure anormale à convexité antérieure de la colonne vertébrale (conférer MORALI et BAYER, 1979). La lordose commence environ 2 à 4 heures après une seule injection de progestérone chez des rats (BOLING et BLANDAU, 1939) des souris (RING, 1944) des cobayes (EATON et Coll., 1975) ovariectomisés soumis aux oestrogènes 24 à 48 heures auparavant. La progestérone facilite la lordose du fait aussi qu'elle permet une réduction de la dose d'oestrogène nécessaire à l'induction d'un effet comportemental (WHALEN, 1974). Ces effets facilitants de la progestérone sur le comportement sexuel se retrouvent au cours du cycle oestral chez plusieurs rongeurs. Une brutale augmentation de progestérone plasmatique est enregistrée en début de lordose chez le rat (FEDER et Coll., 1968 b) et le cobaye (FEDER et Coll., 1968 a). Cette élévation du taux de progestérone prend place 24 heures au moins après le déclenchement de la sécrétion d'oestrogènes (NAFTOLIN et Coll., 1972).

Les conclusions de l'ensemble des travaux sur le sujet expriment l'idée que les effets facilitants de la progestérone sur le comportement sexuel femelle des rongeurs dépendent d'un condi-

tionnement préalable de 24 à 48 heures des tissus nerveux par les oestrogènes (SÖDERSTEN et HANSEN, 1977 ; HANSEN et SÖDERSTEN, 1978). Mais, si la progestérone est administrée avant que la durée de l'imprégnation oestrogénique soit suffisante, l'influence inhibitrice de la progestérone s'exerce sous les deux formes préalablement citées (MARRONE et Coll., 1977).

2) Influence inhibitrice

Si l'on soumet des rats (EDWARDS et Coll., 1968) ou des cobayes (GOY et PHOENIX, 1965) ovariectomisés à un traitement simultané, ou presque, d'oestrogène et de progestérone à des doses appropriées, le phénomène de lordose se manifestera peu ou pas chez ces animaux. Cet effet d'inhibition "simultanée" est dépendant de la dose d'hormone. Il se retrouve à certaines périodes de la gestation chez le rat, quand les taux de sécrétion de progestérone sont élevés. Un traitement séquentiel d'oestrogène et de progestérone est alors incapable d'induire la lordose (POWERS et ZUCKER, 1969). Cette inhibition se constate également chez des cobayes normaux à qui l'on donne de l'oestradiol puis de la progestérone. La lordose se produit 36 heures plus tard sauf quand le traitement hormonal débute pendant certaines périodes de la gestation ou pendant deux stades du cycle oestral. L'un de ces stades est la phase lutéale quand des quantités importantes de progestérone sont sécrétées simultanément à l'injection d'oestrogène (GOY et Coll., 1966). L'autre est le postœstrus lorsque la lordose s'est manifestée sous l'influence des propres sécrétions hormonales de l'animal. Il semble que cet état réfractaire du postœstrus soit causé par cette même progestérone qui facilite l'expression de la lordose et qui par la suite, déclenche une période transitoire de non réponse à une stimulation hormonale ultérieure du comportement sexuel (ZUCKER, 1968). Dans ce dernier cas, l'inhibition est "consécutive" ou "résultante" (POWERS et MOREINES, 1976). Ce type d'inhibition peut également s'observer chez des rats (BLAUSTEIN et WADE,

1977) ou de cobayes (ZUCKER, 1968) ovariectomisés, soumis à un traitement séquentiel d'oestrogène et de progestérone. La lordose persiste alors pendant 8 heures mais, à la fin de la période de réceptivité, elle ne peut pas être réinduite par une autre injection de progestérone ou une autre séquence oestrogène-progestérone ; cet état réfractaire dure environ 36 heures.

Une similitude fondamentale apparaît entre ces résultats expérimentaux, qui témoignent de l'influence facilitante et inhibitrice de la progestérone sur la réceptivité sexuelle et ceux précédemment reportés, qui démontrent les mêmes influences sur la sécrétion gonadotrope.

V - PROBLEMES POSES ET OBJECTIFS

La progestérone a donc une influence biphasique à la fois sur la décharge gonadotrope et sur la réceptivité sexuelle femelle. Pour comprendre comment le système nerveux central peut, sous l'action de ce stéroïde, régulariser la réponse hormonale et la réponse comportementale, il est important de déterminer les régions cérébrales qui interviennent dans ces mécanismes de contrôle. Sur ce point, la radioautographie en permettant de localiser *in situ* les cellules cibles à la progestérone, est l'une des techniques susceptibles d'apporter des données essentielles.

L'examen de la bibliographie montre que la libération de LH et le phénomène de lordose se produisent lorsque certaines conditions hormonales sont réunies (soit: oestrogène et progestérone associés selon une séquence appropriée). La topographie des cellules fixant les oestrogènes étant établie, il est intéressant de rechercher ensuite les cellules cibles à la progestérone. Afin de voir si les régions concernées par la fixation de l'oestradiol le sont également par la progestérone, une comparaison de la localisation neuroanatomique

de ces deux catégories cellulaires s'avère nécessaire.

Nos premières recherches entreprises sur ce sujet n'ont pas donné de résultats satisfaisants. Effectuées tout d'abord chez le rat ovariectomisé, après injection de progestérone ^3H , des expériences ont été réalisées ensuite chez le rat ovariectomisé et surrénalectomisé, soumis aux oestrogènes. Ces divers traitements susceptibles d'augmenter le nombre de récepteurs de la progestérone ne nous ont pas permis pour autant d'obtenir un marquage spécifique. De nombreux chercheurs, utilisant des techniques biochimiques éprouvent aussi des difficultés à mettre en évidence les récepteurs de la progestérone chez le rat ; les raisons de ces échecs sont vraisemblablement celles précédemment exposées.

Puis, la présence de récepteurs spécifiques de la progestérone est démontrée dans l'utérus chez le cobaye ovariectomisé soumis aux oestrogènes (MILGROM et Coll., 1970, 1972a). Comme l'utérus est formé de plusieurs types cellulaires et que les techniques biochimiques ne tiennent pas compte de cette hétérogénéité mais caractérisent les récepteurs à partir d'un homogénat de cellules, la question est alors posée de savoir si les différentes populations cellulaires renferment des récepteurs de la progestérone. La radioautographie permet de répondre à cette question. Nous avons donc entrepris l'étude radioautographique de l'utérus du cobaye après injection de progestérone ^3H (WAREMBOURG et MILGROM, 1971 ; WAREMBOURG, 1974). Nous avons vérifié que l'incorporation de radioactivité visualisée par les grains d'argent correspond bien, dans cet organe, à une interaction "hormone-récepteur" spécifique de la progestérone selon les caractéristiques définies dans la première partie de ce travail, soit : la spécificité tissulaire et hormonale et la saturabilité (WAREMBOURG, 1974).

D'après plusieurs auteurs (conférer RASPÉ, 1971) le récepteur est présent dans le cytoplasme où il peut lier l'hormone à 0°C, tandis que le transfert du complexe hormone-récepteur au noyau n'est observé qu'à température plus élevée. Pour vérifier cette hypo-

thèse des expériences *in vitro* d'incubations d'utérus à 0°C et à 37°C ont été tentées (WAREMBOURG, 1974).

Par la suite, les mesures quantitatives du récepteur de la progestérone dans l'utérus chez le cobaye révèlent des variations de la concentration des récepteurs au cours du cycle oestral (Paragraphe I, 2). On peut alors se demander si ces modifications de concentration observées sont dues à des changements moléculaires au niveau de cellules individuelles ou à des variations au niveau d'une population cellulaire. Sur ce point encore, la radioautographie peut apporter la solution, ce qui nous dicte l'objectif suivant : effectuer l'étude radioautographique du tractus génital du cobaye au cours du cycle oestral après injection de progestérone ^3H (WAREMBOURG et MILGROM, 1977 ; VU HAI et Coll., 1977).

Au cours des expériences précédentes, nous avons systématiquement prélevé les cerveaux des cobayes injectés de progestérone ^3H . Après avoir subi la technique radioautographique simultanément au tractus génital, les cerveaux ont été examinés. Hélas, les résultats de nos observations ont été très décevants. SAR et STUMPF (1973) réussissent cependant à détecter des cellules marquées dans l'hypothalamus chez le cobaye ovariectomisé soumis aux oestrogènes, après injection d'une dose massive de progestérone ^3H (soit 10 fois celle que nous utilisons). Afin de confirmer ces résultats, nous avons décidé de reprendre l'étude radioautographique du système nerveux central chez le cobaye après injection d'une forte dose de progestérone ^3H (WAREMBOURG, 1978 a et b).

Récemment, les problèmes rencontrés dans les études sur le récepteur de la progestérone chez le rat, ont été résolus par l'apparition de ce marqueur spécifique, le R5020 ^3H . Ce composé de synthèse, avec les avantages qu'il présente, nous a permis de localiser les cellules cibles aux progestagènes dans le système nerveux central, l'hypophyse et le tractus génital chez le rat ovariectomisé, soumis aux oestrogènes. La double spécificité tissulaire et hormonale et la

capacité relativement faible, critères qui permettent de distinguer la spécificité de la liaison d'une hormone aux récepteurs, ont été mises en évidence (WAREMBOURG, 1978 c et d).

R E S U L T A T S

I - FIXATION AU NIVEAU DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL ET DE L'HYPOPHYSE

1) Etude chez le cobaye après injection de progestérone ³H

L'étude porte sur 5 cobayes Hartley femelles, matures (300-350 g). Les animaux sont ovariectomisés 13 à 21 jours avant l'administration de l'isotope et durant les 5 jours précédant celle-ci, ils reçoivent une dose quotidienne, sous-cutanée, de 10 µg d'oestradiol-17 β dissous dans 0,2 ml d'huile de sésame. Une mCi de progestérone ³H-1, 2, 6, 7 (activité spécifique : 103 Ci/m mole), est injectée aux animaux qui sont tués par décapitation 30 mn après. Cerveaux et hypophysés sont rapidement prélevés. La durée d'exposition des radioautographies est de 140 à 160 jours.

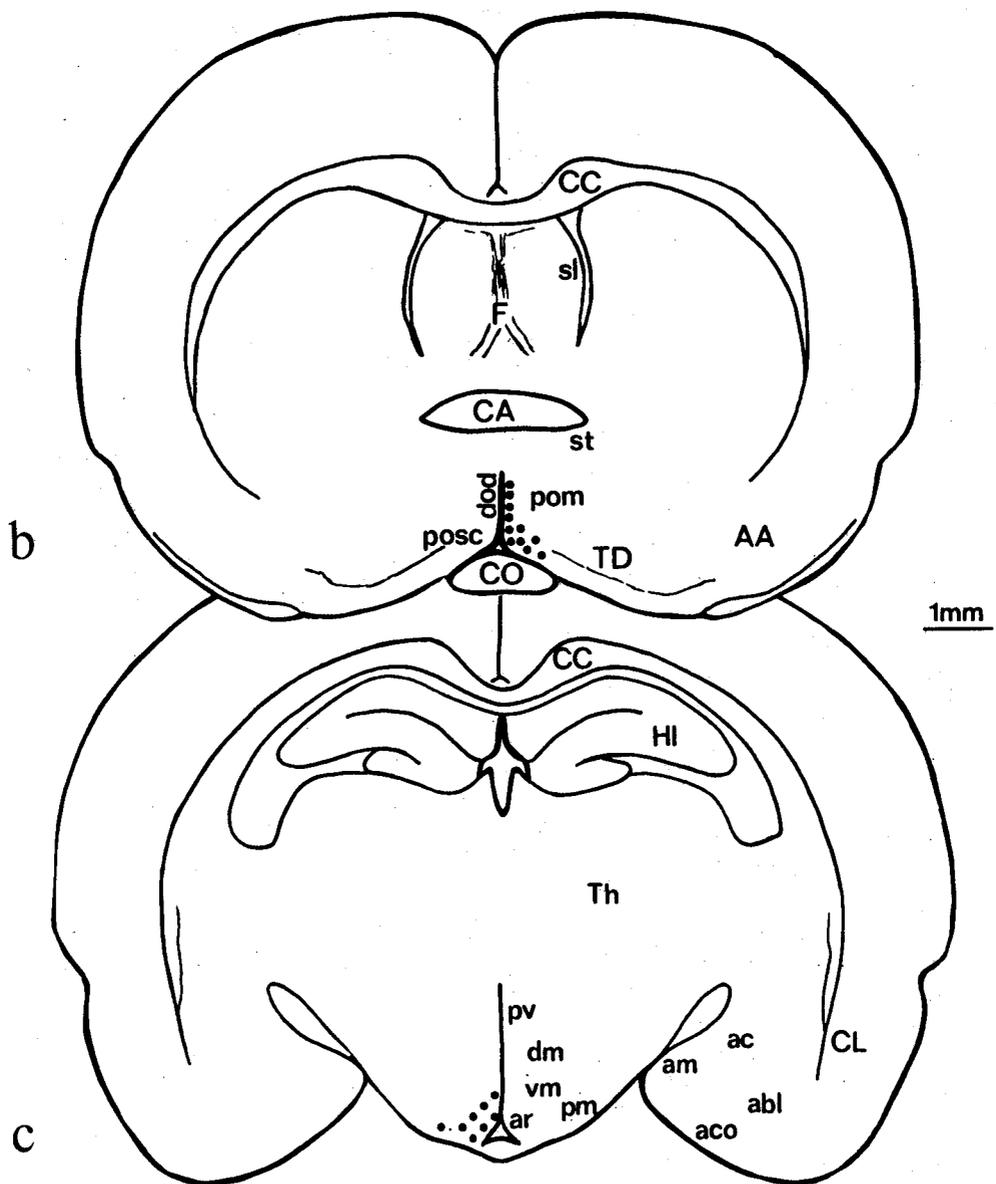
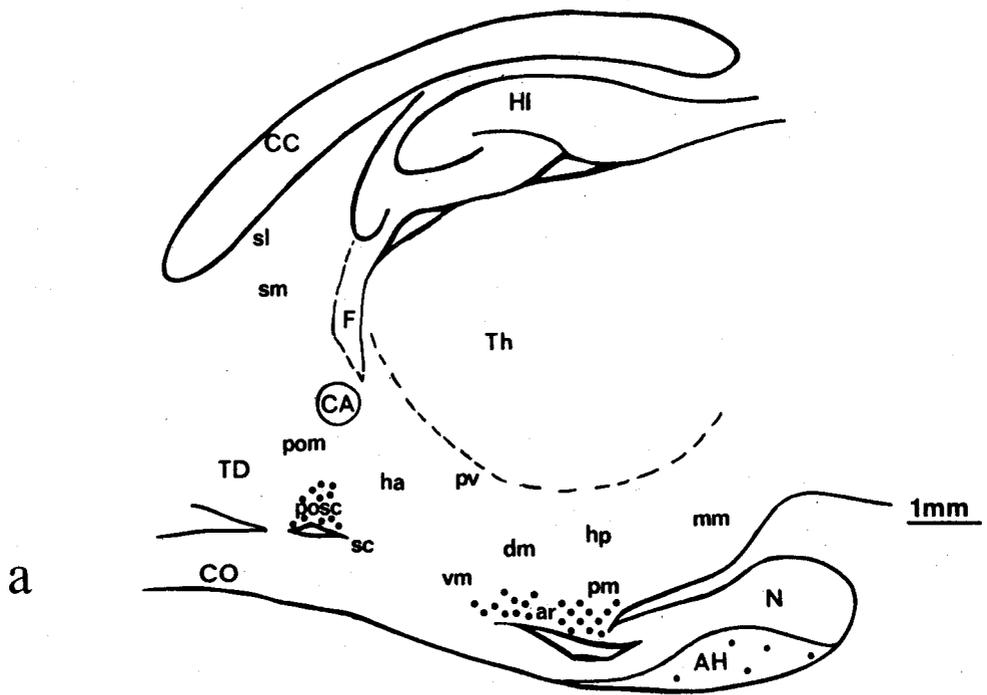
Après l'injection d'une forte dose de progestérone ³H chez le cobaye ovariectomisé, soumis aux oestrogènes, la réaction radioautographique prédomine sur la zone nucléaire de certains neurones. Ces derniers sont localisés dans des noyaux anatomiquement bien individualisés, dans deux régions séparées (fig. 13). Il faut cependant signaler que, suite probablement à la dose massive de traceur utilisé, le bruit de fond sur les radioautographies est relativement important et que des images de marquage non spécifique peuvent être observées.

F I G U R E 13

Distribution des cellules marquées (représentées par des points noirs) dans le cerveau chez le cobaye après injection de progestérone ³H.

a : Coupe sagittale
b et c : Coupes frontales.

AA : aire amygdalienne antérieure - abl : n. amygdalien latéral
aco : n. amygdalien cortical - AH : lobe antérieur de l'hypophyse -
am : n. amygdalien médian - ar : n. arqué - CA : commissure
antérieure - CC : corps calleux - CL : *claustrum* - CO : chiasma
optique - dm : n. dorsomédian - F : *fornix* - ha : aire hypothalamique
antérieure - HI : hippocampe - hp : aire hypothalamique
postérieure - mm : n. mamillaire - N : lobe nerveux de l'hypo-
physe - pm : n. prémamillaire ventral - pom : n. préoptique
médian - pop : n. préoptique périventriculaire - posc : N. pré-
optique partie suprachiasmatique - pv : n. paraventriculaire -
sc : n. suprachiasmatique - sl : n. septal latéral - sm : n.
septal médian - st : n. interstitiel de la strie terminale -
TD : tractus diagonal de Broca - Th : thalamus - vm : n. ventro-
médian.



a) Systeme nerveux central

α) Aire préoptique

Un marquage nucléaire significatif est observé au niveau de l'aire préoptique. Les régions entourant le récessus préoptique : crête supraoptique et partie suprachiasmatique du n. préoptique, renferment le plus grand nombre de neurones marqués (fig. 13 a et b). Ces derniers viennent se confondre avec la bande de cellules marquées du n. préoptique périventriculaire (fig. 13b et fig. 14 a et b) qui bordent le 3ème ventricule. Les autres noyaux des régions septo-préoptique et préoptique ne présentent pas de marquage spécifique.

β) Hypothalamus médio-basal

Des cellules moyennement à fortement marquées sont réparties dans l'ensemble du n. arqué (fig. 13 c et fig. 14 c et d). Elles sont plus nombreuses dans la partie ventro-latérale du noyau et autour du récessus infundibulaire. Quelques neurones légèrement marqués peuvent être occasionnellement observés dans le n. ventromédian et le n. prémamillaire ventral. Les structures antérieures et postérieures de l'hypothalamus ne montrent pas de marquage nucléaire spécifique.

b) Hypophyse

La rétention de radioactivité est plus importante dans le lobe antérieur que dans les lobes nerveux et intermédiaire. La localisation des grains d'argent n'est pas toujours intracellulaire ; ils sont souvent largement dispersés sur la totalité du lobe. Il est difficile de dire si un type cellulaire capte préférentiellement l'hormone marquée et de façon significative.

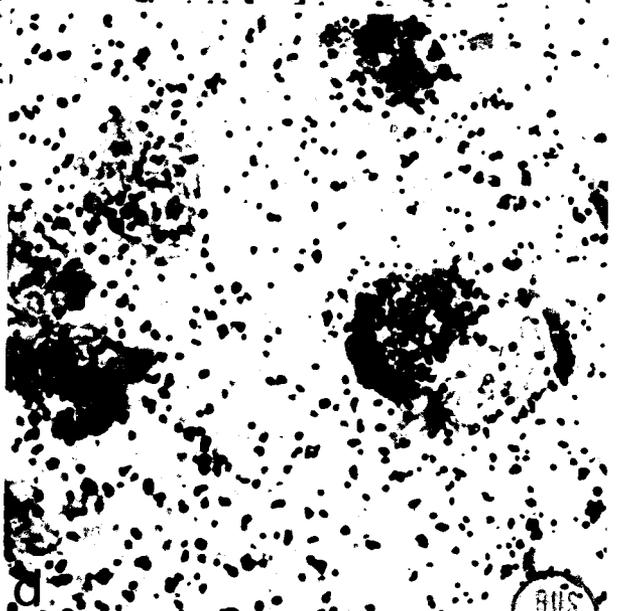
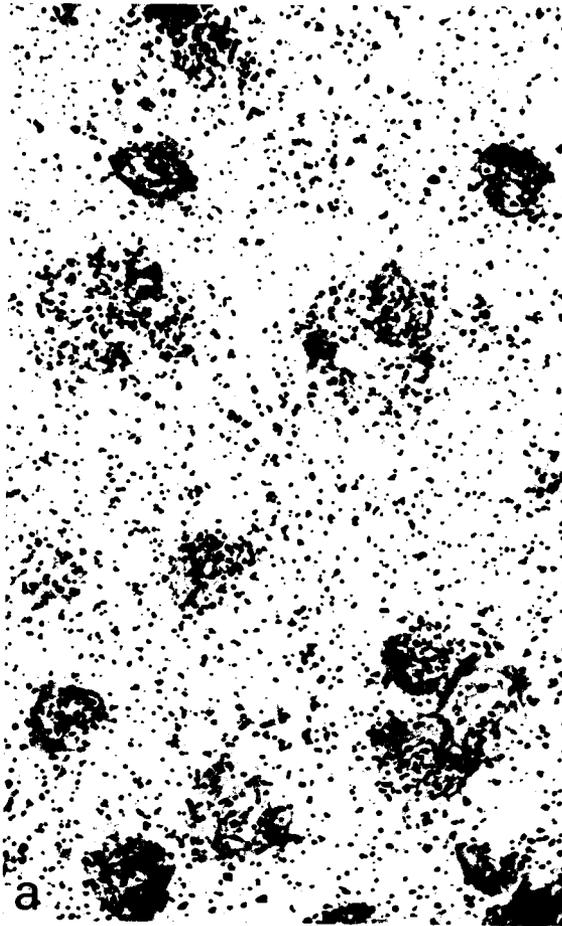
F I G U R E 14

Radioautographies du cerveau chez le cobaye après injection de
progestérone ³H

a et b : Cellules marquées du n. préoptique périventriculaire
(a x 800) (b x 1300).

c et d : Cellules marquées du n. arqué (a x 800) (b x 1300).





BIS
LILLE

2) Etude chez le rat après injection de R5020 ^3H

Dix rats femelles matures Wistar (120-150 g) sont ovariectomisés 7 à 10 jours avant l'expérimentation. Durant les trois jours précédant l'injection de l'hormone marquée, ils reçoivent une dose sous-cutanée quotidienne de 5 μg d'oestradiol dans 0,2 ml d'huile de sésame. Le quatrième jour, 200 μCi de R5020 ^3H (17, 21 - diméthyl - 19 - nor prégnane - 4,9 diène - 3,20 dione - ^3H - 6,7) (activité spécifique : 56,5 Ci/m mole) sont administrés aux animaux. Ce stéroïde nous a été gracieusement fourni par J.P. RAYNAUD (Laboratoires Roussel - Uclaf - Romainville). Six de ces animaux reçoivent en plus 15 mn avant l'injection de l'isotope, par voie sous-cutanée, 3 mg de progestérone non marquée (3 animaux) ou 3 mg de corticostérone non marquée (3 animaux) dans 0,2 ml d'huile de sésame. Ils sont tués par décapitation 30 mn après l'injection du R5020 ^3H . Le cerveau, l'hypophyse, le vagin, l'utérus et un muscle strié de la patte sont rapidement disséqués. Les différentes étapes de la technique radioautographique sont appliquées. Les radioautographies sont exposées 5 à 10 mois. Les schémas et l'identification des structures sont faits selon l'atlas de KÖNIG et KLIPPEL (1963).

Nos observations concernent les régions s'étendant du télencéphale au mésencéphale antérieur. Une distribution similaire des cellules retenant le R5020 ^3H apparaît chez tous les rats examinés. La radioactivité est concentrée dans le noyau de certains neurones appartenant à des régions bien individualisées du système nerveux central. Le bruit de fond observé sur les radioautographies au cours de cette expérimentation est nettement plus faible que celui constaté sur les radioautographies effectuées chez le cobaye après injection de progestérone ^3H .

a) Système nerveux central

α) Régions du télencéphale et du septum

Dans le télencéphale, peu de cellules marquées sont observées à l'exception de quelques neurones dans les régions des îlots de Calléja et du n. du tractus diagonal de Broca (fig. 15 a). Le n. *accumbens* ainsi que les régions du septum ne renferment pas de cellules cibles. Les structures limbiques telles que l'hippocampe, l'amygdale et le cortex ne concentrent pas l'hormone marquée.

β) Aire préoptique

Dans l'aire préoptique, de nombreuses cellules retiennent le traceur. Les plus antérieures s'observent dans la région de l'organe vasculaire de la lame terminale. De nombreuses cellules fortement marquées occupent la partie suprachiasmaticque du n. préoptique, entourant le récessus préoptique (fig. 15 a et b). Elles voisinent avec les cellules fortement marquées du n. préoptique périventriculaire qui s'étend de part et d'autre du 3ème ventricule (fig. 15 b et fig. 16 a). Le n. préoptique médian fournit un contingent important de cellules moyennement marquées. Les cellules de la région dorsale de ce noyau jouxtent les quelques cellules faiblement marquées, dispersées dans la partie postérieure sous-commissurale du n. interstitiel de la strie terminale (fig. 15 a et b). Les n. préoptique latéral, suprachiasmaticque, supraoptique ne révèlent pas de cellules cibles. Par contre, quelques neurones marqués sont éparpillés sur toute l'étendue du n. périventriculaire hypothalamique (fig. 15 c).

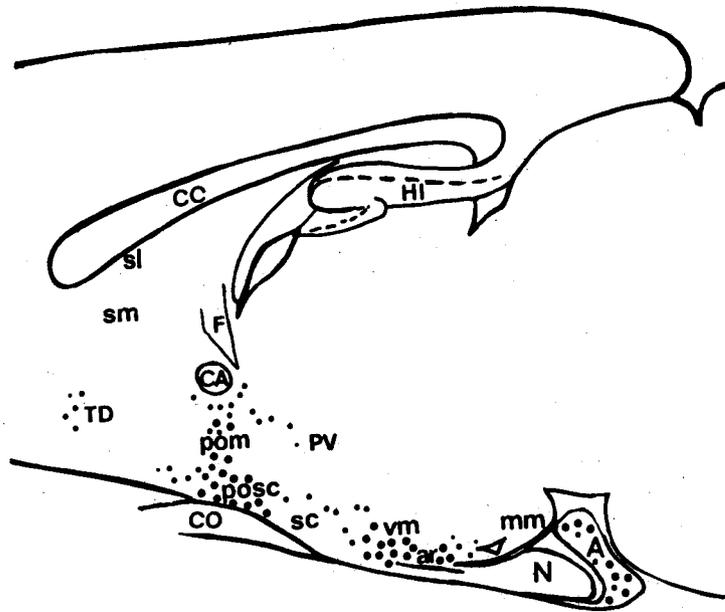
F I G U R E 15

Distribution des cellules marquées (représentées par des points noirs) dans le cerveau chez le rat après injection de R5020 ³H.

a : Coupe sagittale
b, c, d : Coupes frontales.

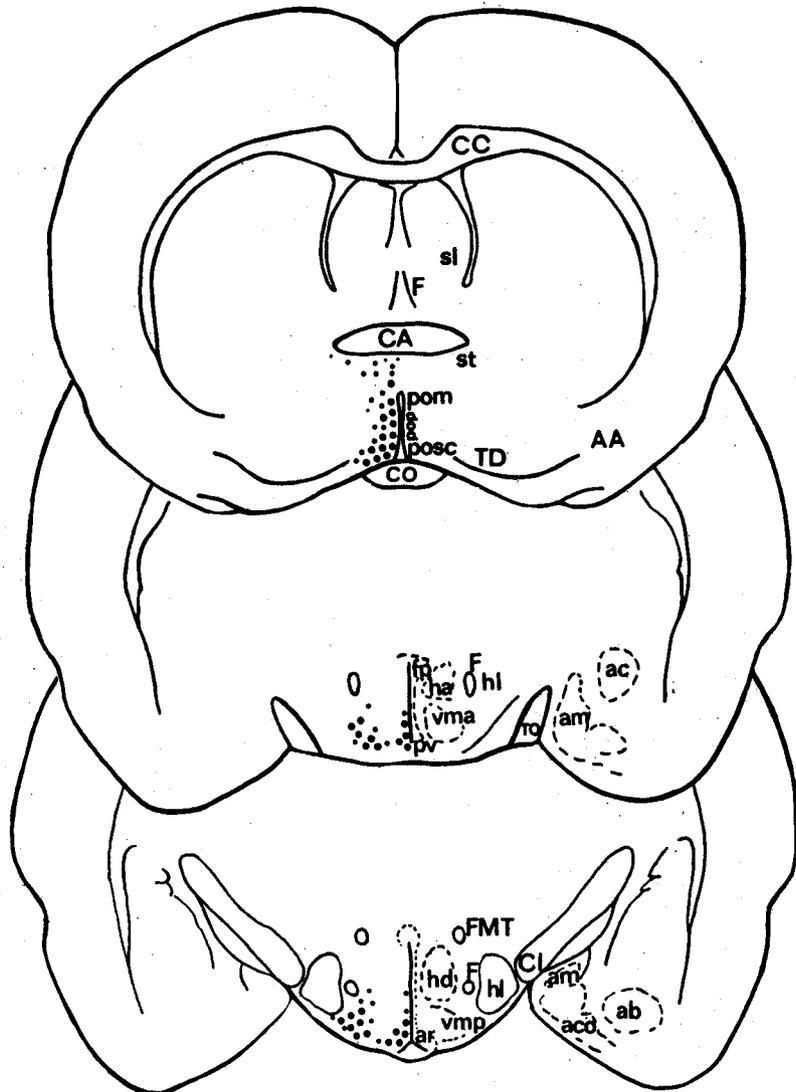
A : lobe antérieur de l'hypophyse - AA : aire amygdalienne antérieure - ab : n. amygdalien basal - ac : n. noyau amygdalien central - aco : n. amygdalien cortical - am : n. amygdalien médian - ar : n. arqué - CA : commissure antérieure - CC : corps calleux - CI : capsule interne - CO : chiasma optique - F : *fornix* - FMT : faisceau mamillo-thalamique - fp ou PV : n. paraventriculaire - ha : aire hypothalamique antérieure - hd : n. dorsomédian - HI : hippocampe - hl : aire hypothalamique latérale - mm : corps mamillaire - N : lobe nerveux de l'hypophyse - pom : aire préoptique médiane - pop : n. préoptique périvericulaire - posc : n. préoptique partie suprachiasmatique - pv : n. périvericulaire hypothalamique - sc : n. suprachiasmatique - sl : n. septal latéral - sm : n. septal médian - st : n. interstitiel de la strie terminale - TD : tractus diagonal - TO : tractus optique - vm : n. ventromédian - vma : n. ventromédian partie antérieure - vmp : n. ventromédian partie postérieure.

a



1mm

b



1mm



γ) Hypothalamus

Le n. ventromédian est la région du système nerveux central et à fortiori de l'hypothalamus où l'on observe la proportion la plus élevée de cellules à marquage maximum (fig. 16 b et c). Ces neurones sont nombreux et groupés dans les parties ventrale et latéro-ventrale de ce noyau et sont disposés de telle façon qu'ils forment une région marquée en forme de croissant s'étendant jusqu'à l'aire sous-for-
nicale (fig. 15 c et d). Le n. arqué présente des cellules marquées sur toute son étendue (fig. 15 a et d) ; les plus fortement marquées sont localisées dans sa région ventrale à proximité du n. ventromédian et autour du récessus infundibulaire (fig. 17 a). En plus des cellules marquées dispersées sur le parcours du n. périventriculaire hypothalamique, quelques neurones peuvent être occasionnellement observés dans le n. paraventriculaire et dans la portion ventro-caudale de l'aire hypothalamique latérale qui vient se confondre avec le n. ventromédian. Dans l'hypothalamus postérieur, le marquage est pratiquement nul, très faible autour du récessus mamillaire et dans le n. prémamillaire. Quant au corps mamillaire il ne retient pas le traceur.

b) Hypophyse

Le lobe antérieur de l'hypophyse retient spécifiquement le traceur tandis que les lobes postérieur et nerveux sont dépourvus de radioactivité (fig. 15 a). Les cellules marquées au niveau nucléaire dans la préhypophyse sont soit isolées, soit par groupes de 2 à 3 et voisinent avec des cellules non marquées (fig. 17 b). On constate que le ou les types cellulaires retenant l'hormone tritiée que nous ne pouvons pas identifier par la coloration au vert de méthyle pyronine possèdent, le plus souvent, un gros noyau.

F I G U R E 16

Radioautographies du cerveau chez le rat après injection de
R5020 ³H.

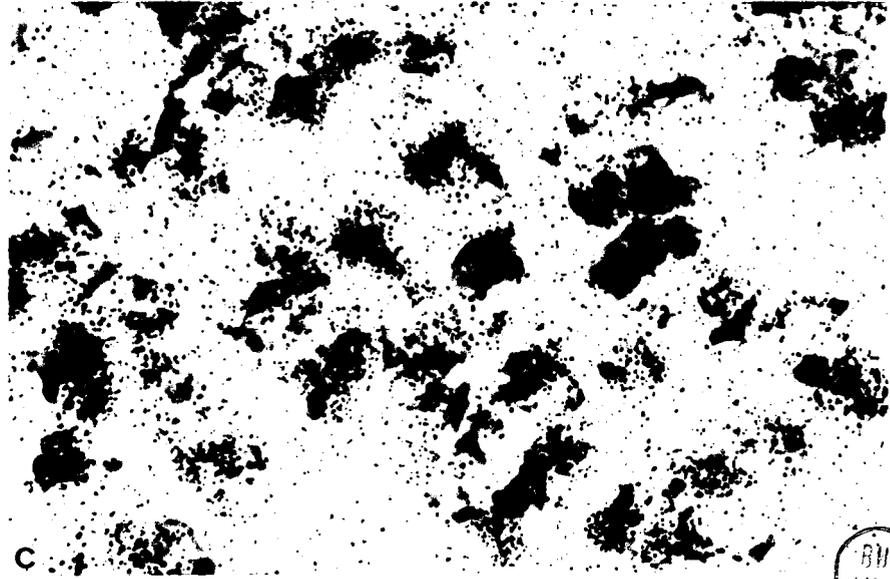
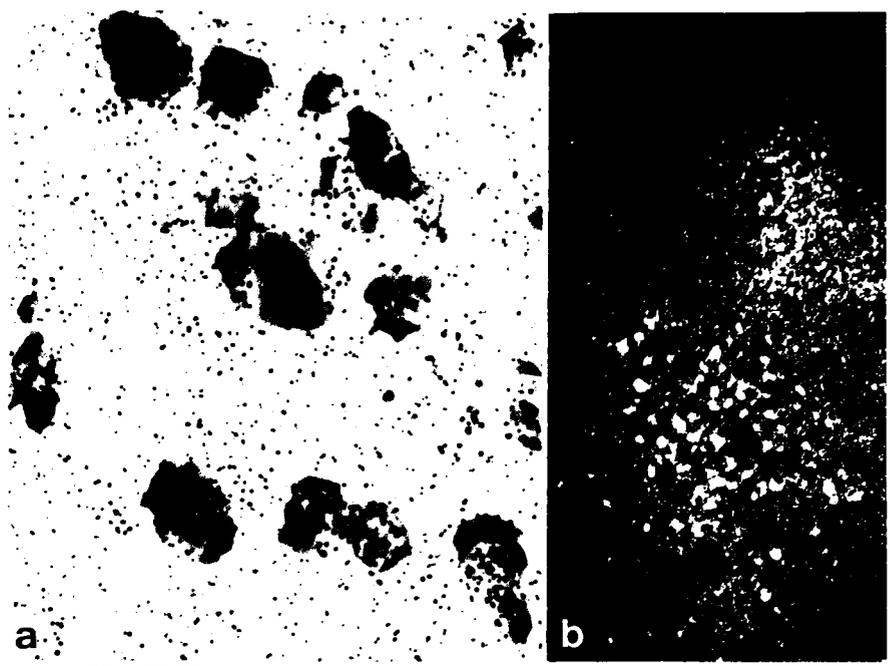
a : Cellules marquées du n. préoptique périventriculaire (G. X 830).

b : Cellules marquées du n. ventromédian, partie latéro-ventrale.
Cette photo a été prise avec éclairage en fond noir : les cel-
lules marquées apparaissent en blanc. (G. X 130).

c : Même région que b agrandie (G. X 830).

Noter le marquage très intense sur ces neurones.





BUS
LILLE

c) Expériences de compétition

α) R5020 ^3H et corticostérone non marquée

Un excès de corticostérone non radioactive injectée 15 minutes avant le R5020 ^3H n'a pas d'effet apparent sur le marquage nucléaire des cellules cibles au R5020 ^3H dans les structures nerveuses (fig. 18 a) et hypophysaires préalablement décrites.

β) R5020 ^3H et progestérone non marquée

Par contre, la présence de progestérone non radioactive injectée 15 minutes avant le R5020 ^3H diminue considérablement la concentration nucléaire de radioactivité dans les cellules cibles du cerveau (fig. 18b) et de l'hypophyse. Les grains d'argent sont alors répartis sur les espaces intercellulaires.

II - FIXATION AU NIVEAU DU TRACTUS GENITAL

1) Etude chez le cobaye ovariectomisé après injection et après incubation avec la progestérone ^3H

L'étude porte sur 30 cobayes Hartley, femelles matures de 300 à 400 g ovariectomisés 10 à 21 jours avant l'expérimentation. Durant les 3 jours précédant celui du sacrifice, les animaux reçoivent par voie sous-cutanée une dose quotidienne d'oestradiol (5 µg) dans 0,2ml d'huile de sésame.

Pour les expériences *in vivo*, 15 animaux reçoivent une injection de 100 µCi de progestérone ^3H -1, 2 (activité spécifique : 33,5 Ci/m mole). Quatre d'entre eux reçoivent simultanément à l'injection du traceur, une injection sous-cutanée de 10 mg de progestérone

F I G U R E 17

(en haut)

Radioautographies du cerveau et de l'hypophyse chez le rat après injection de R5020 ³H

- a : Cellules marquées du n. arqué. * lumière du 3ème ventricule (G. X 810).
- b : Marquage nucléaire des cellules de l'hypophyse antérieure (G. X 1330).

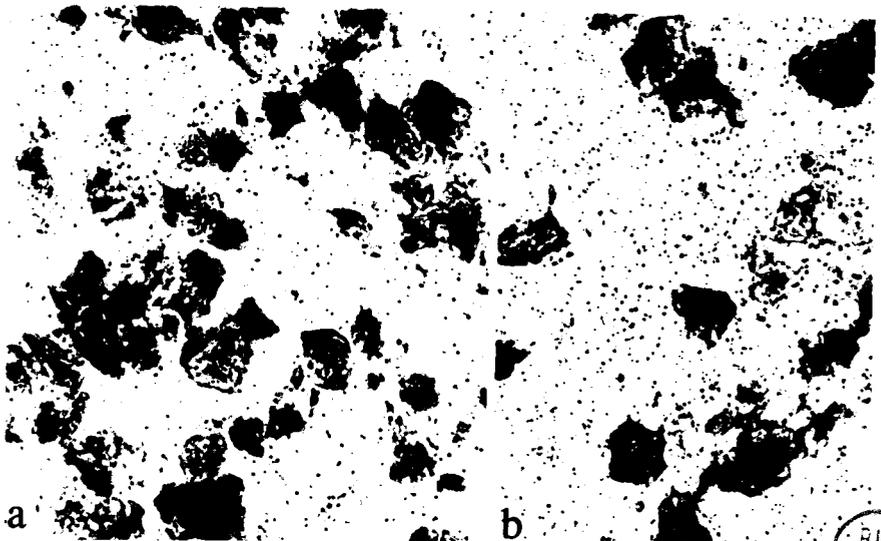
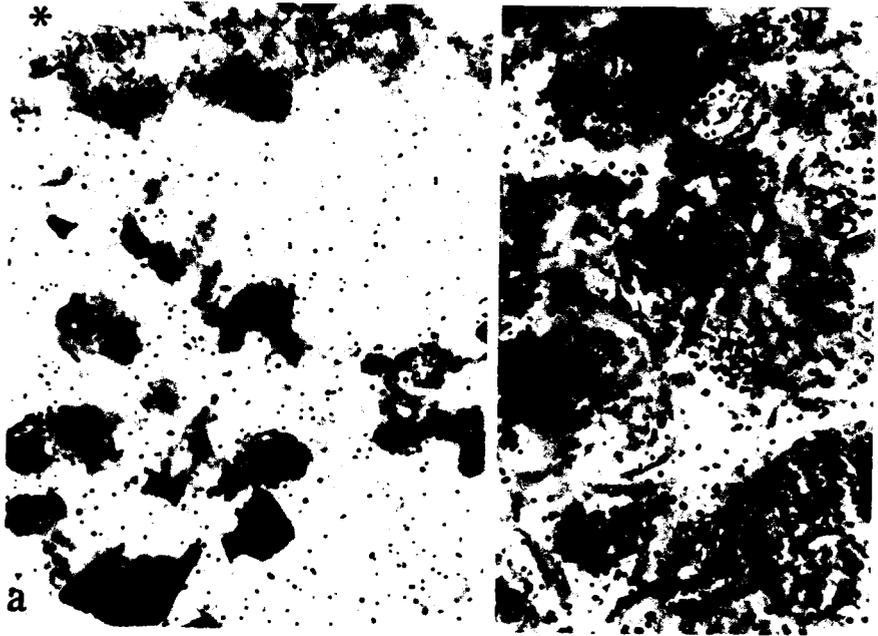
F I G U R E 18

(en bas)

Radioautographies de la région latérale du n. ventromédian (G. X 660).

- a : après injection de R5020 ³H et d'un excès de corticostérone non marquée.
- b : après injection de R5020 ³H et d'un excès de progestérone non marquée.





non marquée et six autres une injection de 25 mg de cortisol non marqué. Trente minutes après ces injections, les animaux sont tués par décapitation. L'utérus (cornes utérines, endocol), un muscle de la patte et l'intestin sont prélevés et congelés.

En ce qui concerne les expériences *in vitro* les cornes utérines de 15 animaux ovariectomisés et soumis aux oestrogènes sont coupées longitudinalement en petites sections de 4 x 5 mm. Chaque section est incubée dans 3 ml de milieu 199 (Laboratoires Difco) contenant la progestérone ^3H (5 nM). Parmi les cornes utérines des 15 animaux, 8 sont incubées pendant 30 mn à 37°C et les 7 autres pendant 1 h à 60°C. Après l'incubation, les sections sont rapidement rincées dans du milieu ne contenant pas d'hormone marquée et sont congelées.

La technique radioautographique est pratiquée sur ces différentes pièces congelées. La durée d'exposition des radioautographies est pour les expériences *in vivo* de 46 à 110 jours et pour les expériences *in vitro* de 74 à 165 jours.

a) Expériences in vivo

α) Après injection de progestérone ^3H

- Cornes utérines et endocol

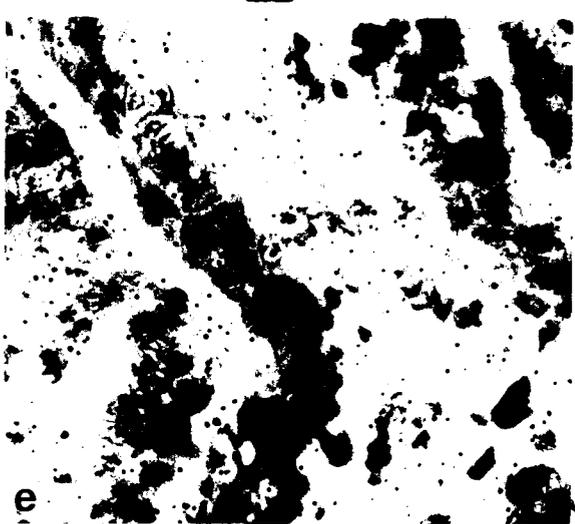
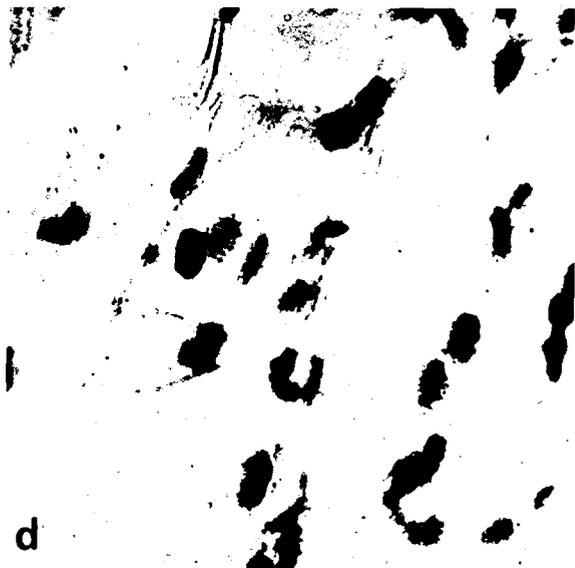
Au niveau des cornes utérines, une importante rétention d'hormone marquée est observée dans l'endomètre et le myomètre. Dans ce dernier, bien que l'ensemble des fibres musculaires concentrent la radioactivité, un marquage plus intense est trouvé sur les fibres musculaires externes. Les grains d'argent sont, le plus souvent, concentrés sur la zone nucléaire de ces fibres (fig. 19 a). Dans l'endomètre, la plupart des petites cellules arrondies du stroma sont marquées (fig. 19 b). Etant donné la petite taille du cytoplasme de ces cellules, il est difficile de dire si la rétention d'hormone se produit au niveau

F I G U R E 19

Radioautographies d'utérus (a - c) et d'organes non cibles (d et e) chez le cobaye après injection de progestérone ^3H .

- a : Myomètre (G. X 650). La flèche indique la concentration des grains d'argent sur le noyau des fibres musculaires.
- b : Cellules marquées du stroma de l'endomètre (G. X 560).
- c : Epithélium de surface de l'endomètre (G. X 560).
La flèche indique la concentration de la radioactivité sur la zone nucléaire des cellules épithéliales.
- d : Muscle strié de la patte (G. X 560).
- e : Intestin (G. X 560). Les grains d'argent sont répartis sur l'ensemble du tissu.





a

c

e



nucléaire. Dans l'épithélium de surface, le marquage est principalement localisé sur la région basale des cellules cylindriques hautes (fig. 19 c) ; il est nettement plus important qu'au niveau des cellules de l'épithélium glandulaire qui capte très peu le traceur. Parmi les différentes régions de l'endomètre, l'importance du marquage se présente donc selon un ordre décroissant, de la façon suivante : cellules du stroma, épithélium de surface, épithélium glandulaire.

L'observation de l'endocol donne des résultats identiques. Pour une même catégorie cellulaire, un marquage similaire à celui des cornes utérines est constaté.

- Organes non cibles : muscle et intestin

Aucune rétention spécifique de progestérone ^3H n'est observée sur le muscle strié de la patte du cobaye (fig. 19 d). Les quelques grains d'argent qui apparaissent par endroits correspondent vraisemblablement à des vaisseaux sanguins qu'il est difficile de visualiser, même en contraste de phase, sur des coupes faites au cryostat.

L'intestin présente un marquage notable (fig. 19 e) mais sans localisation spécifique des grains d'argent sur le noyau ou le cytoplasme des cellules.

β) Expériences de compétition

- Progestérone ^3H et cortisol non marqué

Après injection simultanée de progestérone ^3H et d'un excès de cortisol non marqué, le marquage est similaire en intensité et en localisation à celui précédemment décrit après injection de progestérone ^3H seule, au niveau du myomètre (fig. 20 a) et de l'endomètre (fig. 20 b) des cornes utérines et de l'endocol.

F I G U R E 20

Radioautographies d'utérus chez le cobaye.

a et b : Après injection de progestérone ³H et d'un excès de cortisol non marqué.

a : Myomètre : noyaux marqués des fibres musculaires externes (G. X 560)

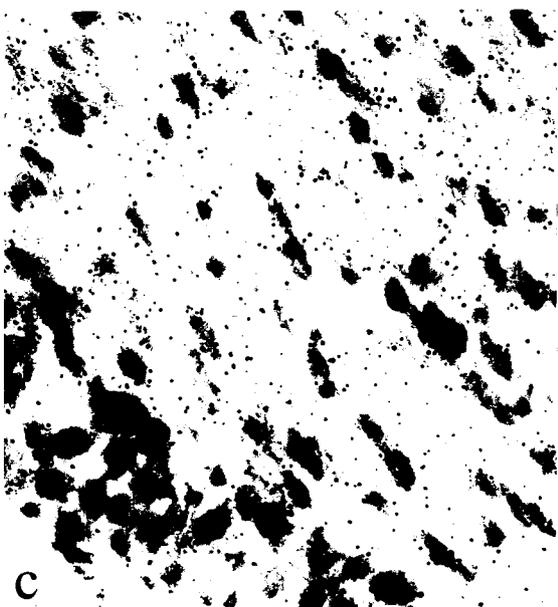
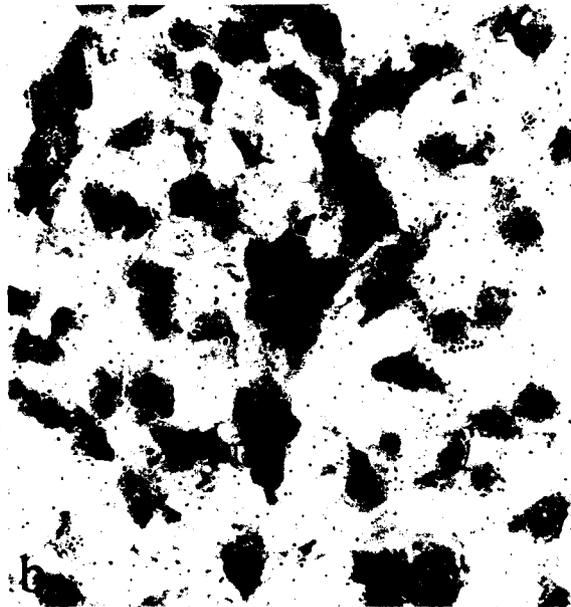
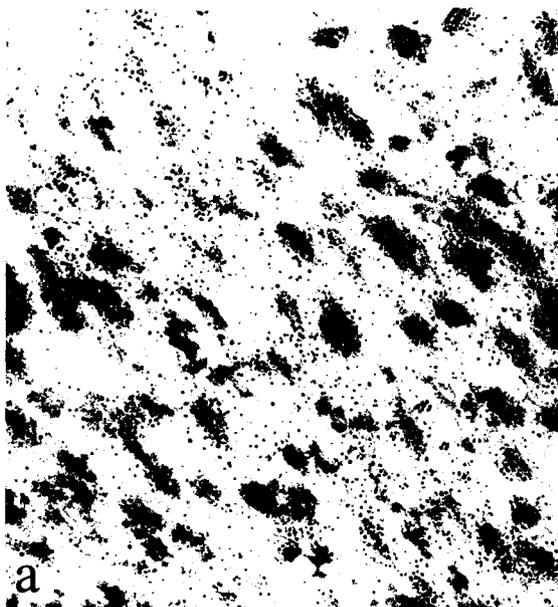
b : Endomètre : cellules marquées du stroma (G. X 560).

c et d : Après injection de progestérone ³H et d'un excès de progestérone non marquée.

c : Myomètre : la plupart des grains d'argent sont localisés à l'extérieur des noyaux des fibres musculaires (G. X 560).

d : Endomètre : les grains d'argent sont situés dans les espaces intercellulaires (G. X 560).





- Progestérone ³H et progestérone non marquée

En présence d'un excès de progestérone non marquée, le marquage est remarquablement diminué au niveau de l'utérus. La plupart des grains d'argent sont localisés en dehors de la zone nucléaire des fibres musculaires du myomètre (fig. 20 c) et à l'extérieur des cellules du stroma de l'endomètre (fig. 20 d).

b) Expériences in vitro : incubations

Après incubation de l'utérus à 0°C, aucune concentration de radioactivité n'est trouvée dans les différentes régions des cornes utérines et de l'endocol.

A 37°C, un léger marquage se rencontre sur les noyaux de quelques cellules de l'épithélium de surface. L'endomètre et le myomètre sont dépourvus de radioactivité.

2) Etude chez le cobaye au cours du cycle oestral après injection de progestérone ³H

Pour cette étude, 25 cobayes Hartley, femelles mures de 300 à 400 g sont utilisés. Les animaux sont suivis quotidiennement par l'examen des frottis vaginaux. Les 25 cobayes qui servent à cette expérimentation sont sélectionnés, parmi d'autres, après avoir observé chez eux au moins 2 cycles normaux. Le cycle oestral est divisé en prooestrus, oestrus, métoestrus, dioestrus I (1 - 4ème jour de fermeture vaginale, dioestrus II (5 - 7ème jour) et dioestrus III (8 - 10ème jour) selon la thèse de LEONARDELLI (1961). Pour chaque période du cycle, le nombre d'animaux est le suivant : 7 en prooestrus, 5 en oestrus, 5 en métoestrus, 5 en dioestrus. De plus, 3 animaux sont ovariectomisés entre le dioestrus I et le dioestrus II (4 au 5ème jour de fermeture vaginale) et sont injectés avec la progestérone ³H 24 heures plus tard.

F I G U R E 21

(en haut)

Localisation de la radioactivité dans les cellules glandulaires et dans les cellules du stroma des cornes utérines après injection de progestérone ^3H (G. X 530).

- a : en prooestrus
- b : en oestrus
- c : en métoestrus
- d : en dioestrus.

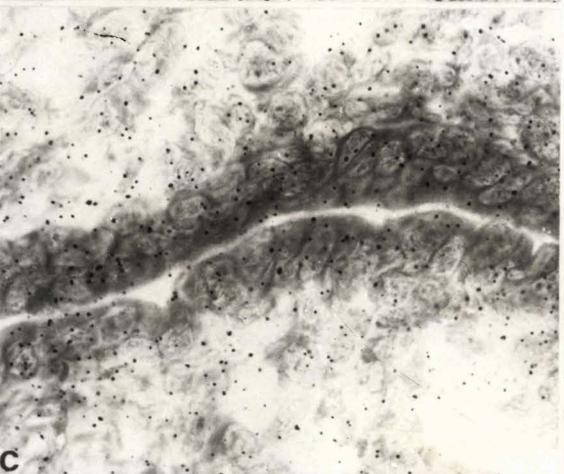
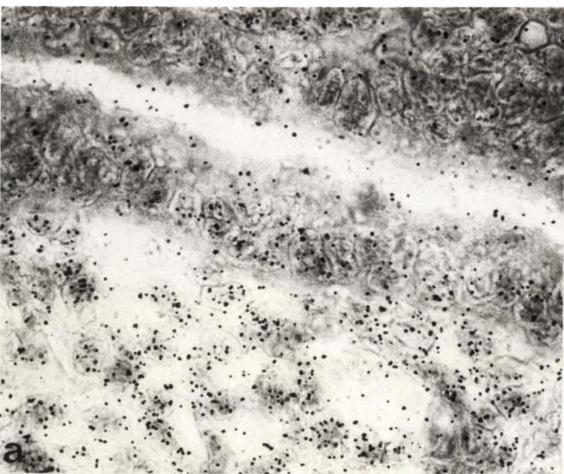
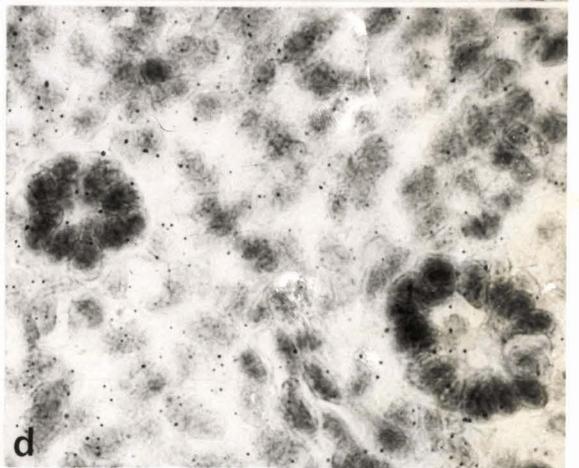
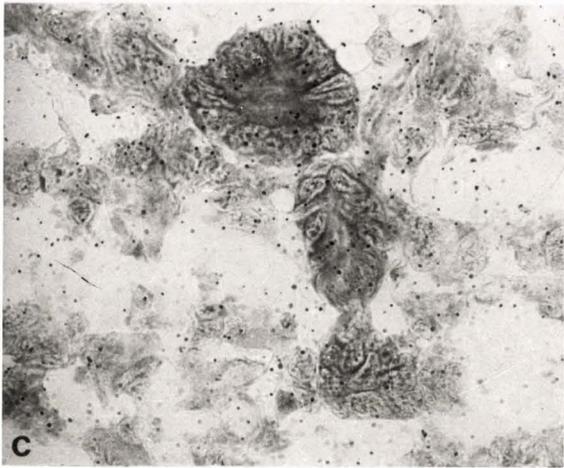
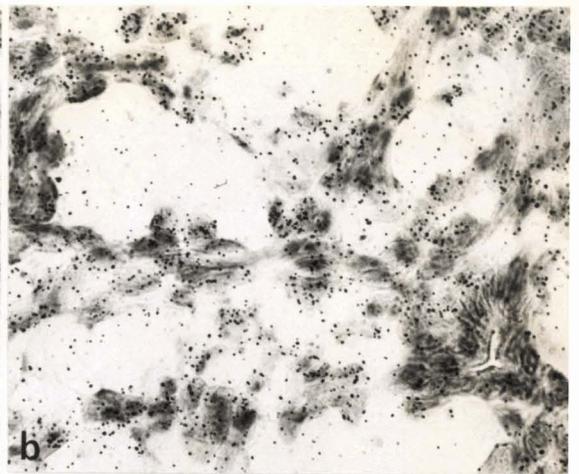
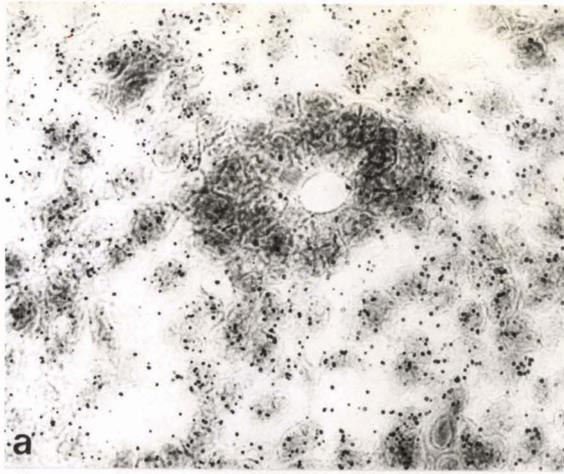
F I G U R E 22

(en bas)

Localisation de la radioactivité dans l'épithélium de surface des cornes utérines (G. X 530).

- a : en prooestrus
- b : en oestrus
- c : en métoestrus
- d : en dioestrus.





Tous les cobayes reçoivent une injection de 100 μ Ci de progestérone ^3H -1,2 (activité spécifique : 33,5 Ci/m mole) et sont tués par décapitation 30 mn après l'injection. Les cornes utérines, l'endocol et le vagin sont prélevés, sectionnés en petites pièces et rapidement congelés. La durée d'exposition des radioautographies est de 150 jours environ. Les comptages de grains d'argent sont faits manuellement sur photographies.

Les différents types cellulaires des cornes utérines, de l'endocol et du vagin sont examinés au cours du cycle oestral après injection de progestérone ^3H . Le tableau II, qui donne le nombre moyen de grains d'argent par cellule dans ces tissus, fournit une estimation relative de l'intensité du marquage.

a) Au cours du cycle oestral après injection de progestérone ^3H

α) Cornes utérines

- Endomètre (fig. 21 et 22)

En prooestrus et en oestrus, un grand nombre de cellules du stroma montrent un marquage intense (fig. 21 a et b). Après comptage, le nombre de grains d'argent sur les cellules épithéliales de surface (fig. 22 a et b) est légèrement supérieur à celui obtenu sur les cellules glandulaires (fig. 21 a et b ; tableau II). En métoestrus, beaucoup moins de matériel radioactif est observé sur les cellules du stroma (fig. 21 c). En dioestrus, quelques grains d'argent très largement dispersés peuvent encore apparaître (fig. 21 d) mais la concentration de radioactivité dans les différentes structures de l'endomètre des cornes utérines est loin d'être comparable à celle trouvée dans les mêmes régions en prooestrus (tableau II).

- Myomètre (non illustré)

Le marquage est très similaire à celui du myomètre de l'endocol décrit ci-après.

F I G U R E 23

(en haut)

Localisation de la radioactivité dans les cellules glandulaires et les cellules du stroma de l'endocol après injection de progesterone ^3H (G. X 530).

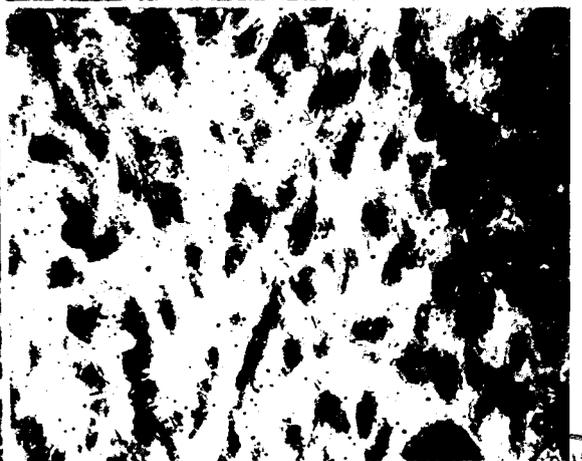
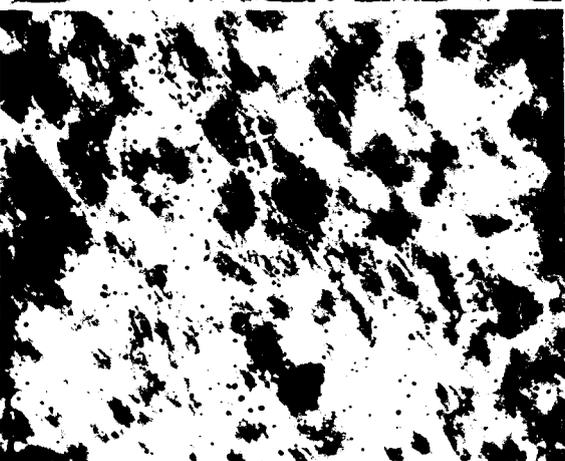
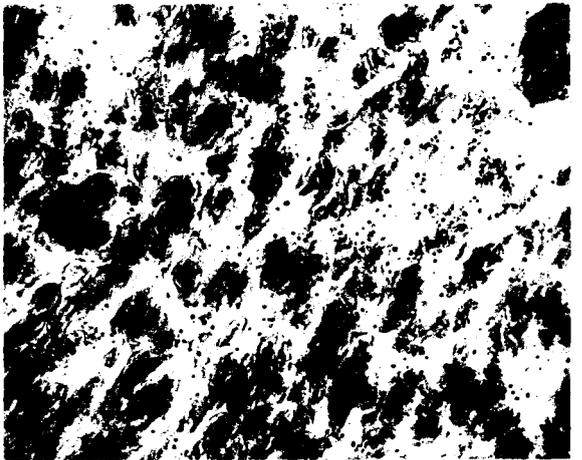
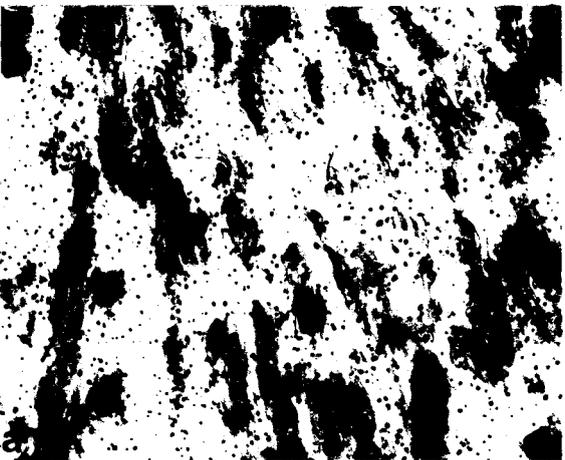
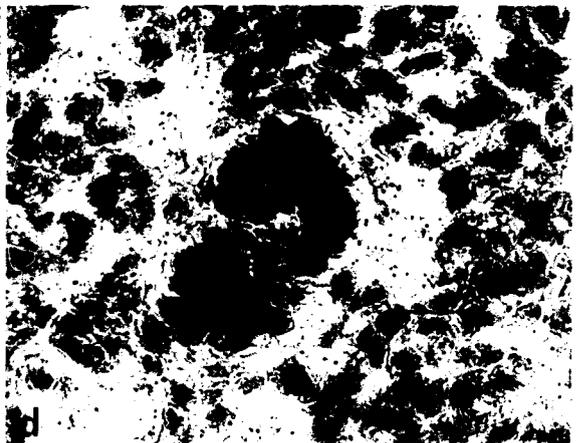
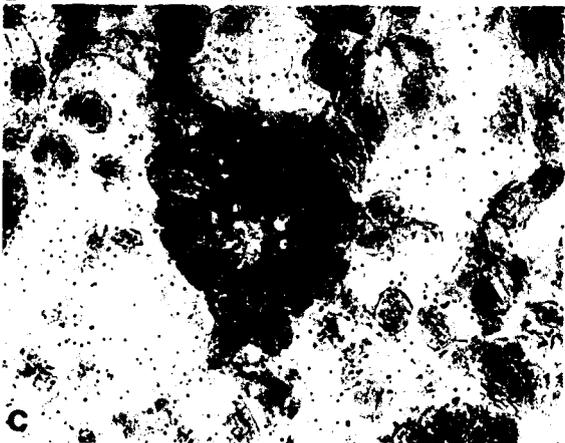
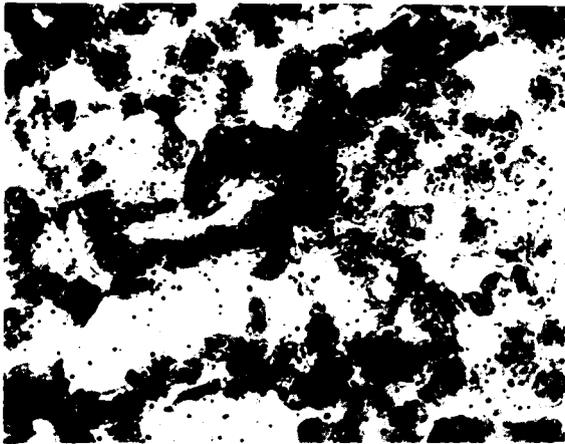
- a : en prooestrus
- b : en oestrus
- c : en métoestrus
- d : en dioestrus.

F I G U R E 24

(en bas)

Localisation de la radioactivité dans les fibres musculaires du myomètre de l'endocol (G. X 530).

- a : en prooestrus
- b : en oestrus
- c : en métoestrus
- d : en dioestrus.



β) Endocol

- Endomètre (fig. 23)

Durant le prooestrus et l'oestrus, la majorité des cellules du stroma manifeste une grande intensité de marquage (fig. 23 a et b). Les épithéliums de surface et glandulaire retiennent nettement moins l'hormone marquée que les cellules du stroma (tableau II). Sur ces dernières, le marquage diminue de façon remarquable en métoestrus. (fig. 23 c). En dioestrus, la rétention de radioactivité est pratiquement inexistante dans les différentes régions de l'endomètre (fig. 23 d).

- Myomètre (fig. 24)

En prooestrus et en oestrus, une proportion importante de fibres musculaires appartenant aux 3 couches du myomètre sont marquées au niveau nucléaire (fig. 24 a et b). En métoestrus, les grains d'argent sont beaucoup moins abondants sur l'ensemble du myomètre (fig. 24 c). Ce dernier ne montre pas de marquage spécifique durant le dioestrus (fig. 24 d) ; les quelques grains existants sont situés à l'extérieur des noyaux des fibres musculaires.

γ) Vagin (fig. 25)

La plus grande concentration de radioactivité dans le vagin est enregistrée durant le prooestrus et l'oestrus, tout particulièrement dans les noyaux de la couche basale de l'épithélium stratifié de type malpighien (fig. 25 a et b). L'intensité du marquage diminue vers la lumière vaginale, les grains d'argent sont absents des cellules superficielles et kératinisées de l'épithélium. Les petites cellules du tissu conjonctif sous épithélial sont moyennement à fortement marquées et les fibres musculaires lisses le sont moyennement à faiblement. Comparativement à l'épithélium, la densité des grains d'argent sur la paroi musculaire est moins importante (tableau II). En

F I G U R E 25

(en haut)

Localisation de la radioactivité dans l'épithélium du vagin après injection de progestérone ^3H (G. X 530).

- a : en prooestrus
- b : en oestrus
- c : en métoestrus
- d : en dioestrus.

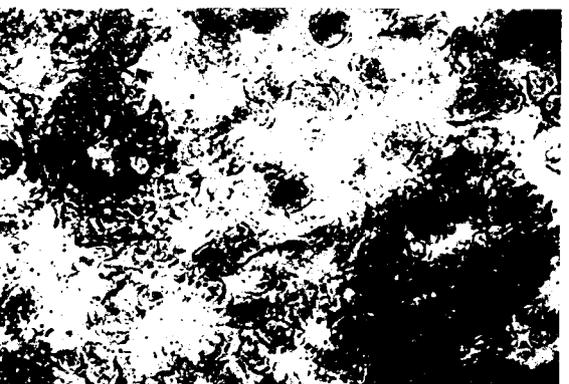
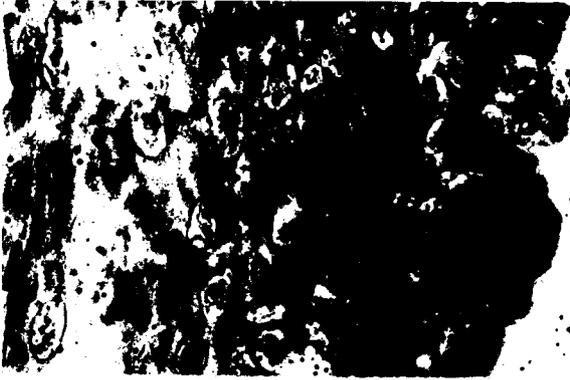
F I G U R E 26

(en bas)

Localisation de la radioactivité après injection de progestérone ^3H 24 heures après l'ovariectomie pratiquée entre le dioestrus I et le dioestrus II (G. X 530).

- a : dans l'endomètre des cornes utérines
- b : dans l'endomètre de l'endocol
- c : dans le myomètre de l'endocol
- d : dans l'épithélium du vagin.





BUS
LILL

métoestrus, la couche basale de l'épithélium retient nettement moins l'hormone marquée (fig. 25 c) et les autres régions sont pratiquement dépourvues de radioactivité. En dioestrus, l'épithélium (fig. 25 d) ainsi que les autres structures restent non marqués (tableau II).

b) Après injection de progestérone ^3H 24 heures après l'ovariectomie pratiquée entre les dioestrus I et II (fig. 26)

Lorsque l'injection de progestérone ^3H est effectuée chez le cobaye ovariectomisé entre le dioestrus I et le dioestrus II, la concentration de radioactivité dans l'utérus et le vagin est pratiquement nulle. L'endomètre (fig. 26 a) et le myomètre des cornes utérines ne présentent pas d'images de marquage spécifique. Il en est de même pour l'endomètre (fig. 26 b) et le myomètre (fig. 26 c) de l'endocol et l'épithélium vaginal (fig. 26 d). La moyenne des grains d'argent sur ces structures est très voisine de celle obtenue chez les animaux non ovariectomisés en dioestrus (tableau II).

3) Etude chez le rat ovariectomisé après injection de R5020 ^3H (promégestone)

Les observations, que nous rapportons ici, sont faites sur le matériel présenté dans le paragraphe I, 2.

Les analyses quantitatives des grains d'argent sont effectuées sur photographies agrandies (G. X 2600), avec l'appareil de mesure MPO/AM 01 Kontron aimablement mis à notre disposition par G. TORPIER (U 167, INSERM LILLE).

F I G U R E 27

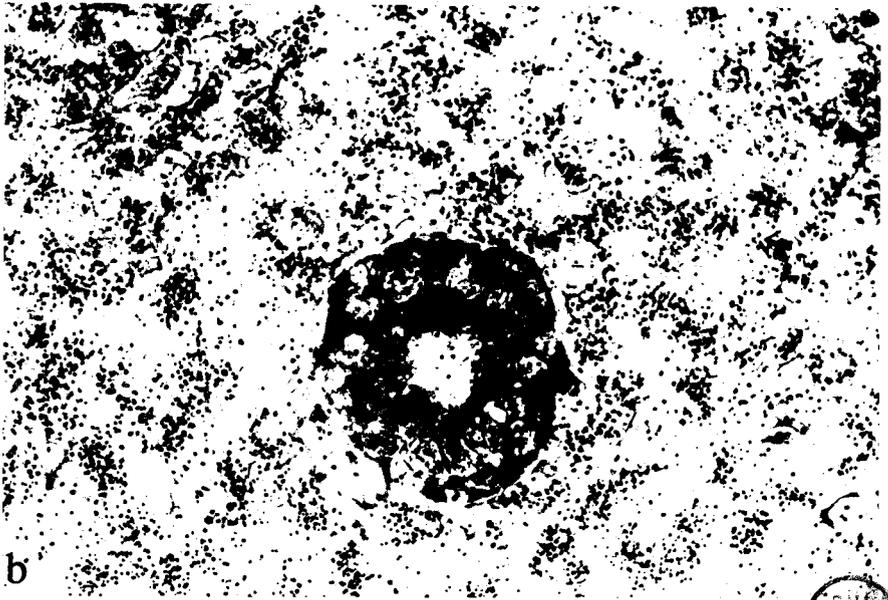
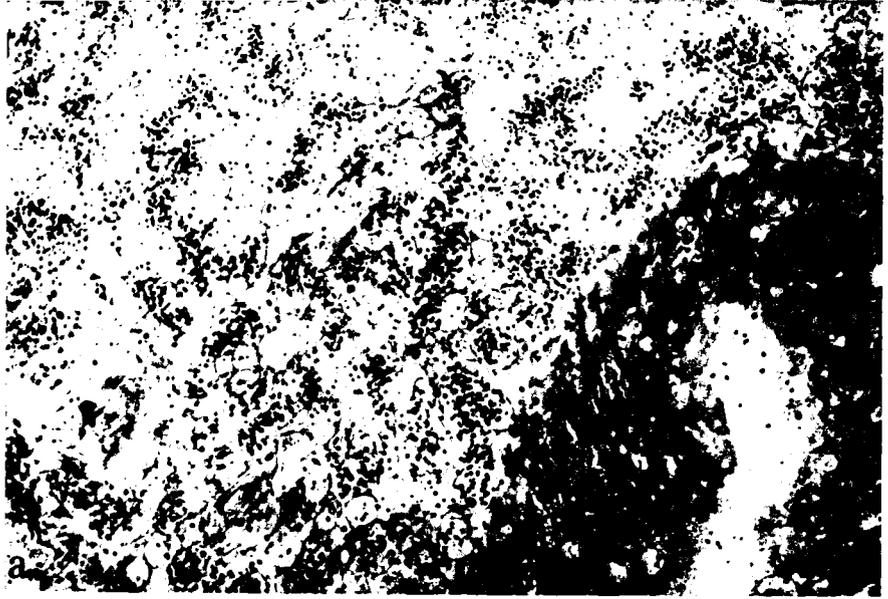
Radioautographies de l'endomètre de l'utérus chez le rat après injection de R5020 ^3H (G. X 660).

a : cellules du stroma et de l'épithélium de surface

b : cellules du stroma et de l'épithélium glandulaire.

On peut noter que les grains d'argent sont nettement moins nombreux sur les cellules épithéliales que sur les cellules du stroma.





b



TABLEAU II : Distribution de la radioactivité dans les différents types cellulaires des cornes utérines, endocol, vagin, après injection de progestérone ^3H à différentes périodes du cycle œstral.

	Types cellulaires	Proœstrus	Œstrus	Métœstrus	Dicœstrus	Dicœstrus après ovariectomie
Cornes utérines	Épithélium de surface	4,90 ± 0,34*	4,48 ± 0,32	2,98 ± 0,18	1,32 ± 0,17	1,24 ± 0,14
	Cellules glandulaires	3,22 ± 0,28	2,8 ± 0,23	1,99 ± 0,18	0,98 ± 0,13	1,22 ± 0,14
	Cellules du stroma	14,74 ± 0,38	12,23 ± 0,45	4,40 ± 0,26	1,84 ± 0,23	1,92 ± 0,20
	Cellules musculaires	10,04 ± 0,47	8,9 ± 0,36	3,10 ± 0,29	1,18 ± 0,16	1,30 ± 0,17
Endocol	Épithélium de surface	4,38 ± 0,25	4,24 ± 0,33	2,06 ± 0,22	1,04 ± 0,14	1,24 ± 0,16
	Cellules glandulaires	3,06 ± 0,27	2,68 ± 0,26	1,94 ± 0,19	1,00 ± 0,15	0,88 ± 0,13
	Cellules du stroma	11,14 ± 0,45	10,92 ± 0,46	3,20 ± 0,32	1,76 ± 0,16	2,80 ± 0,27
	Cellules musculaires	12,44 ± 0,62	8,94 ± 0,41	4,72 ± 0,30	1,84 ± 0,18	2,26 ± 0,17
Vagin	Cellules épithéliales de la couche basale	14,93 ± 0,48	12,14 ± 0,49	1,42 ± 0,20	0,80 ± 0,12	1,08 ± 0,16
	Cellules du chorion	10,38 ± 0,53	9,50 ± 0,45	1,78 ± 0,24	1,00 ± 0,17	1,24 ± 0,18
	Cellules musculaires	6,10 ± 0,36	4,94 ± 0,33	1,74 ± 0,21	0,72 ± 0,13	1,36 ± 0,20

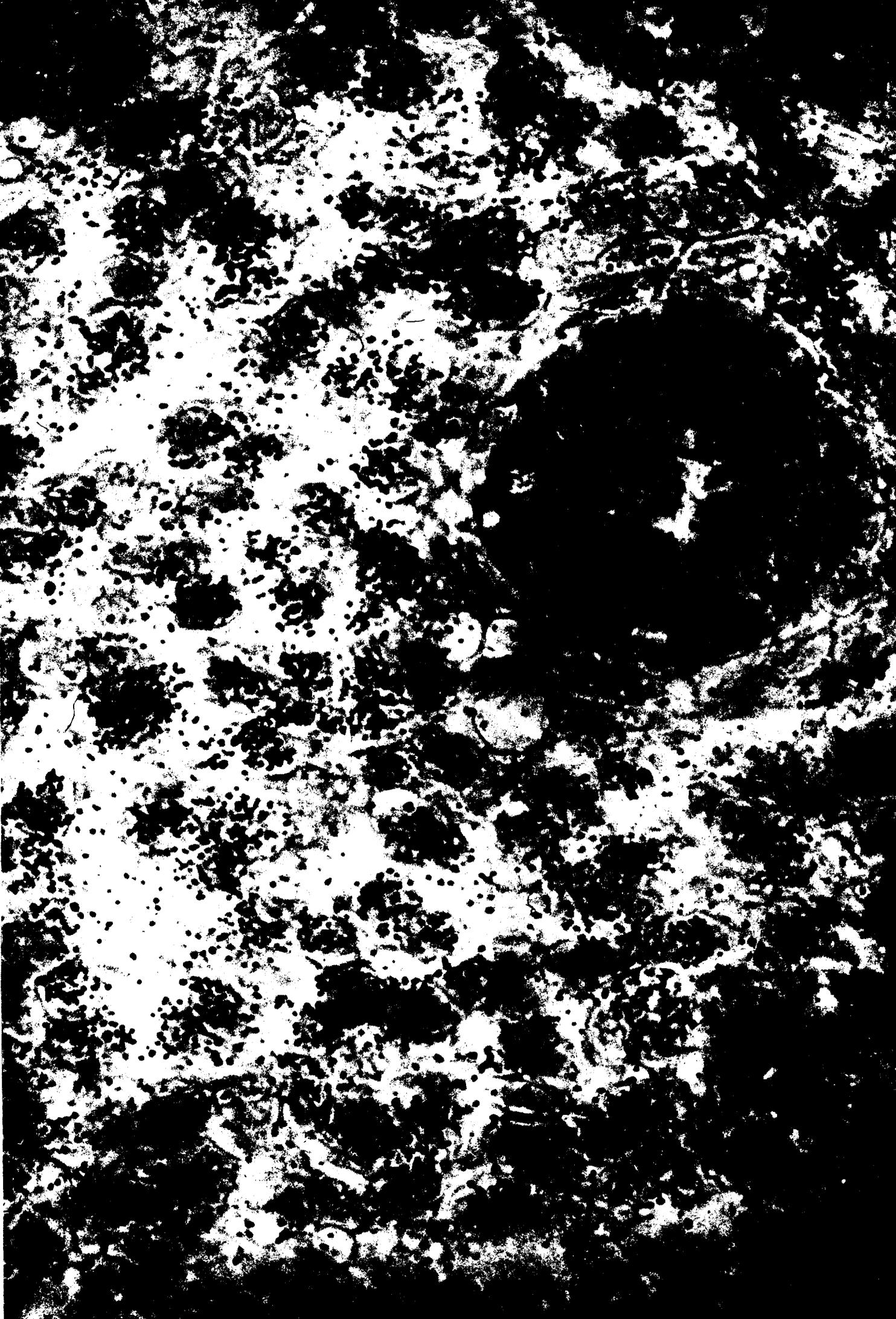
* Chaque valeur est la moyenne des grains d'argent par cellule (50 cellules de chaque catégorie ont été comptées).
Moyenne ± S.E.M.



FIGURE 28

Radioautographie de l'endomètre de l'utérus, chez le rat après injection de R 5020 ³H, montrant les cellules du stroma, les cellules des épithéliums glandulaire et de surface (G. X 1800).





a) Après injection de R5020 ³H

α) Utérus (cornes utérines et endocol)

Une incorporation très élevée d'hormone marquée apparaît dans l'endomètre et le myomètre des cornes utérines et de l'endocol. Au niveau du stroma (fig. 27 a et b, fig. 28) et des fibres musculaires longitudinales externes (fig. 29 et fig. 30a) et circulaires internes, la plupart des cellules sont marquées et la radioactivité est très souvent présente dans le noyau cellulaire. Par contre, un marquage très faible est observé sur le noyau des cellules de l'épithélium de surface (fig. 27 a et fig. 28) et de l'épithélium glandulaire (fig. 27 b et fig. 28) par rapport aux autres types cellulaires (tableau III).

β) Vagin

Une concentration nucléaire de radioactivité est observée dans les cellules des couches inférieures de l'épithélium stratifié de type malpighien, tout particulièrement sur les noyaux cellulaires de la couche basale (fig. 30 b ; tableau III). Le marquage diminue sur les couches supérieures, en direction de la lumière vaginale. La majorité des petites cellules dispersées dans le chorion conjonctif sous-épithélial montrent un marquage de forte intensité (fig. 30 c ; tableau III). L'enveloppe musculaire lisse retient le traceur au niveau nucléaire ; le nombre de grains d'argent sur ces cellules est cependant inférieur à celui relevé sur les cellules musculaires du myomètre (tableau III).

γ) Organe non cible

Aucune accumulation spécifique de R5020 ³H n'a été observée sur le muscle strié squelettique de la patte du rat considéré comme organe non cible pour les progestagènes (non illustré).

FIGURE 29

Radioautographie du myomètre de l'utérus, chez le rat après injection de R5020 ^3H , montrant le marquage nucléaire des fibres musculaires (G. X 1440).





TABLEAU III : Concentration nucléaire de la radioactivité dans les différents types cellulaires de l'utérus et du vagin après injection de $R5020\ ^3H$ à des rats ovariectomisés soumis aux oestrogènes. Effets d'un prétraitement avec de la corticostérone et de la progestérone non marquée.

	Types cellulaires	$R5020\ ^3H$	$R5020\ ^3H$ + corticostérone non radioactive	$R5020\ ^3H$ + progestérone non radioactive
Cornes utérines	Epithélium de surface	0,16 ± 0,04*	0,16 ± 0,05	0,15 ± 0,06
	Cellules glandulaires	0,13 ± 0,04	0,12 ± 0,06	0,10 ± 0,03
	Cellules du stroma	0,77 ± 0,14	0,72 ± 0,12	0,22 ± 0,06
	Cellules musculaires	0,78 ± 0,21	0,71 ± 0,20	0,23 ± 0,06
Vagin	Cellules épithéliales de la couche basale	0,37 ± 0,13	0,36 ± 0,08	0,11 ± 0,03
	Cellules du chorion	0,76 ± 0,16	0,61 ± 0,18	0,13 ± 0,05
	Cellules musculaires	0,56 ± 0,15	0,55 ± 0,14	0,15 ± 0,07

* Chaque valeur est la moyenne des grains d'argent par μ^2 de surface nucléaire ± SD (au moins 30 cellules de chaque catégorie sont comptées). Temps d'exposition des radioautographies : 228 à 235 jours.



F I G U R E 30

Radioautographies du myomètre de l'utérus (a) et du vagin (b et c) chez le rat après injection de R5020 ^3H .

- a : concentration de la radioactivité dans les noyaux des fibres musculaires longitudinales externes (G. X 1330).
- b : Concentration de la radioactivité dans les noyaux de la couche basale de l'épithélium (G. X 660).
- c : Cellules fortement marquées du chorion sous-épithélial (G. X 660).



b) Expériences de compétition

α) R5020 ³H et corticostérone non marquée

Un excès de corticostérone non radioactive injectée 15 mn avant le traceur n'a pas d'effet apparent sur la concentration de R5020 ³H dans les cellules du stroma et des épithéliums de l'endomètre (fig. 31 a) ni sur les fibres musculaires du myomètre (fig. 31 b). Ce prétraitement à la corticostérone ne modifie pas de façon significative la moyenne des grains d'argent par surface nucléaire sur les différentes structures précédemment décrites des cornes utérines, de l'endocol et du vagin. (tableau III).

β) R5020 ³H et progestérone non marquée

La présence de progestérone non radioactive administrée 15 mn avant le R5020 ³H diminue de façon remarquable la concentration nucléaire de radioactivité dans les cellules du stroma de l'endomètre (fig. 31 c) et dans les fibres musculaires du myomètre (fig. 31 d) des cornes utérines et de l'endocol. Cependant le marquage n'est pas totalement inhibé par la dose des 3 mg de progestérone utilisée dans cette expérience. Le prétraitement avec cette hormone froide diminue la densité nucléaire des grains d'argent de 70 à 80 % sur les cellules du stroma de l'endomètre, les cellules musculaires du myomètre de l'utérus et sur les cellules des différentes régions du vagin (tableau III).

FIGURE 31

a et b : Radioautographies d'utérus préparées après injection de R5020 ^3H et d'un excès de corticostérone non radioactive montrant :

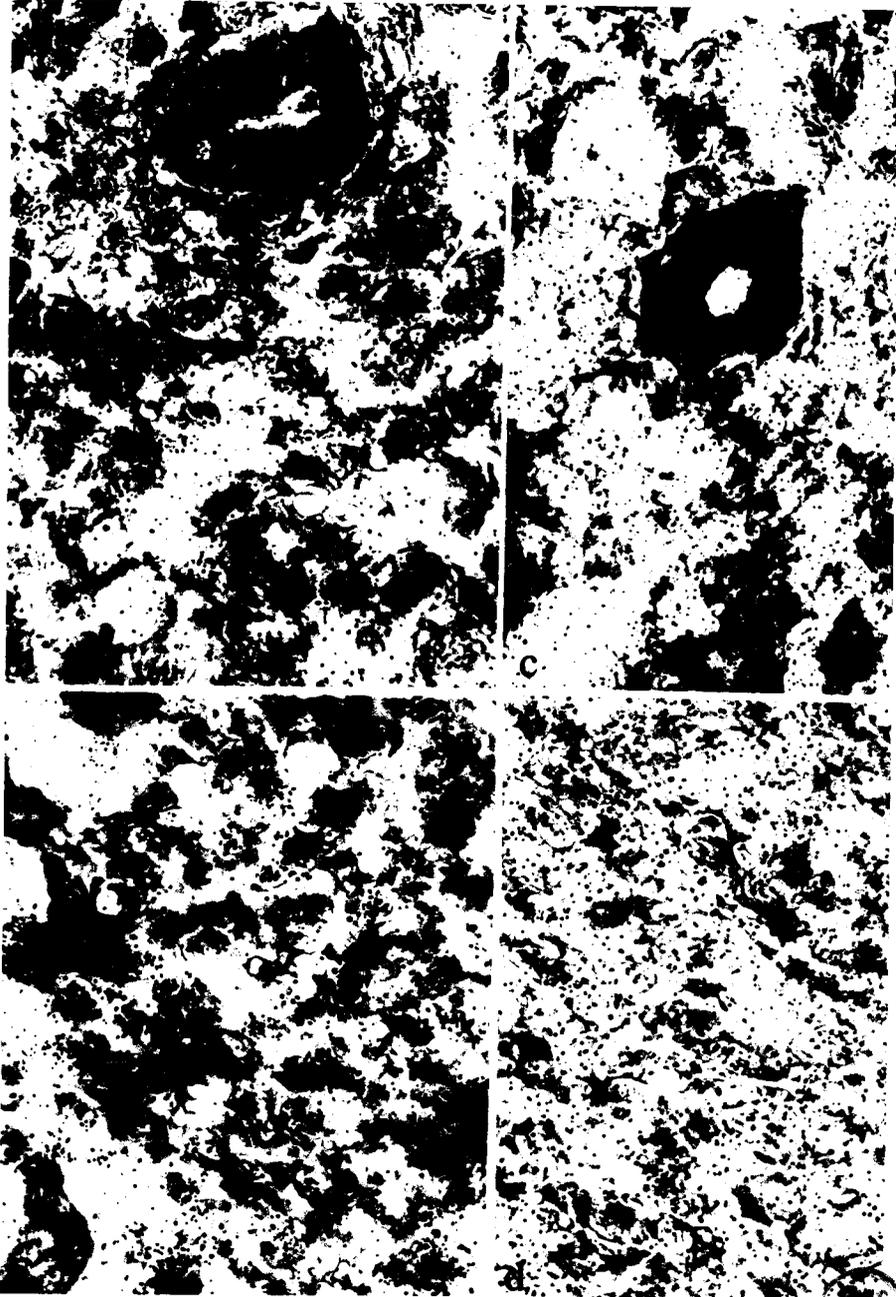
a) les cellules marquées du stroma de l'endomètre (G. X 590).

b) les noyaux marqués des fibres musculaires internes du myomètre (G. X 590).

c et d : Radioautographies des mêmes régions obtenues après injection de R5020 ^3H et d'un excès de progestérone non marquée.

La plupart des grains sont localisés à l'extérieur des cellules du stroma (c) et à l'extérieur des noyaux des fibres musculaires (d) (G. X 590).





1115

D I S C U S S I O N

Des cellules cibles aux progestagènes sont révélées par radioautographie chez le cobaye et le rat aussi bien aux niveaux cérébral et hypophysaire qu'au niveau du tractus génital. Cette mise en évidence est possible chez le rat grâce à un composé de synthèse le R5020 ^3H , marqueur spécifique des récepteurs de la progestérone. Comme le stéroïde peut être métabolisé à son entrée dans la cellule, il est important, avant de discuter nos résultats, de considérer la nature du produit détecté ; ce que nous ferons à partir de données biochimiques tirées de la littérature. Au cours de la discussion, la topographie des cellules oestrogéno-sensibles dans le système nerveux central sera comparée à celle des cellules fixant les progestagènes. Nous tenterons également d'effectuer un rapprochement entre nos résultats et ceux d'ordre biochimique obtenus par d'autres auteurs. Nous envisagerons ensuite le rôle éventuel des régions marquées dans les mécanismes de régulation de la fonction gonadotrope et du comportement sexuel.

I - NATURE DU PRODUIT RESPONSABLE DE LA REACTION RADIOAUTOGRAPHIQUE

1) Après injection de progestérone ^3H

WADE et FEDER (1972a) montrent que chez le cobaye, 4 heures après l'injection de progestérone ^3H , 60 à 70 % de la radioactivité présente dans l'hypothalamus et le mésencéphale et 90 % de la radioactivité dans l'utérus correspondent à de la progestérone non métabolisée. Ce pourcentage dans l'utérus rejoint d'ailleurs celui obtenu auparavant par FALK et BARDIN (1970). En fonction de ces résultats, la réaction radioautographique visualisée par les grains d'argent semble due dans l'utérus en grande partie à la progestérone ^3H injectée. Par contre, dans l'hypothalamus et le mésencéphale, le marquage peut

être attribué à une proportion plus importante de métabolites.

Si l'on compare l'analyse de la radioactivité détectée chez le cobaye avec celle trouvée dans les mêmes régions cibles chez le rat, des différences frappantes apparaissent. Quatre heures après l'injection de progestérone ^3H chez le rat, 25 à 30 % seulement de la radioactivité retenue dans le cerveau présentent la mobilité du traceur injecté (WADE et Coll., 1973). CHENG et KARAVOLAS (1973) démontrent que la progestérone est métabolisée en différents composés stéroïdiens, en particulier en 5 α -dihydroprogestérone et en 3 α -hydroxy-5 α -prégnan-20-one, dans les tissus nerveux et l'hypophyse. Plusieurs auteurs ont d'ailleurs cherché à déterminer si la progestérone était effectivement le progestagène actif au niveau de cet organe cible ou si, un de ses métabolites était l'agent responsable dans son action sur la régulation gonadotrope, le comportement sexuel et les autres fonctions nerveuses influencées par cette hormone (KARAVOLAS et NUTI, 1976 ; KUBLI-GARFIAS et WHALEN, 1977).

2) Après injection de R5020 ^3H

Le R5020 est peu métabolisé *in vitro* (RAYNAUD, 1977). L'analyse de la région 7 S de liaison du progestagène radioactif dans le cytosol de l'hypothalamus ou de l'hypophyse du rat incubé avec ce marqueur tritié, révèle que 82 % de la radioactivité appartiennent à du R5020 ^3H inchangé (KATO et Coll., 1978).

Les informations concernant le métabolisme de ce progestagène *in vivo* sont jusqu'à présent peu nombreuses. MOGUILEWSKY et RAYNAUD (1977) signalent que dans la fraction nucléaire de l'homogénat des différents organes cibles (utérus, hypothalamus, hypophyse) 60 mn après l'injection de R5020 ^3H chez le rat, au moins 50 % de la radioactivité correspondent à du R5020 ^3H non métabolisé.

Bien que les arguments qui viennent d'être évoqués plaident en faveur d'un métabolisme peu intense du R5020, le manque de données ne nous permet pas d'évaluer avec précision, la part du marquage attribuable à ce composé sous sa forme initiale sur les radioautographies.

II - DISCUSSION DE NOS RESULTATS CONCERNANT LA DETECTION RADIOAUTOGRAPHIQUE DES RECEPTEURS DE LA PROGESTERONE

1) Au niveau du tractus génital

a) Mise en évidence des récepteurs chez le cobaye et le rat

La localisation du tritium dans l'étude radioautographique de l'utérus, après injection de progestérone ^3H chez le cobaye ovariectomisé soumis aux oestrogènes, justifie les caractéristiques préalablement décrites (1ère partie, paragraphe IV,1-4) inhérentes à une interaction spécifique hormone-récepteur. L'hormone marquée est principalement décelée dans le noyau cellulaire et n'est pas détectée dans les organes non cibles (muscle, intestin). Le marquage est saturable puisqu'il est inhibé par un excès de progestérone non radioactive et il est spécifique de l'hormone puisque le cortisol n'a pas d'effet. Les récepteurs de la progestérone sont présents dans tous les types cellulaires du myomètre et de l'endomètre. Cependant, les cellules de la couche externe du myomètre et du stroma de l'endomètre sont plus fortement marquées que les cellules des épithéliums glandulaire et de surface. Ces résultats radioautographiques sont vérifiés par ceux de SAR et STUMPF (1974).

Une similitude évidente apparaît entre la distribution anatomique des cellules marquées chez le cobaye, après injection de la progestérone naturelle ^3H et celle observée chez le rat, après injection du composé de synthèse le R5020 ^3H . La différence d'intensité

dans le marquage des types cellulaires est moins prononcée chez le cobaye que chez le rat. Chez ce dernier, le myomètre et le stroma de l'endomètre présentent également un marquage très important tandis que très peu ou pas de radioactivité est visible sur le noyau des cellules épithéliales. Dans le vagin, les différents types cellulaires retiennent le traceur. Le prétraitement à la progestérone non marquée, compétiteur du R5020, abolit considérablement le marquage nucléaire dans toutes les cellules utérines et vaginales tandis que la corticostérone n'interfère pas avec la fixation du R5020 ³H. L'absence de radioactivité est vérifiée au niveau du muscle strié. Ces observations apportent la preuve de la présence de sites de liaison spécifique de la progestérone dans le tractus génital chez le rat. La distribution de la radioactivité concorde avec celle rapportée chez le même animal par JOHN et ROGERS (1972). Ces auteurs obtiennent une densité de grains d'argent plus faible sur les tissus épithéliaux que sur le stroma ou le muscle après injection d'un autre composé de synthèse, l'acétate de mégestrol ³H.

Dans les expériences d'incubations d'utérus chez le cobaye, un léger marquage nucléaire est observé à 37°C sur les cellules en périphérie du tissu mais aucune pénétration d'hormone n'est décelée à 0°C. Afin d'expliquer ces résultats peu concluants, plusieurs arguments peuvent être évoqués :

- l'hormone n'a pas pénétré dans les cellules à 0°C,
- les fragments d'utérus mis en incubation ont été trop volumineux,
- les temps d'exposition des radioautographies ont été trop courts.

Nous n'apportons donc pas d'éléments déterminants permettant de vérifier l'hypothèse selon laquelle le récepteur est présent dans le cytoplasme où il peut lier l'hormone à 0°C tandis que le transfert du complexe hormone-récepteur n'est visible qu'à température plus élevée.

b) Variations quantitatives des récepteurs au cours du cycle oestral chez le cobaye

Le taux des récepteurs de la progestérone évolue au cours du cycle oestral avec un pic de concentration rapidement développé au moment du prooestrus (paragraphe : I, 2). Cette valeur maximale ne dure pas très longtemps ; une décroissance lui fait suite et la concentration reste très basse pendant la période lutéale. La radioautographie a permis d'étudier les populations cellulaires qui sont impliquées dans ces variations.

Un marquage intense est observé en prooestrus et en oestrus sur les différents types cellulaires des cornes utérines, de l'endocol et du vagin (tableau II). En métoestrus et en dioestrus, la proportion de grains d'argent sur les cellules de ces différents organes est nettement moindre. Cela peut être dû à une diminution des sites de liaison ou à l'occupation de ces sites par l'hormone endogène. Si cette dernière hypothèse devait s'avérer exacte, l'ovariectomie chez des cobayes en dioestrus, suivie par l'injection de progestérone ^3H 24 heures plus tard, devrait provoquer une rétention de radioactivité importante dans les tissus cibles. Lorsque cette expérience est pratiquée, le résultat obtenu va à l'encontre de cette hypothèse (fig. 26, a - d). La concentration de radioactivité dans l'utérus et le vagin n'est pas supérieure à celle trouvée chez les animaux non ovariectomisés en dioestrus (tableau II).

La diminution du marquage dans ces tissus cibles est vraisemblablement due à une décroissance de la concentration des sites de liaison. Nos observations confirment les résultats obtenus par les techniques biochimiques (MILGROM et Coll., 1972 b).

On pouvait supposer que les changements du contenu en récepteurs étaient dus à l'apparition ou à la disparition sélective de types cellulaires particuliers, très riches en sites de liaison de la progestérone. Nos expériences fournissent une preuve contre cette

possibilité. Elles montrent que des variations quantitatives de récepteurs se produisent simultanément dans tous les types cellulaires des trois organes cibles étudiés. Il apparaît vraisemblable que les mécanismes qui contrôlent la concentration en récepteurs sont identiques dans toutes les catégories cellulaires des cornes utérines, de l'endocol et du vagin.

Une étude radioautographique faite au cours de l'implantation, sept jours environ après l'ovulation, devrait apporter des précisions aux études biochimiques concernant les variations de récepteurs selon l'état physiologique de l'animal.

2) Au niveau du cerveau et de l'hypophyse

a) Distribution des cellules cibles aux progestagènes ^3H

L'étude radioautographique de la fixation de progestérone ^3H au niveau du système nerveux central chez le cobaye, effectuée parallèlement à celle des tissus cibles périphériques, s'est avérée sans résultat. La mise en évidence de cellules marquées dans l'hypothalamus a nécessité une forte dose de progestérone ^3H . Cela témoigne vraisemblablement de la présence d'une petite quantité de récepteurs et du métabolisme non négligeable de la progestérone. La dose massive de traceur provoque, sur nos radioautographies, l'apparition d'un bruit de fond nettement plus important que celui habituellement formé sur nos préparations.

L'étendue du marquage se limite dans le système nerveux central à deux zones : l'aire préoptique périventriculaire - *pars* suprachiasmatic et l'hypothalamus médio-basal, principalement le n. arqué. Au sein de ces régions, les cellules marquées le sont moyennement et en nombre assez restreint. Ces résultats corroborent ceux de SAR et STUMPF (1973) qui décrivent dans les mêmes aires une fixation nucléaire, dépendante des oestrogènes, saturable par la progestérone non radioactive.

Chez le rat, nous établissons la topographie des cellules marquées dans le système nerveux central après injection d'un composé de synthèse, le R5020 ^3H . Cette étude est la première à concrétiser, par radioautographie, la présence de récepteurs de la progestérone. Les résultats obtenus lors du prétraitement par la corticostérone et par la progestérone non radioactive, avant l'injection du traceur, démontrent que le marquage répond aux critères de spécificité hormonale et de saturabilité d'une liaison hormone-récepteur. La fixation nucléaire est inhibée par la progestérone tandis que la corticostérone ne déplace pas la radioactivité. L'absence de fixation spécifique de R5020 ^3H au niveau du muscle strié établit la spécificité tissulaire de la liaison et le marquage nucléaire apporte la preuve de la translocation du récepteur au noyau. Ces récepteurs sont localisés dans certaines cellules préhypophysaires et dans des neurones de l'hypothalamus médio-basal et de l'aire préoptique. Ces deux régions sont celles qui recèlent des corps cellulaires marqués, après injection de progestérone naturelle tritiée chez le cobaye. Mais chez le rat, le marquage y est beaucoup plus étendu et les cellules y sont plus fortement marquées et plus nombreuses. Elles envahissent toute l'aire préoptique (région de l'organe vasculaire de la lame terminale, n. préoptique périventriculaire, médian et *pars* suprachiasmatic). Dans l'hypothalamus médio-basal, elles sont dispersées dans les régions bordant le 3ème ventricule (n. périventriculaire, arqué, prémamillaire) et abondantes dans le n. ventromédian.

Pour le moment, il n'est pas possible de dire si cette localisation des cellules marquées par les progestagènes ^3H dans le système nerveux central est, comme pour les oestrogènes, commune à l'ensemble des vertébrés. Les études radioautographiques sont encore peu nombreuses sur le sujet. Nous apporterons bientôt des informations sur la distribution des cellules cibles aux progestagènes ^3H chez les primates. Le R5020 ^3H , actuellement commercialisé, devrait permettre dans un proche avenir l'étude neuroanatomique comparée de la topographie des cellules progestérone-sensibles.

b) Comparaison entre la topographie des cellules fixant les progestagènes ^3H et celle des cellules oestrogéno-sensibles

La comparaison de nos résultats radioautographiques obtenus chez les rongeurs révèle que les topographies des corps cellulaires marqués par l'oestradiol ^3H et par les progestagènes ^3H sont superposables dans plusieurs aires du système nerveux central. La distribution neuroanatomique comparée des cellules cibles fait apparaître une concordance parfaite en ce qui concerne :

- leur présence dans la région préoptique médiane : autour du récessus préoptique, dans la partie suprachiasmatique et dans la région péri-ventriculaire.
- leur concentration dans l'hypothalamus médio-basal : n. arqué et n. ventromédian.

Cependant, des discordances naissent au sein de ces régions sur l'étendue du marquage et le nombre des cellules marquées décelées. On constate aussi l'absence de radioactivité dans les régions limbiques : l'amygdale et l'hippocampe, après injection de progestagènes ^3H . Les résultats obtenus par les méthodes biochimiques concordent avec nos observations pour souligner la pauvreté relative des récepteurs de la progestérone dans l'amygdale et le cortex (MOGUILLEWSKY et RAYNAUD, 1977 ; KATO et coll., 1978).

La similitude constatée dans la localisation neuroanatomique des cellules cibles aux stéroïdes gonadiques ^3H laisse supposer qu'un même neurone est capable de fixer à la fois l'oestradiol ^3H et les progestagènes ^3H . La technique radioautographique révèle une analogie dans la topographie mais ne permet pas de vérifier cette hypothèse. Ce point peut être envisagé à partir de certaines données biochimiques. Plusieurs études démontrent que la composante de liaison du récepteur cytosoluble des progestagènes, chez le rat, possède le pouvoir d'être induite par les oestrogènes dans l'hypophyse, l'hypothalamus et l'utérus (MOGUILLEWSKY et RAYNAUD, 1977, 1979 ; KATO et ONOUCHI,

1977 ; MACLUSKY et McEWEN, 1978 ; BLAUSTEIN et WADE, 1978 ; ROY et Coll., 1979). Les récepteurs de la progestérone ne sont pas limités à l'hypothalamus et à l'aire préoptique mais existent dans le mésencéphale et le cortex (BLAUSTEIN et WADE, 1978). Parmi les "systèmes récepteurs" présents dans ces régions, une divergence dans leur sensibilité aux oestrogènes apparaît. En absence de traitement oestrogénique, la quantité de récepteurs de la progestérone est faible dans l'hypothalamus et l'aire préoptique comme dans l'hypophyse et l'utérus. Mais, ces zones révèlent, en présence d'oestrogènes, une augmentation de la concentration, en nombre, de leurs récepteurs. Par contre, dans le mésencéphale et le cortex, le taux de base existant en récepteurs n'est pas affecté à court terme par les oestrogènes. Ces résultats mettent donc en évidence la présence de deux "systèmes récepteurs" distincts des progestagènes (MACLUSKY et McEWEN, 1978). Le système localisé dans l'hypothalamus et l'aire préoptique semble régularisé par les oestrogènes. Une durée de 40 à 48 heures après le "priming" est nécessaire pour potentialiser le récepteur dans ces régions et obtenir un nombre maximal de sites de liaison (MOGUILEWSKY et RAYNAUD, 1979). L'ensemble des résultats biochimiques plaide en faveur d'une action de l'oestradiol et des progestagènes sur les mêmes cellules dans ces tissus cibles.

Nos observations radioautographiques concordent avec les données précédentes. Obtenant uniquement, après injection de R5020 ³H chez des animaux soumis à un traitement oestrogénique, une fixation nucléaire dans des cellules situées dans l'hypothalamus et l'aire préoptique, nous détectons vraisemblablement le système-récepteur induit par les oestrogènes. Malheureusement, nous n'avons pas réalisé d'expériences chez des animaux n'ayant pas subi l'effet de "priming" oestrogénique. De ce fait, nous ne pouvons pas apporter d'informations relatives au second système récepteur.

En fonction des propriétés physiques de liaison du récepteur et de sa dépendance aux oestrogènes, on peut présumer de son importance fonctionnelle dans la régulation par la progestérone des mécanismes neuro-endocriniens et comportementaux. On peut noter que le

R5020 manifeste une activité biologique fondamentalement plus intense que la progestérone naturelle (RAYNAUD, 1977). Cet auteur a étudié l'action du R5020 sur l'inhibition de la libération préovulatoire de LH. Il rapporte qu'une dose faible de ce composé est efficace comparative-ment à la quantité de progestérone naturelle nécessaire pour produire un effet équivalent. Le R5020 est beaucoup plus actif à promouvoir la lordose chez des rats soumis aux oestrogènes et à l'inhiber quand il est administré simultanément à l'oestradiol (BLAUSTEIN et WADE, 1978).

III - ROLE DES REGIONS MARQUEES DANS LE CONTROLE DE L'OVULATION ET DE LA DECHARGE GONADOTROPE

Des lésions dans la région préoptique médiane - n. suprachiasmaticque empêchent, chez le rat, le déclenchement de l'ovulation sous l'action de la progestérone (BARRACLOUGH et Coll., 1964 ; DÖCKE et DÖRNER, 1969). Cependant, la stimulation électrique de l'éminence médiane (BARRACLOUGH et Coll., 1964) ou de la région n. arqué - n. ventromédian (DÖCKE et DÖRNER, 1969) induit l'ovulation chez les rats porteurs de telles lésions. D'après ces résultats, la région préoptique médiane - n. suprachiasmaticque apparaît nécessaire à l'action facilitante de la progestérone sur l'ovulation bien qu'elle ne soit peut-être pas sensible en elle-même à la progestérone. Cette suggestion est compatible avec le résultat obtenu, chez le rat, après l'implantation, directement dans l'aire préoptique, de progestérone qui est inefficace à induire l'ovulation (DÖCKE et DÖRNER, 1969 ; SCHULING et Coll., 1974). Au contraire, l'implantation de progestérone dans la région n. ventromédian - n. arqué abolit l'effet différant l'ovulation provoquée par une injection intraveineuse de progestérone à des rats adultes deux jours avant l'ovulation et déclenche celle-ci chez des rats prépubères soumis aux oestrogènes. De plus, l'effet produisant l'ovulation lors de la stimulation électrique de la zone n. arqué - n. ventromédian chez des rats porteurs de lésions de l'aire préoptique - n. suprachiasmaticque est renforcée par une injection systémique de progestérone ad-

ministrée à un moment favorable (DÖCKE et DÖRNER, 1969). L'ovulation est avancée quand la progestérone est implantée le matin du prooestrus dans la région éminence médiane - n. arqué (KOBAYASHI et Coll., 1970). Au cours de ces différentes expériences, les implantations hypophysaires de progestérone n'ont pas eu d'effet sur le déclenchement de l'ovulation.

Les résultats de ces travaux suggèrent une action facilitante de la progestérone sur la décharge gonadotrope qui a probablement pour sites effecteurs, les régions précédemment mises en jeu. Ces dernières, chez le rat, fixent fortement le R5020 ³H. Cependant, la possibilité d'une action directe de l'hypophyse plutôt que l'intervention du système nerveux central sur le déclenchement de l'ovulation n'est pas à écarter. La progestérone, implantée dans ces régions, très proches du système porte hypophysaire peut se déverser rapidement dans la circulation portale et "inonder" l'hypophyse (BOGDANOVE, 1963). Lorsque les implantations intrahypophysaires qui n'ont pas de retentissement sur l'ovulation sont pratiquées, la progestérone ne semble pas irriguer la préhypophyse de façon comparable.

Les effets inhibiteurs de la progestérone sur l'ovulation se manifestent quand le stéroïde est implanté dans l'hypophyse antérieure ou la région de l'éminence médiane (LABHSETWAR et BRAINBRIDGE, 1971). D'après STEVENS et Coll. (1970) l'hypophyse peut également être le site effecteur le plus direct sur l'inhibition. Cette dernière est aussi observée chez le rat lorsque la progestérone est implantée dans le n. ventromédian à des moments adéquats du cycle oestral (SCHULING et Coll., 1974).

Certaines régions extrahypothalamiques telles que l'amygdale et l'hippocampe sont impliquées dans l'action facilitante et inhibitrice de la progestérone sur l'ovulation (KAASJAGER et Coll., 1971 ; PIVA et Coll., 1973). Elles ne sont cependant pas marquées par les progestagènes tritiés mais elles peuvent agir en modifiant l'activité des sites récepteurs aux oestrogènes ou aux progestagènes qui contribuent plus directement à la décharge des gonadotropines.

L'influence de la progestérone sur LH et sur LH RH a été évaluée non seulement chez des rates intactes mais aussi chez des rates ovariectomisées. Quand la progestérone est implantée dans l'hypothalamus médio-basal, une baisse du taux de LH non accompagnée d'une diminution de la réponse pituitaire au LH RH est observée (SMITH et DAVIDSON, 1974). D'après ces auteurs, l'effet inhibiteur de la progestérone s'exerce au niveau hypothalamique plutôt qu'au niveau hypophysaire. L'injection intraveineuse de progestérone produit également un effet inhibiteur sur les taux élevés de LH circulante chez des rates ovariectomisées (CLEMENS et Coll., 1972). Cette inhibition n'est pas maîtrisée par la stimulation électrique de l'aire préoptique médiane ou de l'éminence médiane - n. arqué. De ce fait, l'intervention d'autres sites peut être soupçonnée. Il est possible que l'hypophyse ou le n. ventromédian répondent à la progestérone en inhibant la cession de LH et que cet effet entre en compétition avec une induction possible de la libération de LH par stimulation électrique.

En général, les travaux essayant d'identifier les sites anatomiques répondant aux actions inhibitrices et facilitantes de la progestérone sur la sécrétion gonadotrope sont menés simultanément à la recherche des régions intervenant dans la régulation du comportement sexuel. Aussi, cette localisation neuroanatomique des régions impliquées dans la décharge de LH, en particulier chez le cobaye, n'est pas définitivement établie. Des études plus précises, au moyen des techniques de dosages radioimmunologiques actuellement au point, devraient faire l'objet de publications dans un proche avenir.

IV - ROLE DES REGIONS MARQUEES DANS LA REGULATION DU COMPORTEMENT SEXUEL

Par des implantations de progestérone chez des rongeurs ovariectomisés, traités aux oestrogènes, plusieurs équipes de recherches ont tenté de localiser les régions concernées par les effets

inhibiteurs et facilitants de cette hormone sur le comportement sexuel femelle.

Chez le rat, la progestérone facilite la lordose quand elle est implantée dans l'aire préoptique médiane - hypothalamus antérieur (POWERS, 1972). Cette région retient fortement le $R5020^3H$. Cette influence facilitante peut aussi s'exercer lors d'implantations dans certaines régions qui pourtant ne concentrent pas le progestagène tritié telles que la formation réticulée mésencéphalique (ROSS et Coll., 1971), la région interpédonculaire - mésencéphalique ventrale (LUTTGE et HUGHES, 1976), la région *putamen* - n. caudé (YANASE et GORSKI, 1976 a).

Chez le cobaye, la lordose est facilitée par des implantations de progestérone dans des zones hypothalamiques qui fixent la progestérone 3H comme l'hypothalamus médio-basal et la région prémamillaire (MORIN et FEDER, 1974 b).

Jusqu'à présent trop peu de régions ont été explorées pour pouvoir établir une topographie des sites effecteurs de l'action facilitante de la progestérone sur la réceptivité sexuelle.

Des implantations de progestérone dans les régions mésencéphaliques énumérées précédemment peuvent également provoquer une inhibition de type inhibition "résultante" sur le comportement sexuel chez le cobaye (MORIN et FEDER, 1974 a) et chez le rat (YANASE et GORSKI, 1976 b). Les sites susceptibles de répondre par une inhibition de type inhibition "simultanée" ne sont pas mis en évidence chez le cobaye. Chez le rat, MARRONE et Coll. (1979) considèrent l'hypothalamus comme le site effecteur de l'influence inhibitrice (à la fois "résultante" et "simultanée") de la progestérone sur la réceptivité sexuelle. Cette superposition neuroanatomique des sites répondant à la fois aux deux types d'inhibition prend place dans une région fortement marquée par les progestagènes tritiés. Elle laisse penser que les mécanismes par lesquels la progestérone exerce cette double influence sont identiques. Ces mécanismes sont inconnus mais plusieurs possibilités

peuvent être envisagées. Par exemple :

- les implantations de progestérone dans l'hypothalamus médio-basal peuvent agir sur les effets nerveux des oestrogènes qui sont essentiels au déclenchement du comportement. L'hypothalamus répond très fortement aux implantations d'oestrogènes en facilitant la lordose chez le rat (LISK et BARFIELD, 1975) et chez le cobaye (MORIN et FEDER, 1974 c). Il se peut que les effets inhibiteurs de la progestérone résultent d'une action antagoniste au processus de traitement aux oestrogènes, (ZUCKER, 1966 ; WALLEN et Coll., 1975).
- une autre hypothèse peut être émise : la progestérone implantée dans l'hypothalamus médio-basal peut inhiber la synthèse ou la décharge de LH RH. Ce décapeptide, présent dans quelques péricaryons et dans de nombreuses fibres au niveau de cette zone de l'hypothalamus (BARRY et DUBOIS, 1976), a le pouvoir de faciliter la réceptivité sexuelle (MOSS et McCANN, 1973 ; PFAFF, 1973).
- la région considérée est également riche en neurones dopaminergiques. Comme nous l'avons signalé au cours de la 2ème partie de ce travail, dans l'hypothalamus médio-basal sont localisés le système tubéro-infundibulaire dopaminergique (UNGESTEDT, 1971) et des neurones "oestro-dopaminergiques" (GRANT et STUMPF, 1975). La stimulation du récepteur dopaminergique inhibe (EVERITT et Coll., 1974) ou facilite (FUXE et Coll., 1976) le comportement sexuel femelle. Aussi, la progestérone peut inhiber la lordose en agissant sur le système dopaminergique.
- un autre mécanisme peut être évoqué : l'action de la progestérone sur les neurones à sérotonine. La stimulation du récepteur sérotoninergique produit des effets inhibiteurs comparables à ceux de la progestérone sur le comportement sexuel chez la rate (RODRIGUEZ-SIERRA et DAVIS, 1977). Des axones à sérotonine se terminent dans l'hypothalamus médio-basal (BAUMGARTEN et LACHENMEYER, 1974) et la progestérone augmente le renouvellement de la sérotonine dans le cerveau chez le rat (LADISICH, 1974).

- notons enfin que d'autres systèmes neurotransmetteurs (noradrénaline et acétylcholine) sont susceptibles d'être concernés par l'action inhibitrice de la progestérone au niveau de l'hypothalamus médio-basal. Ce dernier contient des terminaisons noradrénergiques (UNGERSTEDT, 1971) et des neurones à acétylcholine (JACOBOWITZ et PALKOVITS, 1974). FUXE et Coll. (1976) ont montré que les neurotransmetteurs, dans leur ensemble, sont impliqués dans la régulation de la réceptivité sexuelle chez le rat.

En conclusion, les implantations de progestérone dans l'hypothalamus médio-basal, la formation réticulée mésencéphalique ou la région *putamen* - n. caudé influencent probablement une composante qui constitue l'élément moteur du déclenchement de la réponse comportementale. Les différents mécanismes qui peuvent intervenir dans l'action inhibitrice de la progestérone sur la lordose restent à être précisés.

CONCLUSION DE LA TROISIEME PARTIE

La technique radioautographique nous a permis de localiser les sites d'impact de la progestérone ou de ses métabolites, au niveau du tractus génital et du système nerveux central chez le rat et chez le cobaye. Le marquage obtenu sur les populations cellulaires de ces différentes structures cibles présente les critères d'une interaction spécifique hormone-récepteur.

L'hypophyse et les deux régions cérébrales : l'aire préoptique et l'hypothalamus médio-basal semblent atteintes par la rétroaction de la progestérone. Les cellules cibles sont localisées dans des aires répondant à l'oestradiol ^3H ; néanmoins, leur distribution au sein de ces régions est plus discrète que celle des cellules oestrogéno-sensibles. Les récepteurs de la progestérone au niveau cérébral semblent induits par les oestrogènes.

Dans l'utérus et le vagin, les différents types cellulaires retiennent les progestagènes ^3H avec une intensité plus ou moins forte. Selon l'état physiologique de l'animal, les taux de progestérone plasmatique et la concentration des récepteurs de la progestérone exprimés par unité cellulaire utérine sont soumis à des variations cycliques qui ne sont pas parallèles. Ces dernières ont été étudiées chez le cobaye au cours du cycle oestral. L'examen radioautographique a relevé un marquage maximal en prooestrus et minimal en dioestrus, sur les cellules du myomètre et du stroma de l'endomètre de l'utérus et sur les cellules épithéliales du vagin. Les résultats montrent que des variations de la concentration tissulaire des récepteurs se produisent simultanément dans toutes les catégories cellulaires des cornes utérines, de l'endocol et du vagin. L'hypothèse selon laquelle des mécanismes identiques contrôlent le contenu en récepteurs dans ces différentes structures, peut être émise. Chez les animaux ovariectomi-

sés, l'oestradiol provoque une augmentation importante des sites de liaison de la progestérone. La concentration élevée des récepteurs au moment du prooestrus peut être attribuable à l'effet des oestrogènes. La réceptivité hormonale dans le tractus génital apparaît oestrogéno-dépendante comme dans le système nerveux central.

Les résultats biochimiques montrent que les propriétés physiques des récepteurs de la progestérone et leur spécificité envers divers stéroïdes sont identiques dans les différents organes cibles (utérus, hypophyse, hypothalamus). L'approche radioautographique des récepteurs de la progestérone chez le rat a été possible grâce au R5020 ³H. Ce composé synthétique ne se lie pas aux protéines plasmatiques et est hautement spécifique des récepteurs de la progestérone.

Certains effets de la progestérone peuvent se traduire rapidement au niveau cérébral. Par exemple, l'action de l'hormone touchant à l'activité électrique des neurones demande une période de latence brève (KAWAKAMI et SAWYER, 1959 ; RAMIREZ et Coll., 1967) ou encore, le temps nécessaire au stéroïde après injection intra-veineuse pour faciliter la lordose est de courte durée (10-30 minutes) (MEYERSON, 1972). L'interprétation de ces données et les difficultés à mettre en évidence des récepteurs nucléaires de la progestérone laissent envisager une action directe et rapide de l'hormone, peut-être au niveau synaptique. Les conclusions d'ordre biochimique et la fixation nucléaire observée par radioautographie, obtenues après usage du R5020 ³H, remettent en question cette hypothèse et peuvent être l'indice d'une intervention fonctionnelle du génome. Cette dernière idée est confortée par les faits suivants :

- des implantations d'actinomycine D dans le n. arqué et le n. ventromédian (mais pas dans l'hypophyse, ni dans l'amygdale) bloquent l'action facilitante de la progestérone sur la sécrétion de LH chez le rat (JACKSON, 1975).
- la cycloheximide, un inhibiteur de la synthèse des protéines, empêche l'état réfractaire de postoeustrus dépendant de la progestérone chez

le cobaye (WALLEN et Coll., 1972).

Les régions cérébrales qui fixent les progestagènes ³H, sont probablement parmi les sites effecteurs dans le rôle exercé par la progestérone sur la décharge des gonadotropines et sur le déclenchement de la lordose. Il serait intéressant d'élucider les modalités d'action de cette hormone sur les circuits neuroanatomiques établis qui interviennent dans les mécanismes endocriniens et comportementaux.

QUATRIEME PARTIE

FIXATION DE GLUCOCORTICOÏDES ³H AU NIVEAU
DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL ET DE L'HYPOTHY-
PHYSE CHEZ LE RAT MÂLE

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES - OBJECTIFS

I - REGULATION DE LA SECRETION D'ACTH

Il est bien établi que la synthèse d'ACTH et le débit de sa sécrétion par l'adénohypophyse dépendent du taux des glucocorticoïdes du plasma (corticostérone et cortisol) d'origine cortico-surrénalienne. C'est une régulation de type rétroaction négative puisque la conséquence de la diminution du taux sanguin des glucocorticoïdes est une sécrétion accrue d'ACTH, d'où résulte une activation de la sécrétion des glucocorticoïdes par le cortex surrénal.

Tous les glucocorticoïdes naturels ou de synthèse inhibent la sécrétion hypophysaire. Cependant, certaines substances de synthèse sont plus inhibitrices, par exemple : chez l'homme, la dexaméthasone (glucocorticoïde synthétique) est 25 à 30 fois plus active que le cortisol (le glucocorticoïde naturel).

Parce qu'il passe par une glande périphérique la corticosurrénale, située loin de l'hypophyse, ce rétrocontrôle ACTH - glucocorticoïdes est parfois qualifié de rétroaction longue ou "feedback" long par opposition à un autre mécanisme autorégulateur de la sécrétion d'ACTH appelé "feedback court". Dans ce dernier cas, il s'agit encore d'une rétroaction négative dont l'information régulatrice est le taux sanguin d'ACTH (KRAICER et CONRAD, 1971) (fig. 32).

SELYE (1950) a décrit sous la désignation de "syndrome général d'adaptation" tout un ensemble complexe de réactions de l'organisme consécutives à des stimuli très divers, non spécifiques. Les stimuli responsables sont extrêmement polymorphes : variations thermiques (froid, chaleur) hémorragies, atteintes tissulaires, jeûne, anoxie, bruits violents, émotions Dans toutes ces circonstances groupées sous le nom de "stress" ou "agressions", la sécrétion d'ACTH est accrue. Cela

a suscité dès le début un grand nombre de travaux (conférer : MASON, 1968). Le mécanisme de la stimulation de la décharge d'ACTH dans le stress est indépendant du rétrocontrôle spécifique glucocorticoïde - ACTH précédemment signalé. La libération d'ACTH en réponse à une agression est immédiate. Elle existe chez l'animal surrénalectomisé dont la sécrétion d'ACTH est déjà à un niveau élevé. Elle ne peut être freinée que par des doses importantes, extra-physiologiques, de glucocorticoïdes.

D'autre part, le taux d'ACTH plasmatique subit des variations cycliques au cours du nyctémère. La valeur maximale est trouvée le matin et la minimale en fin de journée (CRITCHOW, 1963).

De plus, la décharge d'ACTH est stimulée par l'intermédiaire du CRF ou CRH (corticolibérine) dont la sécrétion dépend des centres nerveux agissant en corrélation avec l'hypothalamus. Bien que posé dès 1954, le problème de la structure chimique des CRF n'est toujours pas résolu (SCHALLY et BOWERS, 1964 ; PEARLMUTTER et Coll., 1975 ; KENDALL et Coll., 1976 ; COOPER et Coll., 1976) et leur existence même demeure discutée en dépit d'assez nombreuses données indirectes (SAFFRAN et SCHALLY, 1977). Cette hormone de libération d'ACTH probablement élaborée par des éléments neuroglandulaires hypothalamiques atteint l'adénohypophyse par les capillaires du plexus porte hypophysaire. La concentration maximale de ce polypeptide est mise en évidence chez le rat au niveau des terminaisons nerveuses de l'hypothalamus médio-basal (BRIAUD et Coll., 1974). Cela est en accord avec les faits exposés ci-après conférant à l'éminence médiane la fonction de régulation de la sécrétion d'ACTH par l'adénohypophyse. Dans la rétroaction glucocorticoïde - ACTH, la sensibilité de l'hypothalamus à la baisse du taux sanguin des glucocorticoïdes se traduit au niveau du CRH. Le contenu de l'éminence médiane en CRH augmente après surrénalectomie bilatérale tandis qu'il diminue au cours du traitement par les glucocorticoïdes. Les mécanismes de mise en jeu de la sécrétion d'ACTH dans le stress passent également par l'hypothalamus.

La délimitation des structures hypothalamiques spécifiquement impliquées dans la sécrétion d'ACTH est encore imprécise. L'hypothalamus est une zone de convergence d'afférences de diverses origines : sensorielles, thalamiques, limbiques, mésencéphaliques (conférer : fig. 10). Il est probable que l'intégration de messages afférents à laquelle sans doute l'hippocampe, l'amygdale, le septum prennent une part importante, se fait en des zones différentes de celles qui commandent la sécrétion de l'ACTH. Ces structures sont "glucocorticostéroïdo-sensibles" dans la plupart des cas mais peuvent être parfois "corticostéroïdo-insensibles" ; par ailleurs, la cession de mélanostimuline(s) hypothalamique(s) pourrait interférer avec celle de "corticolibérine(s)" et (ou) d'adurétine agissant au niveau des mêmes cellules cibles adénohypophysaires.

II - SITES EVENTUELS DE LA RETROACTION DES GLUCOCORTICOIDES

Les taux élevés de glucocorticoïdes plasmatiques inhibent la sécrétion d'ACTH, mais le site d'action de ces stéroïdes est très controversé. De nombreux investigateurs ont tenté de le localiser dans le cerveau et l'hypophyse, au moyen de lésions, de stimulations ou d'implantations de divers glucocorticoïdes. Les résultats obtenus sont parfois opposés et d'interprétation difficile. Devant la complexité du problème et l'abondance des publications sur le sujet, notre examen des informations ne sera que ponctuel. Dans un but de simplification nous avons rassemblé dans les tableaux IV à VI quelques données compilées de la littérature concernant les expériences d'implantations.

Il ressort de l'analyse des travaux que pour certains auteurs le site de rétroaction des glucocorticoïdes est intrahypothalamique (ENDRÖCZI et Coll., 1961 ; SMELIK et SAWYER, 1962 ; DAVIDSON et FELDMAN, 1967 ; CORBIN et Coll., 1965 ; BOHUS, 1968) tandis que d'autres attribuent à ces stéroïdes une action inhibitrice en agissant directement sur l'hypophyse (ROSE et NELSON, 1956 ; McCANN et Coll., 1958 ; DE WIED, 1964 ; RUSSEL et Coll., 1969 ; BOHUS et STRASHIMIROV, 1970). Certaines

TABLEAU IV : Effets des implantations de cortisone et de cortisol dans le cerveau du rat sur la fonction surrénale.

	REFERENCES	SITE D'IMPLANTATIONS	EFFETS
I - CORTISONE	ENDRÖCZI, LISSAK et TEKERES (1961)	Hypothalamus médio-basal	Inhibe la sécrétion surrénale au repos et empêche l'augmentation consécutive à un stress.
II - CORTISOL	DAVIDSON et FELDMAN (1963)	Eminence médiane Hypothalamus antéro-médian	Abolit l'hypertrophie surrénale compensatrice pour le reste de la glande après surrénalectomie unilatérale.
		Mésencéphale Cerveau antérieur	Légère(ou pas d')inhibition de l'hypertrophie
		Diencéphale postérieur Cervelet	Hypertrophie surrénale compensatrice normale
		Hypophyse	Pas d'effet.
	SLUSHER (1966)	Eminence médiane	Diminue le poids des surrénales Abaisse la corticostérone surrénale
		Formation réticulée mésencéphalique Hippocampe ventral	Diminue le taux de corticostérone surrénale Pas de changement dans le poids des surrénales
	BOHUS (1968)	Eminence médiane	Suppression importante de la décharge d'ACTH induite par un stress
		Formation réticulée mésencéphalique	Suppression modérée de la décharge d'ACTH induite par un stress
	KENDALL et ALLEN (1968)	Eminence médiane	Diminue la fonction surrénale Atrophie des surrénales.

TABEAU V : Effets des implantations de corticostérone dans le cerveau du rat et du lapin sur la fonction surrénale.

	REFERENCES	SITE D'IMPLANTATIONS	EFFETS
I - R A T	SMELIK (1965)	Hypothalamus antéro-basal	Diminue la sécrétion d'ACTH induite par un stress et le taux plasmatique de corticostérone. Petite diminution du poids des surrénales.
	DAVIDSON, JONES et LEVINE (1968)	Eminence médiane	Bloque l'augmentation des glucocorticoïdes surrénaux en réponse au stress
	GRIMM et KENDALL (1968)	Eminence médiane	Diminue l'augmentation de la corticostérone plasmatique consécutive à un stress à l'éther.
II - L A P I N	SMELIK et SAWYER (1962)	Hypothalamus basal portion antérieure de l'éminence médiane	Inhibe l'augmentation des corticostéroïdes plasmatiques en réponse à un stress.
		Hypothalamus antéro-médian	Moins d'inhibition
		Hypothalamus postérieur	Pas d'effet
		Mésencéphale	
	Adénohypophyse	Pas d'effet sur le taux sanguin des corticostéroïdes	
KAWAKAMI, SETO et YOSHIDA (1968 b)	Hippocampe : CA ₂ et CA ₃ et une partie du <i>gyrus dentatus</i>	Active la biosynthèse des corticostéroïdes surrénaux mesurée par l'incorporation d'acétate C ¹⁴ à la corticostérone	
	CA ₁	Pas d'influence	
	Amygdale- { n. central n. basolatéral, médian, cortical	Diminue la synthèse de corticostérone Pas de changement	

TABLEAU VI : Effets des implantations de dexaméthasone dans le cerveau du rat sur la fonction surrénale.

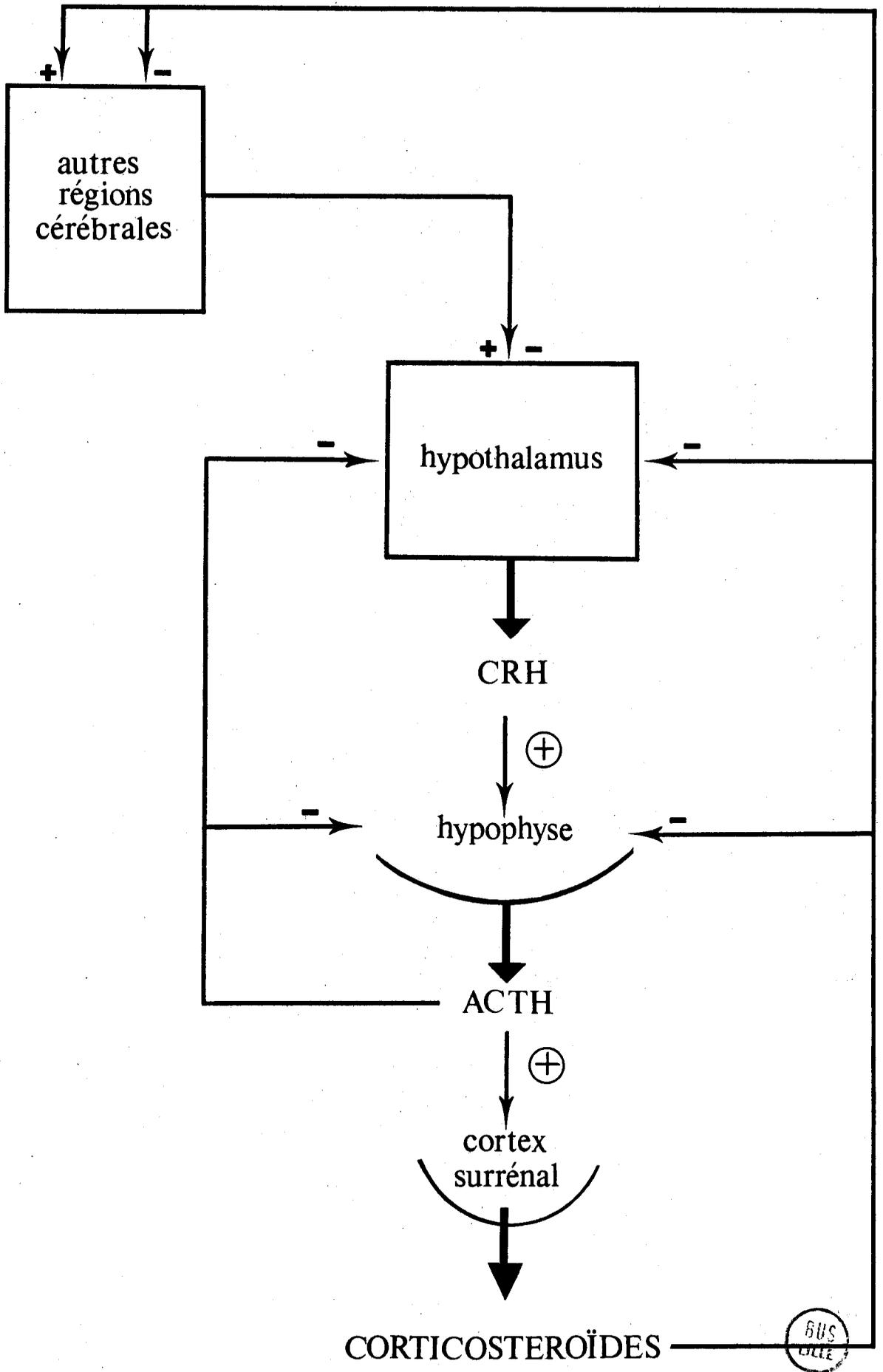
REFERENCES	SITE D'IMPLANTATIONS	EFFETS
CORBIN, MANGILI, MOTTA ET MARTINI (1965)	Eminence médiane	Réduit les taux de cortico- stérone plasmatique et sur- rénale.
	Hypophyse	Diminue le poids des surrénales Pas d'effet
	Cortex cérébral	Pas d'effet
ZIMMERMANN et CRITCHLOW (1969)	Mésencéphale Formation réticulée latérale	Diminue le taux de cortico- stérone plasmatique et sur- rénale. Réduit le poids des surrénales
	Hypothalamus	Abolit considérablement le pic diurne des taux de corti- costérone plasmatique des animaux non soumis à un stress.
BOHUS et STRASHIMIROV (1970)	Diencéphale ventral Mésencéphale antérieur	Annule le taux de cortico- stéroïdes chez les animaux non stressés.
	Région antérieure de l'éminence médiane	Supprime la décharge d'ACTH liée au stress
	Région infundibulaire	Supprime la décharge d'ACTH
	Hypophyse antérieure (implantations bila- térales)	Supprime la décharge d'ACTH



FIGURE 32

Schéma très simplifié des actions exercées par les glucocorticoïdes et l'ACTH sur l'axe hypothalamo-préhypophyso-corticosurrénalien à corticolibérine(s).

NB : Le détail des structures corticostéroïdo-sensibles et corticostéroïdo-insensibles ne pouvait pas être précisé sur ce schéma.



structures mésencéphaliques sont aussi impliquées dans cette rétroaction (CORBIN et Coll., 1965 ; SLUSHER, 1966 ; BOHUS, 1968). Une influence du système limbique sur la sécrétion d'ACTH est également établie. Considérant la régulation de cette hormone au repos ou au cours du stress, de nombreux chercheurs observent que l'implantation de corticostéroïdes dans l'hippocampe augmente à la fois le taux de base d'ACTH et celui induit par le stress (DAVIDSON et FELDMAN, 1967 ; KNIGGE, 1966 ; KAWAKAMI, et Coll., 1968 b ; BOHUS, 1975). Ces effets sont par contre, opposés à ceux constatés, généralement inhibiteurs, lors de la stimulation directe de l'hippocampe (KAWAKAMI et Coll., 1968 a ; DUPONT et Coll., 1972). Le maintien de taux constants de glucocorticoïdes, par des implantations dans l'hippocampe, empêche le rythme circadien de la sécrétion hypophysaire (SLUSHER, 1966). Des implantations de dexaméthasone produisent une inhibition significative de l'hypertrophie surrénalienne compensatrice (DAVIDSON et FELDMAN, 1967).

L'hippocampe semble être un site candidat à la rétroaction des glucocorticoïdes. Chez le rat, la corticostérone est plus fortement concentrée et est retenue plus longtemps dans l'hippocampe, le septum et l'amygdale que dans les autres régions cérébrales (McEWEN et Coll., 1969, 1970, 1979; KNIZLEY, 1972 ; McEWEN et PFAFF, 1973). Des protéines spécifiques réceptrices des glucocorticoïdes sont mises en évidence dans les cellules de l'hippocampe (GROSSER et Coll., 1971 ; McEWEN et Coll., 1972 ; McEWEN et WALLACH, 1973 ; STEVENS et Coll., 1973). La figure 32 schématise l'ensemble des actions exercées par les glucocorticoïdes et l'ACTH sur l'axe hypothalamo-préhypophyso-corticosurrénalien à corticolibérine(s).

III - OBJECTIFS

Les incertitudes concernant le site des rétroactions des glucocorticoïdes, exposées précédemment, justifient l'entreprise d'une étude visant à localiser au niveau cérébral et hypophysaire les cellules capables de fixer ces stéroïdes.

Au moyen de la radioautographie qui permet de visualiser individuellement des cellules marquées, il nous a semblé intéressant d'essayer de détecter les sites récepteurs des glucocorticoïdes ^3H chez le rat mâle surrénalectomisé. Dans un premier temps, nous avons établi la distribution topographique des cellules marquées après injection de corticostérone ^3H (WAREMBOURG, 1973, 1975a et c). Ce stéroïde est utilisé de préférence car il est, chez le rat, le principal glucocorticoïde endogène (BUSH, 1953).

Etant assez surpris lors de nos premiers résultats avec la corticostérone ^3H de n'obtenir aucune fixation au niveau hypothalamique, nous avons, dans un deuxième temps, tenté de réitérer cette étude en utilisant la dexaméthasone ^3H , un glucocorticoïde de synthèse, connu pour son puissant pouvoir inhibiteur sur la sécrétion d'ACTH (WAREMBOURG, 1975b et c). Là encore, les résultats radioautographiques obtenus étaient plutôt déconcertants. Ils ont été confirmés depuis par d'autres auteurs et clarifiés par la biochimie.

R E S U L T A T S

I - FIXATION DE LA CORTICOSTERONE ³H CHEZ LE RAT MALE

Notre expérimentation a porté sur dix rats (Sprague - Dawley) mâles, surrénalectomisés 48 h à 6 jours avant l'injection du traceur. Chez ces animaux, l'eau de boisson est alors remplacée par une solution de chlorure de sodium à 0,9 %. Les rats reçoivent une injection de 100 µCi de corticostérone ³H-1,2 (activité spécifique : 26 ci/m Mole). Ils sont décapités à des temps variant entre 1 et 2 heures après l'injection de l'hormone marquée. Les cerveaux, rapidement prélevés, sont congelés et la technique radioautographique est effectuée. La durée d'exposition des radioautographies est de 112 à 128 jours.

L'identification des structures est faite selon l'atlas du cerveau du rat de KÖNIG et KLIPPEL (1963).

Chez tous les rats examinés, une distribution similaire des neurones fixant la corticostérone ³H est obtenue. La réaction radioautographique est le plus souvent localisée sur la zone nucléaire des neurones. Nos observations réalisées sur des coupes frontales dans les régions s'étendant du bulbe olfactif au mésencéphale sont les suivantes :

1) Système nerveux central : concentration de la radioactivité une heure après l'injection

a) Région olfactive

Des cellules marquées se rencontrent dans l'ensemble du noyau olfactif antérieur ; elles sont néanmoins plus abondantes

dans les parties dorsale et latérale de ce noyau (fig. 33 a et b). Le nombre de grains d'argent sur ces cellules est peu élevé par rapport à celui des neurones de certaines régions envisagées ultérieurement ; mais, comparativement au néopallium ce marquage est notable.

Dans la région paraolfactive, une bande de cellules très fortement marquées se situe de part et d'autre du sillon inter-hémisphérique (fig. 33 c). Elles appartiennent à l'hippocampe précommissural (encore connu sous le nom de continuation antérieure de l'hippocampe). Cette formation est partagée, dès l'apparition du corps calleux en deux groupes cellulaires qui retiennent intensivement l'hormone tritiée (fig. 33 d). Certaines cellules s'observent au-dessus du corps calleux jusqu'au niveau de l'*indusium griseum* (ou hippocampe supra-calleux) dont les neurones présentent une charge importante en radioactivité. Les autres cellules localisées en-dessous du corps calleux s'étendent vers le n. septo-hippocampique (fig. 34 a).

Des neurones faiblement marqués sont dispersés dans les régions du tubercule olfactif et du cortex piriforme. Aucun marquage spécifique n'est révélé au niveau des cellules de la bande diagonale de Broca, des îlots de Calleja et du n. *accumbens*.

b) Septum

L'intégralité du septum antérieur présente des cellules marquées. Cependant, la charge en radioactivité et la distribution de ces neurones diffèrent selon les régions. Si l'on divise cette partie du septum en régions dorsale, latérale et médiane, l'observation montre que les neurones les plus fortement marqués et les plus nombreux sont situés dans la région dorsale sous le corps calleux et dans la région latérale juxta-ventriculaire (fig. 34 a, b, c et fig. 37 a). Plus postérieurement, le nombre de ces cellules diminue progressivement. Dans le n. septal de la *fimbria* et interstitiel de la strie terminale, certains neurones possèdent encore quelques grains d'argent (fig. 34 c). Le n.

Distribution des neurones marqués (représentés par des points noirs) dans le cerveau chez le rat après injection de corticostérone ³H.

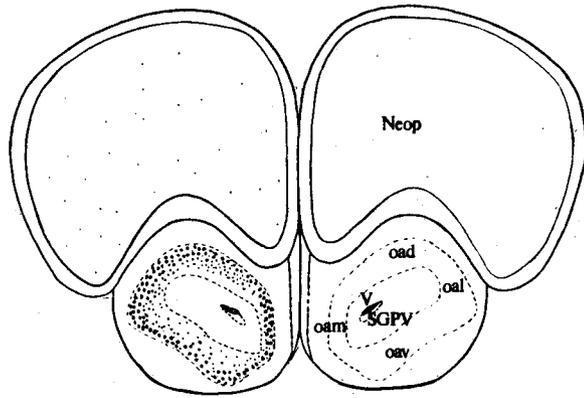
Les dessins ont été réalisés à la chambre claire à partir de radioautographies de coupes frontales de la région olfactive au mésencéphale sélectionnées chez un même animal.

F I G U R E 33

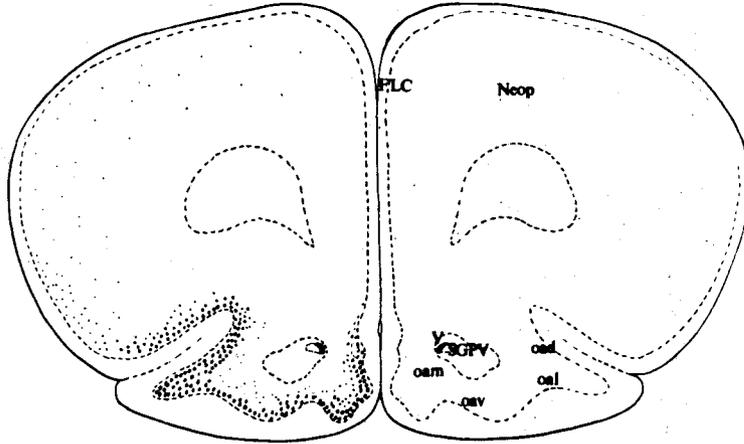
Régions olfactive et paraolfactive.

ABREVIATIONS

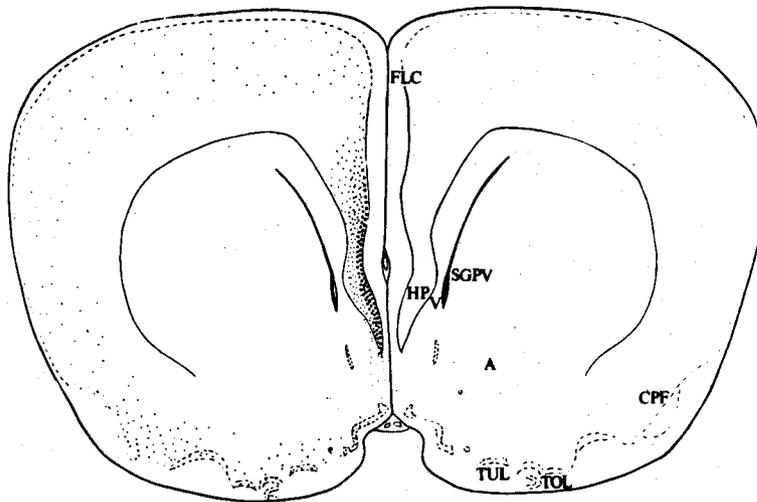
- A : n. *accumbens*
- AA : aire amygdalienne antérieure
- AD : n. thalamique antérieur dorsal
- AV : aire thalamique antérieure ventrale
- AT : aire de transition cortico-amygdalienne
- ab : n. amygdalien basal
- ac : n. amygdalien central
- aco : n. amygdalien cortical
- ahd : aire hypothalamique dorsale
- ahl : aire hypothalamique latérale
- ahp : aire hypothalamique postérieure
- al : n. amygdalien latéral
- am : n. amygdalien médian
- apom : aire préoptique médiane
- ar : n. infundibulaire ou arqué
- C : *cingulum*
- CA : commissure antérieure
- CA₁a ; CA₁p : champs CA₁ antérieur et postérieur
- CA₂ ; CA₃ ; CA₄ : champs CA₂ ; CA₃ ; CA₄



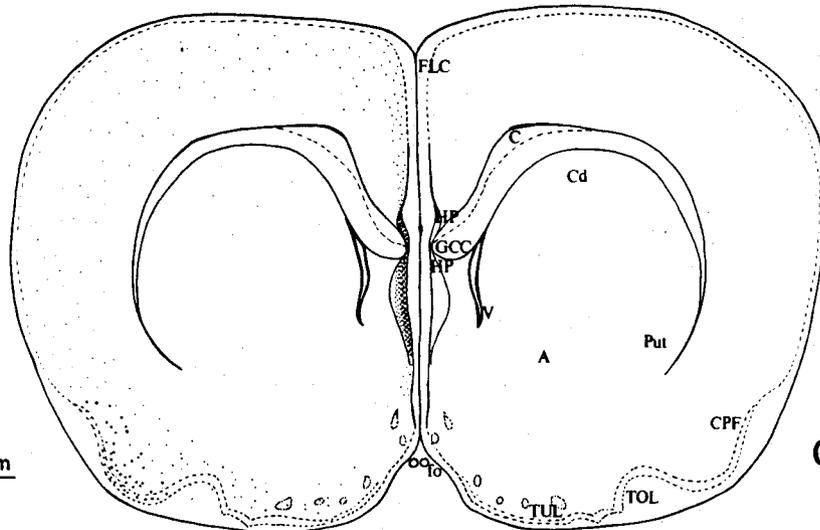
a



b



c



d

1,2mm

Régions olfactive et paraolfactive.



septal triangulaire et le n. de la commissure antérieure sont très peu marqués. Implanté sur la face ventriculaire du trigone cérébral, l'organe subfornical capte le traceur (fig. 34 d).

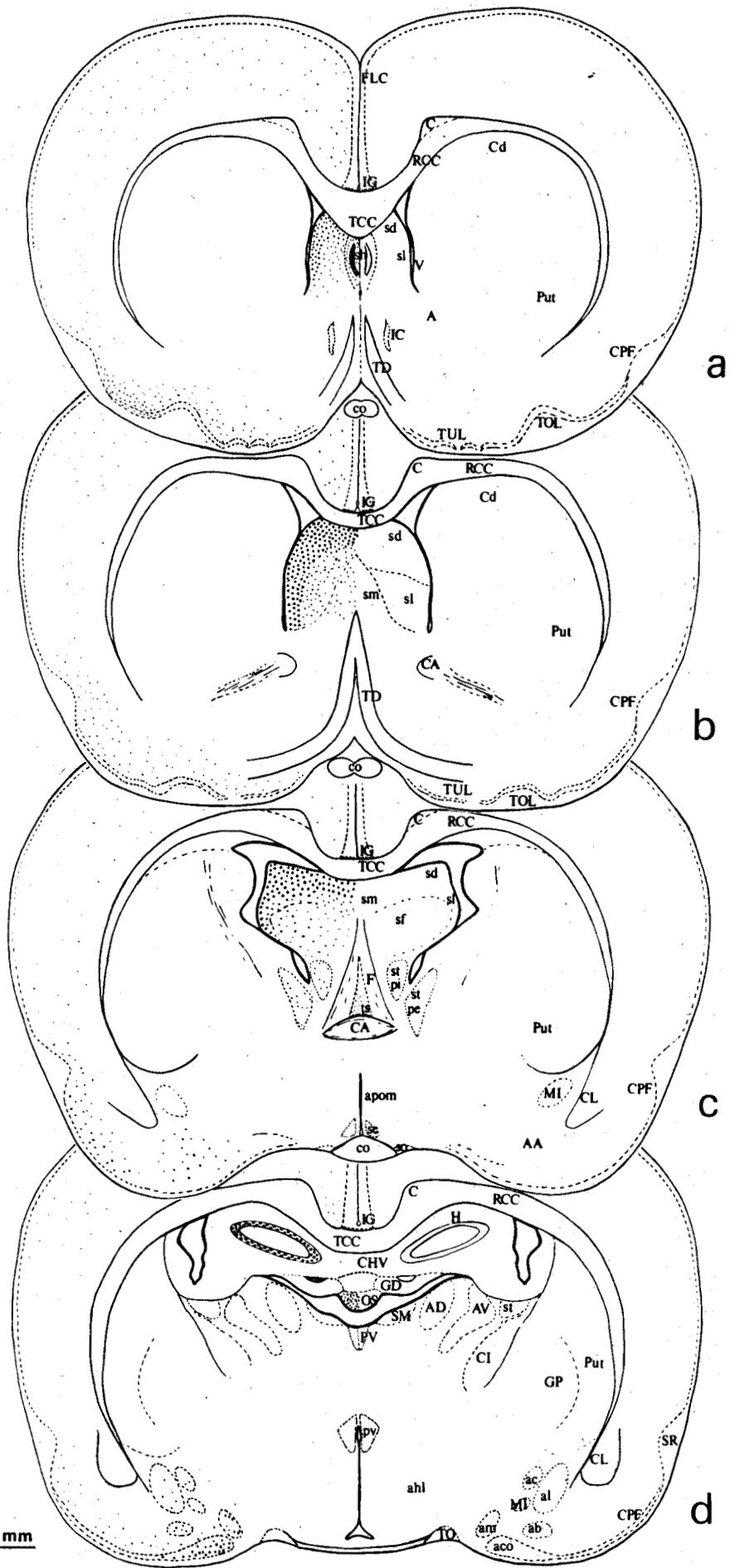
c) Formation hippocampique

Plusieurs structures de la formation hippocampique qui constituent l'ensemble de la partie rétro-commissurale du limbe hippocampique, en particulier : l'hippocampe vrai ou circonvolution de l'hippocampe, le *gyrus dentatus*, le *subiculum* hippocampique, retiennent fortement la corticostérone ³H. Dans ces régions, la fixation est très nettement nucléaire.

a) Hippocampe ou corne d'Ammon

En se basant sur la disposition, la morphologie et les connexions des cellules pyramidales, des auteurs ont subdivisé l'hippocampe en un certain nombre de champs cellulaires. Nous avons adopté la classification CA₁, CA₂, CA₃, CA₄ des champs hippocampiens de LORENTE DE NÓ (1933, 1934).

La majorité des cellules du *striatum* pyramidal incorpore l'hormone marquée. Les radioautographies révèlent une différence dans l'intensité du marquage parmi les champs cellulaires. Les cellules les plus fortement marquées sont découvertes parmi les champs CA₁ (antérieur et postérieur) et CA₂. Elles se distinguent entre elles par leur taille et leur répartition. Les cellules du champ CA₁ (fig. 35, 36 et 37 b) sont plus petites que les cellules du champ CA₂ (fig. 35, 36 et 37 c). Elles sont placées suivant deux couches : une couche superficielle formée de deux rangées de cellules intimement juxtaposées et une couche plus profonde caractérisée par des cellules moins rapprochées entre elles et irrégulièrement disposées qui atteignent le *stratum oriens*. Le champ CA₂, au contraire, ne présente pas cet aspect stratifié. Parmi les cellules du champ CA₁, on constate que la concentration en radioactivité



1,2mm

Régions du septum.



dans les cellules du champ CA₁ antérieur est supérieure à celle des cellules du champ CA₁ postérieur. Les cellules du champ CA₃ (fig. 35, 36 et 37 d), les plus grandes du *gyrus* hippocampique, fixent également l'hormone mais leur charge en matériel radioactif est inférieure à celle des précédentes. Eparpillées à l'intérieur du hile du *gyrus dentatus*, les cellules du champ CA₄ sont les moins marquées.

β) Gyrus dentatus

Les nombreuses petites cellules qui forment le *stratum granulosum* du *gyrus dentatus* concentrent sélectivement et intensivement la corticostérone ³H (fig. 35 et 36). Elles sont granuleuses, très serrées et possèdent un gros noyau (fig. 37 e).

γ) Subiculum hippocampique (fig. 36)

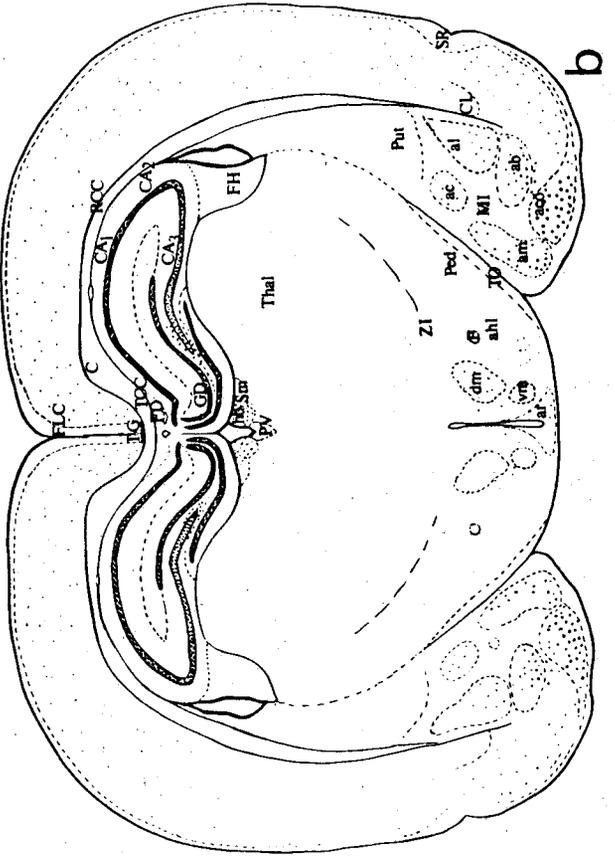
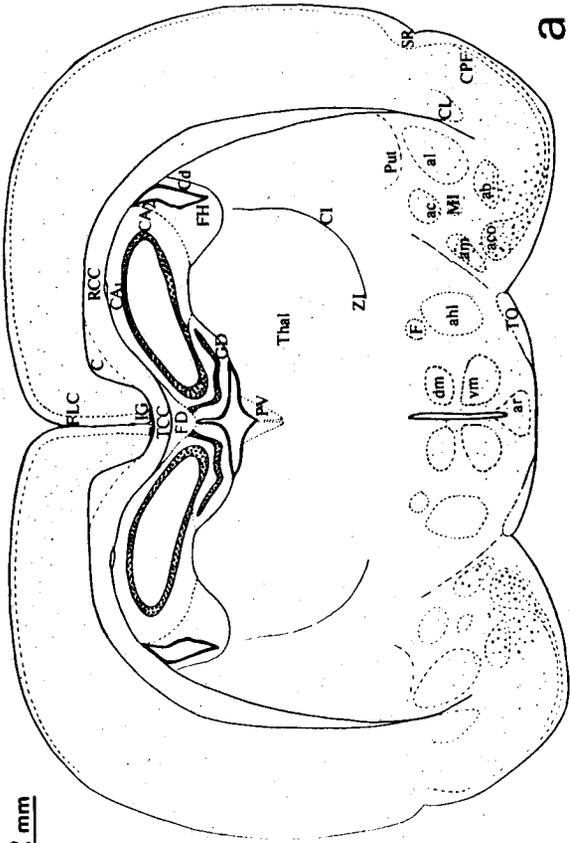
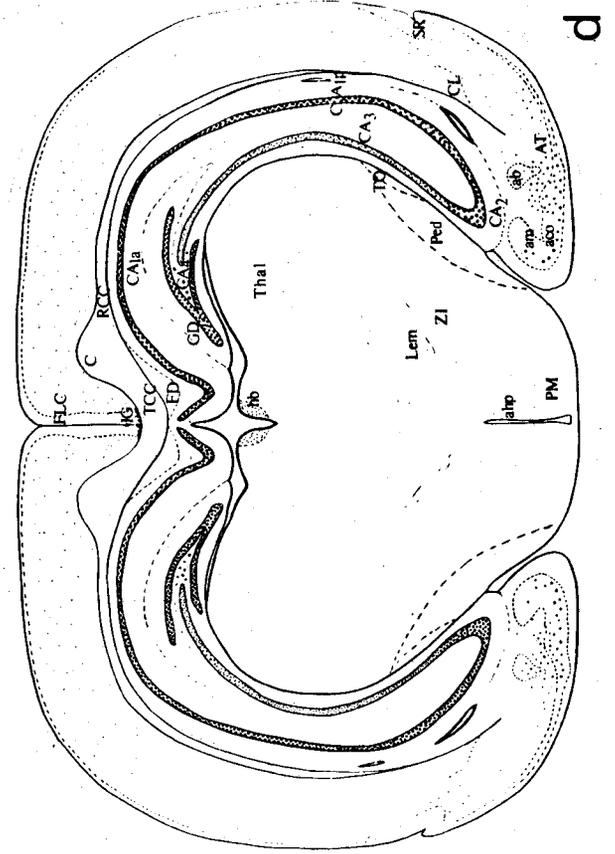
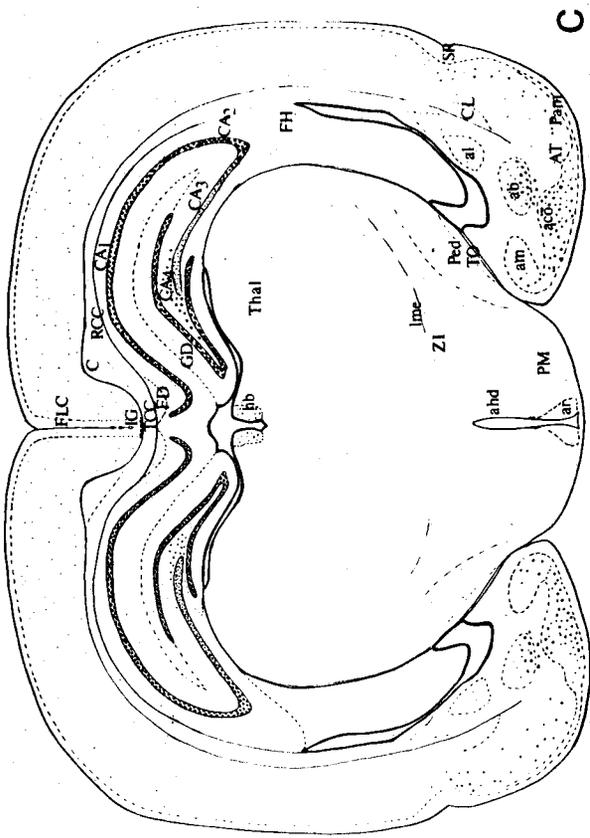
Le *subiculum* en continuité avec l'hippocampe dont il respecte la structure, présente de nombreuses cellules fortement marquées. Celles-ci sont observées en grand nombre dans le *prosubiculum*. Cette région, logée à l'intérieur du *subiculum*, est composée de cellules qui sont dans le prolongement direct des cellules CA₁ de la corne d'Ammon. Dans le *présubiculum* et le *parasubiculum*, qui eux appartiennent au *gyrus* para-hippocampique, des neurones faiblement marqués sont identifiés, mais leur charge en grains d'argent est très inférieure à celle des cellules de la circonvolution de l'hippocampe. Le nombre de neurones corticostérone-sensibles diminue dans la région présubiculaire lorsqu'elle s'étend en arrière vers la région rétrospléniale (aire 26 de Brodmann).

La formation hippocampique et l'amygdale

ABREVIATIONS (Suite)

lme	:	lame médullaire externe
Ml	:	masse intercalaire
MM	:	corps mamillaire
Neo	:	néocortex
Neop	:	néopallium
N III	:	nerf oculomoteur
NP	:	n. du pont
NR	:	n. rouge
OS	:	organe subfornical
oad	:	n. olfactif antérieur partie dorsale
oal	:	n. olfactif antérieur partie latérale
oam	:	n. olfactif antérieur partie médiane
oav	:	n. olfactif antérieur partie ventrale
Pam	:	cortex périamygdalien
Ped	:	pédoncules cérébraux
PM	:	aire prémamillaire
Pre	:	<i>présubiculum</i>
Put	:	<i>putamen</i>
PV	:	n. paraventriculaire thalamique
Pv	:	n. paraventriculaire hypothalamique
RCC	:	radiations du corps calleux
Rsp	:	aire rétropléniale
SGPV	:	substance grise périventriculaire
SM	:	strie médullaire thalamique
SN	:	<i>substantia nigra</i>
SR	:	scissure rhinale
Sub	:	<i>subiculum</i>
sc	:	n. suprachiasmatique
sd	:	n. septal dorsal
sf	:	n. septal de la <i>fimbria</i>

12 mm



d) Amygdale

Dans ce volumineux complexe nucléaire beaucoup de neurones incorporent le stéroïde tritié. Néanmoins, leur charge en radio-activité est plus faible que celle des cellules de la formation hippocampique (comparer fig. 37, f et g). Leur distribution varie d'un noyau à l'autre. Très disséminés dans les noyaux amygdaliens, antérieur, central et latéral (fig. 34 c à fig. 35 d) ils apparaissent plus nombreux dans la partie du noyau médian en contact avec le *subiculum*. Ils sont, par contre, très concentrés dans le noyau basal, notamment dans sa partie médiane, et dans le noyau cortical y compris la zone de transition cortico-amygdalienne (fig. 35 d à fig. 36 b). Les cellules de la masse intercalaire ne révèlent aucun marquage spécifique.

e) Cortex

Certaines régions du cortex présentent une population cellulaire qui retient moyennement l'hormone marquée. Quelques éléments neuronaux marqués sont dispersés dans les couches cellulaires du néocortex au pôle frontal et dans les hémisphères cérébraux. Ils sont plus nombreux et regroupés dans l'*indusium griseum*, le cortex périamygdalien, le cortex piriforme, plus particulièrement dans les régions proches de la fissure rhinale et dans l'aire entorhinale du *gyrus* para-hippocampique. La partie latérale de cette dernière région, en dedans du sillon rhinal postérieur, (aire 28 de Brodmann) et la zone bordant la région parasubculaire montrent de nombreuses cellules marquées avec une charge en grains d'argent supérieure à celle des cellules du néocortex (fig. 36 c et d).

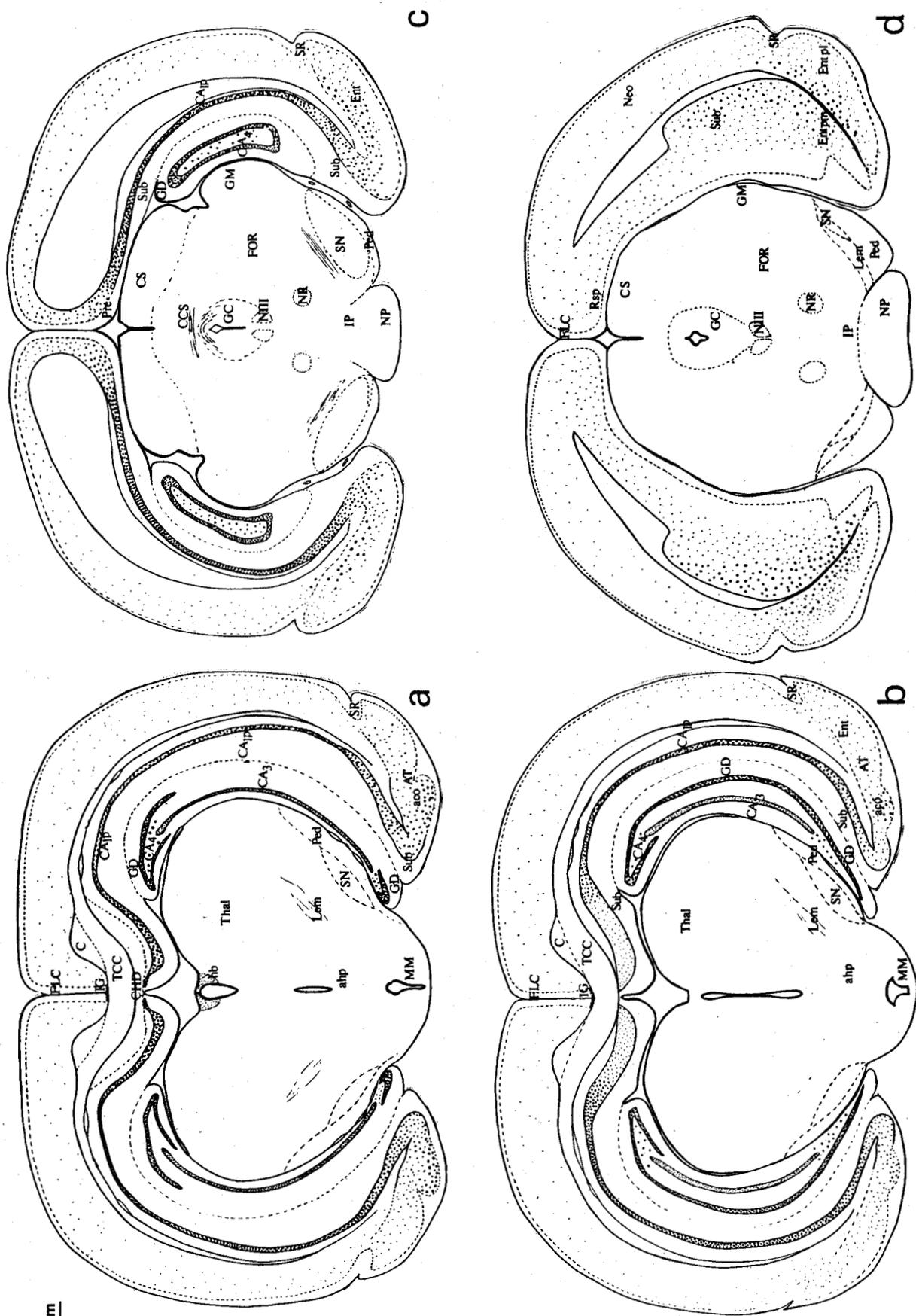
f) Thalamus, hypothalamus

Les noyaux du thalamus et de l'hypothalamus ne révèlent pas de zones importantes d'incorporation élective du traceur. Des cellules isolées montrent parfois quelques grains d'argent au niveau

La formation hippocampique et l'aire entorhinale

ABREVIATIONS (Suite)

sh	:	n. septal hippocampique
sl	:	n. septal latéral
sm	:	n. septal médian
so	:	n. supraoptique
st pe	:	n. interstitiel de la strie terminale partie externe
st pi	:	n. interstitiel de la strie terminale partie interne
TCC	:	tronc du corps calleux
TD	:	tractus diagonal de Broca
Thal	:	thalamus
TO	:	tractus optique
TOL	:	tractus olfactif latéral
TUL	:	tubercule olfactif
ts	:	n. septal triangulaire
V	:	ventricule
vm	:	n. hypothalamique ventromédian
Z1	:	<i>zona incerta</i>



La formation hippocampique et l'aire entorhinale .



nucléaire ou cytoplasmique mais leur distribution anarchique et leur faible charge en radioactivité ne permettent pas de conclure à un marquage spécifique, ni à la fixation de l'hormone dans une région bien délimitée. Notons toutefois une rétention plus importante de stéroïde marqué au niveau du noyau médian de l'*habenula* (fig. 35 b à 36 a).

2) Hypophyse : concentration de la radioactivité une heure après l'injection

Dans le lobe antérieur de l'hypophyse existe une population importante de cellules marquées. Elles sont réparties dans la totalité du lobe. Des cellules fortement marquées sont adjacentes à des cellules faiblement ou non marquées. Les types cellulaires ne sont malheureusement pas identifiables avec la coloration au vert de méthyle pyronine. Certaines cellules révèlent une nette rétention nucléaire de radioactivité tandis que d'autres montrent des grains d'argent distribués à la fois sur le cytoplasme et le noyau.

Quelques grains d'argent peuvent être observés sur les lobes intermédiaire et postérieur sans très nette localisation intracellulaire.

3) Système nerveux central et hypophyse : concentration de la radioactivité en fonction du temps entre l'injection et le sacrifice

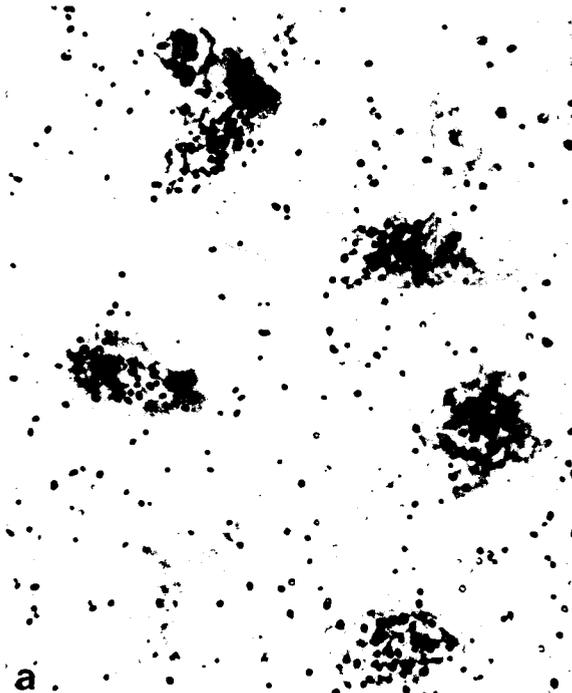
Chez les rats sacrifiés au-delà de 1 h 30 (soit entre 1 h 40 et 2 h) après l'injection de corticostérone ^3H , une très nette diminution dans l'intensité du marquage est constatée dans toutes les régions précédemment citées. Cette baisse de densité des grains d'argent se traduit principalement dans les cellules des régions olfactives, septales, amygdaliennes, corticales, des champs CA_3 et CA_4 de la formation hippocampique et de l'hypophyse. Par contre, la concentration en

FIGURE 37

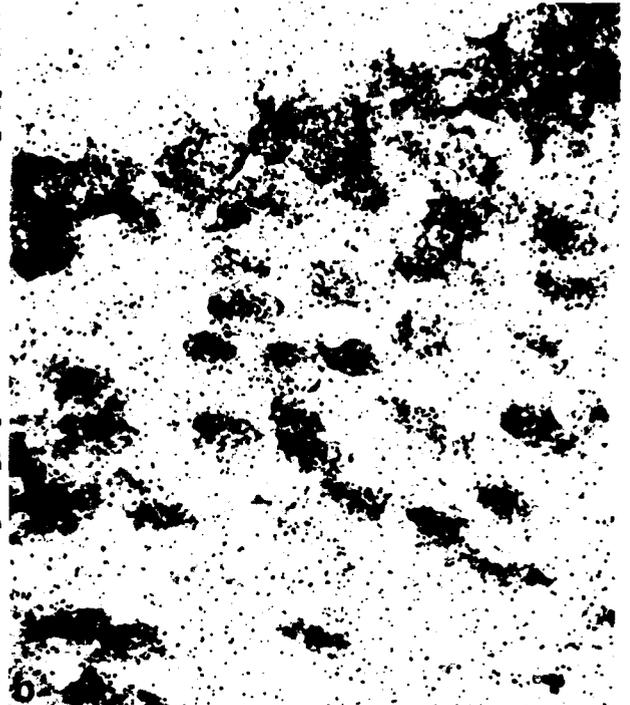
Radioautographies de coupes frontales de cerveau chez le rat
une heure après l'injection de corticostérone ^3H .

- a : cellules marquées du n. septal latéral.
(G. X 1340).
- b : cellules marquées du champ CA₁ de l'hippocampe.
(G. X 540).
- c : cellules marquées du champ CA₂ de l'hippocampe.
(G. X 1340).
- d : cellules marquées du champ CA₃ de l'hippocampe.
(G. X 635).
- e : cellules marquées du *gyrus dentatus*
(G. X 540).
- f : cellules marquées à un plus fort grossissement du champ CA₁
de l'hippocampe. La réaction radioautographique prédomine
sur la zone nucléaire. (G. X 1340).
- g : cellules marquées du n. amygdalien cortical (G. X 1340).
Leur charge en grains d'argent est plus faible que celle
des cellules de l'hippocampe. Comparer fig. f et g.

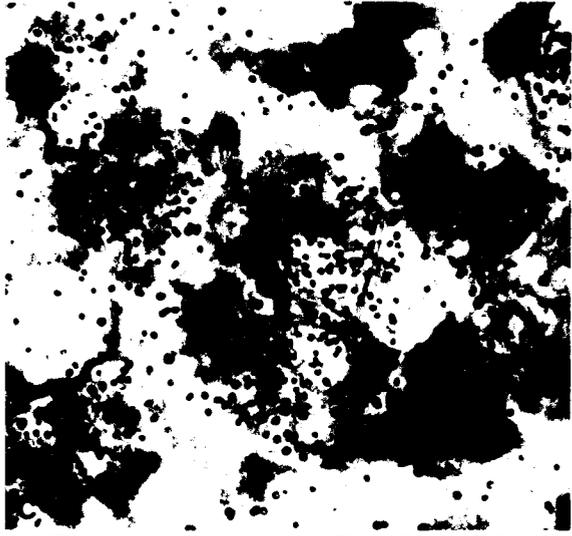




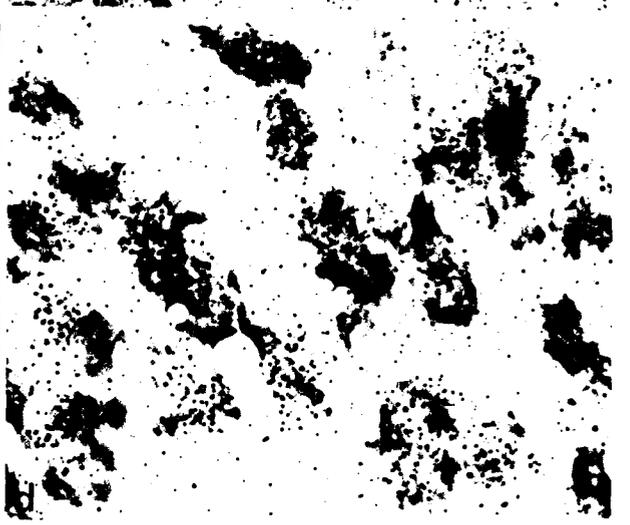
a



b



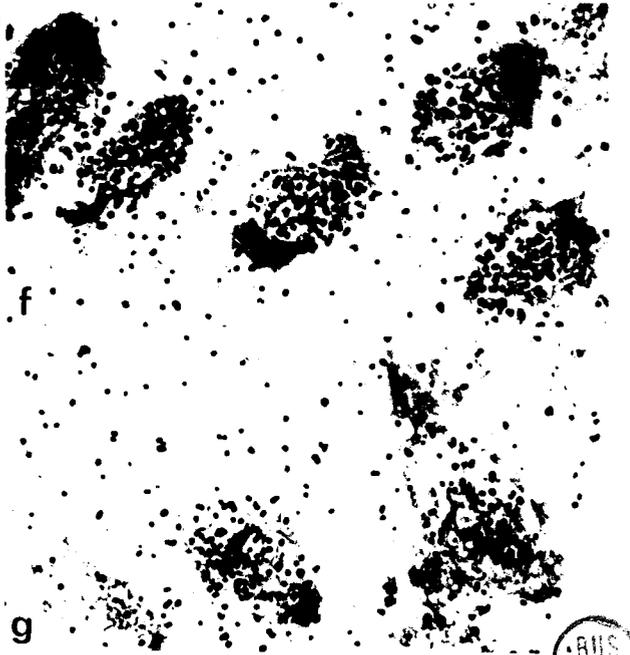
c



d



e



f



radioactivité est encore élevée au niveau des cellules de l'hippocampe précommissural, de l'*indusium griseum*, du *gyrus dentatus* et des champs CA₁ et CA₂. Il faut signaler que la réaction radioautographique est toujours essentiellement localisée sur la zone nucléaire des neurones.

II - FIXATION DE LA DEXAMETHASONE ³H CHEZ LE RAT MALE

Cette étude a été faite sur douze rats mâles (Sprague - Dawley) matures, surrénalectomisés 5 à 12 jours avant l'expérimentation. L'eau de boisson de ces animaux est remplacée par une solution de chlorure de sodium à 0,9 %. Les rats reçoivent une injection de 150 µCi de dexaméthasone ³H - 1, 2, 4 (activité spécifique : 20,8 Ci/m Mole). Ils sont tués par décapitation une heure après l'injection. Sur les cerveaux rapidement prélevés, la technique radioautographique est réalisée, la durée d'exposition étant de 93 à 160 jours.

Bien qu'une distribution diffuse de la radioactivité soit observée dans tout le cerveau une heure après l'injection de dexaméthasone ³H, un puissant glucocorticoïde de synthèse, une concentration plus élevée de grains d'argent est présente dans certaines régions cérébrales, dans l'épiphyse et dans l'hypophyse.

1) Système nerveux central

D'importantes quantités de radioactivité sont accumulées dans la lumière des ventricules cérébraux. Les cellules épithéliales enveloppant les plexus choroïdes des ventricules sont marquées au niveau cytoplasmique et nucléaire. Il en est de même pour certaines cellules endothéliales des vaisseaux sanguins et pour quelques cellules épendymaires. Des grains d'argent sont visibles sur les régions en bordure du système ventriculaire et sur les organes circumventriculaires tels que les n. septal latéral, septal triangulaire, préoptique périventriculaire, périventriculaire hypothalamique et l'organe subfornical.

La formation hippocampique, le septum et l'amygdale ont été examinés mais ils ne révèlent pas d'accumulation préférentielle de radioactivité.

Dans l'hypothalamus ventromédian (fig. 38 a) certaines cellules présentent une quantité notable de grains d'argent au niveau nucléaire et cytoplasmique (fig. 38 b). Les corps cellulaires marqués sont identifiés dans la partie ventrale du n. arqué et dans sa portion caudale à proximité du récessus infundibulaire du 3ème ventricule. Des éléments marqués sont dispersés dans l'étendue de l'éminence médiane. Les autres zones hypothalamiques ne montrent pas de marquage significatif.

Dans la glande pinéale (fig. 38 a), la concentration en matériel radioactif est nettement supérieure à celle des régions cérébrales. Les grains d'argent sont irrégulièrement distribués sur la totalité du parenchyme épiphysaire sans localisation cellulaire ou intracellulaire (fig. 38 g).

2) Hypophyse

Une heure après l'injection du composé tritié la majorité des cellules du lobe antérieur de l'hypophyse, y compris la *pars tuberalis*, sont marquées (fig. 38 c). Les grains d'argent, en quantité variable, sont le plus souvent répartis sur l'ensemble noyau-cytoplasme. Une concentration de grains, plus importante existe parfois sur le noyau de certaines cellules (fig. 38 d, e). Ces dernières ne peuvent pas être identifiées par la coloration au vert de méthyle-pyronine. Aussi du fait de l'hétérogénéité de la population des cellules hypophysaires, il est difficile de dire si un type cellulaire capte préférentiellement l'hormone. Cependant la proportion de cellules dexaméthasone-sensibles, semble indiquer que le marquage n'est pas confiné aux seules cellules corticotropes.

Les lobes postérieur et intermédiaire retiennent plus modérément le traceur que le lobe antérieur. Certains pituicytes présentent une accumulation de grains d'argent (fig. 38 f).

F I G U R E 38

a : Distribution des cellules marquées (représentées par des points noirs) dans le cerveau et l'hypophyse en coupe sagittale chez le rat après l'injection de dexaméthasone ³H.

ar : n. arqué - CA : commissure antérieure - CC : corps calleux - co : chiasma optique - dm : n. dorsomédian -
E : épiphyse - ha : aire hypothalamique - HI : hippocampe -
LA : lobe antérieur de l'hypophyse - PM : aire prémamillaire -
Th : thalamus - vm : n. ventromédian.

b : Radioautographie du n. arqué (G. X 670).

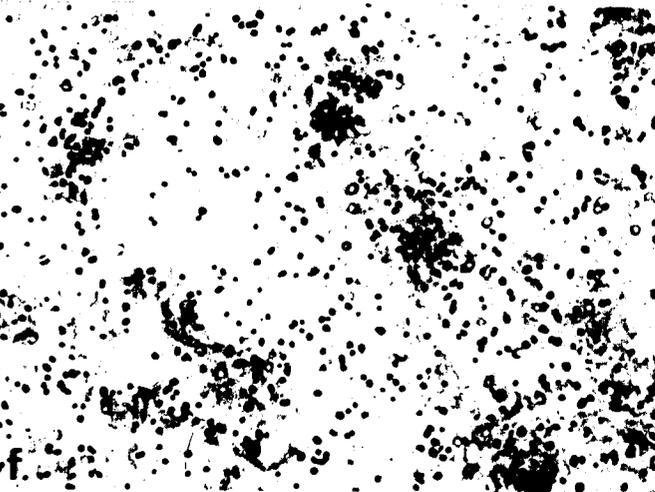
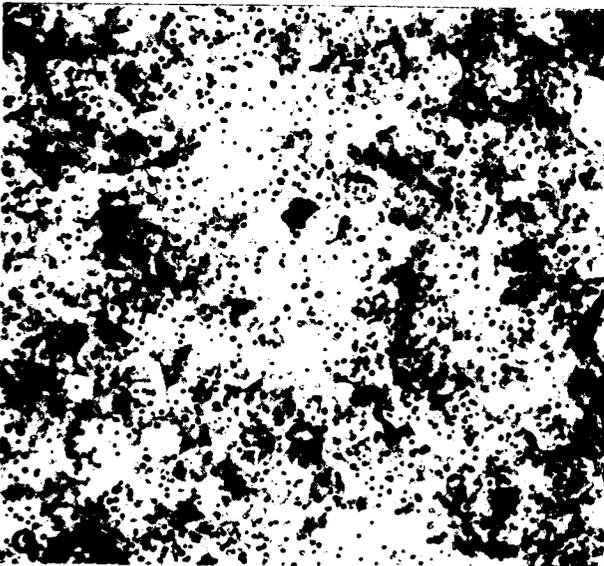
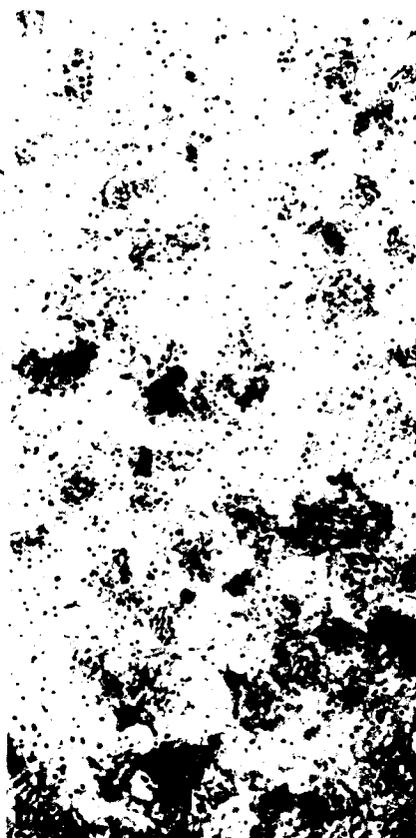
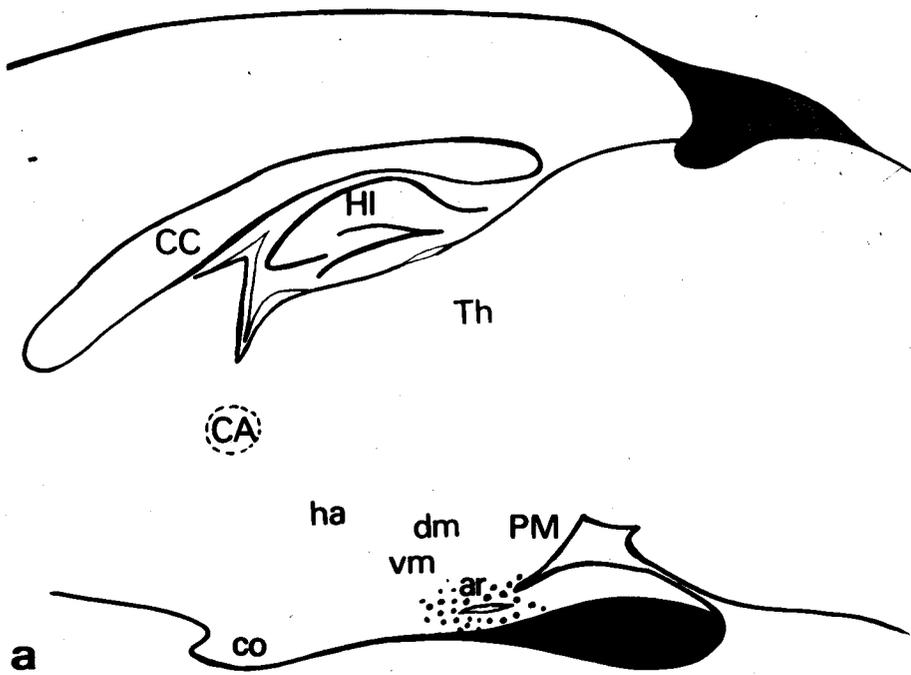
c, d, e : Radioautographies du lobe antérieur de l'hypophyse ;
c (G. X 830), d et e (G. X 1340).

Les flèches indiquent une concentration nucléaire des grains d'argent sur certaines cellules.

f : Radioautographie du lobe postérieur de l'hypophyse (G. X 1340).
Concentration des grains d'argent sur les pituicytes.

g : Radioautographie de l'épiphyse (G. X 830).





D I S C U S S I O N

La distribution régionale des récepteurs des glucocorticoïdes ^3H diffère considérablement de celle que nous avons décrite pour les récepteurs des hormones gonadiques.

La plus importante concentration de radioactivité après corticostérone ^3H , un glucocorticoïde naturel, se situe dans les neurones pyramidaux des champs CA_1 et CA_2 des cornes d'Ammon. Bien que l'hippocampe puisse intervenir dans le contrôle de la libération d'ACTH, nous nous attendions cependant à localiser des récepteurs dans l'hypothalamus où les effets des corticostéroïdes sur la sécrétion d'ACTH sont démontrés (DAVIDSON et Coll., 1968 ; GRIMM et KENDALL, 1968) (conférer tableaux IV à VI). Dans les expériences réalisées ensuite avec la dexaméthase ^3H , un glucocorticoïde de synthèse, nous n'avons pas constaté à notre grande surprise, de marquage sur l'hippocampe.

Avant de discuter nos résultats et de les comparer à ceux obtenus par d'autres auteurs chez divers mammifères, nous analyserons la nature du produit responsable de la réaction radioautographique. Nous tenterons ensuite d'expliquer par des données biochimiques le fait que les récepteurs de la corticostérone et ceux de la dexaméthasone soient localisés dans des régions différentes du cerveau et de l'hypophyse. Puis nous envisagerons brièvement le rôle éventuel des régions marquées par les glucocorticoïdes ^3H dans les mécanismes de régulation de l'axe hypophyse-surrénale.

I - NATURE DU PRODUIT RESPONSABLE DE LA REACTION RADIOAUTOGRAPHIQUE

1) Après injection de corticostérone ^3H

McEWEN et Coll. (1969, 1970) ont procédé à l'analyse chromatographique du produit retenu dans les différentes régions cérébrales chez le rat surrénalectomisé. Cette étude est faite une heure après l'injection de corticostérone, temps au bout duquel la concentration d'hormone radioactive dans les noyaux de l'hippocampe est maximale. Dans l'homogénat des régions marquées par radioautographie (hippocampe, amygdale, cortex) 70 à 80 % de la radioactivité correspondent à de l'hormone injectée. De plus, dans la fraction nucléaire de l'hippocampe, 90 % de la radioactivité appartiennent à de la corticostérone inchangée. Bien que le cerveau possède l'enzyme capable de convertir la corticostérone en 11 - déhydrocorticostérone (GROSSER, 1966), moins de 10 % du matériel radioactif extrait d'une quelconque région cérébrale atteignent la mobilité de la 11 - déhydrocorticostérone.

D'après ces données, le marquage obtenu sur nos radioautographies peut être attribué, en grande partie, à l'hormone tritiée sous sa forme initiale.

2) Après injection de dexaméthasone ^3H

La nature chimique du produit retenu dans le cerveau chez le rat après administration de dexaméthasone est identifiée par DE KLOET et Coll. (1974). Durant les quatre premières heures qui suivent l'injection, intraveineuse ou intraventriculaire, la radioactivité détectée correspond toujours au composé tritié inchangé. D'après ces auteurs, ce stéroïde est très peu métabolisé par le système nerveux central. Il semble qu'on puisse le rendre responsable de la réaction radioautographique visualisée par les grains d'argent sur nos radioautographies.

II - DISCUSSION ET COMPARAISON DE NOS RESULTATS AVEC CEUX OBTENUS DANS
D'AUTRES ESPECES

Chez le rat pour qui la corticostérone est le principal glucocorticoïde endogène, la radioautographie localise les récepteurs de ce stéroïde essentiellement dans des régions extra-hypothalamiques. La formation hippocampique (hippocampe précommissural, *indusium griseum*, corne d'Ammon, *gyrus dentatus*, *subiculum*) recèle la plus forte proportion de neurones marqués ; elle est suivie par le septum, l'amygdale et certaines zones du cortex. Ces observations corroborent celles de GERLACH et McEWEN (1972) qui démontrent par radioautographie une fixation nucléaire dans l'hippocampe. Elles sont confirmées par les travaux de STUMPF et SAR (1975 b) et RHEES et Coll. (1975 a) qui décrivent dans les mêmes régions une fixation nucléaire saturable par la corticostérone froide. Plus récemment, cette localisation des récepteurs est observée chez la souris (COUTARD et OSBORNE-PELLEGRIN, 1979). Elle est également retrouvée chez le singe rhésus après injection de corticostérone ^3H et aussi après cortisol ^3H (GERLACH et Coll., 1976 ; PFAFF et Coll., 1976). A l'exception d'une étude faite chez le canard (RHEES et Coll., 1972), encore peu d'espèces en dehors des mammifères ont fait l'objet d'une expérimentation à ce sujet. La présence de cellules marquées par la corticostérone ^3H dans l'hippocampe, le septum et l'amygdale est commune à l'ensemble des mammifères examinés. Ces structures extra-hypothalamiques communiquent entre elles et entretiennent des relations neuroanatomiques avec les régions hypothalamiques (voir fig. 10). Elles ont une origine ancienne dans l'évolution du système nerveux central.

Après injection de dexaméthasone ^3H chez le rat, la distribution de la radioactivité dans le cerveau est toute différente de celle observée après corticostérone ^3H . On note sur les radioautographies une importante rétention du composé radioactif dans le système ventriculaire et dans l'épiphyse, une fixation notable sur certaines cellules du n. arqué et importante sur les cellules antéhypophysaires. Ce

marquage, assez surprenant, est confirmé chez le rat par REES et Coll. (1975) et RHEES et Coll. (1975 b). Il est constaté ultérieurement chez la souris par COUTARD et Coll. (1978). REES et Coll. (1977) caractérisent dans le lobe antérieur de l'hypophyse les différents types cellulaires fixant la dexaméthasone ^3H , en combinant la radioautographie à la technique immunocytochimique utilisant divers anti-sérums. Les cellules les plus fortement marquées au niveau nucléaire sont les cellules élaborant l'ACTH.

L'importante quantité de grains d'argent qui subsiste dans la lumière des ventricules cérébraux, permet de penser qu'une des voies d'accès de la dexaméthasone dans le système nerveux est constituée par les plexus choroïdes et le liquide cérébro-spinal. Elle reflète aussi une vitesse de pénétration très lente du glucocorticoïde dans le cerveau. La dexaméthasone agit vraisemblablement sur les cellules endothéliales et périvasculaires, les plexus choroïdes et l'épendyme. Ces observations fournissent un critère anatomique à l'explication de ses effets sur la réduction des oedèmes cérébraux (ROVIT et HAGAN, 1968 ; BASS et LUNDBORG, 1973).

III - DEMONSTRATION BIOCHIMIQUE ET PROPRIETES DES RECEPTEURS DES GLUCOCORTICOIDES DANS LES REGIONS MARQUEES PAR RADIOAUTOGRAPHIE

1) Présence et propriétés des récepteurs dans le cerveau et l'hypophyse

Le marquage nucléaire observé sur les cellules nerveuses et hypophysaires avec les glucocorticoïdes ^3H résulte d'évènements cellulaires qui sont typiques des interactions stéroïde-cellule cible, en ce sens qu'un transfert séquentiel de l'hormone est mis en jeu du récepteur cytosoluble vers le compartiment nucléaire. La liaison des glucocorticoïdes ^3H au noyau dans la cellule intacte est dépendante de la température, elle est importante de 25 à 37°C et négligeable à 0°C, (MCEWEN et WALLACH, 1973).

Dans la fraction cytosoluble de l'hypophyse et des régions cérébrales marquées par radioautographie, des récepteurs de glucocorticoïdes ^3H sont identifiés. La valeur approximative de 7 S en gradient de densité de saccharose du coefficient de sédimentation est obtenue pour les récepteurs cytosolubles marqués par la dexaméthasone ^3H de l'hypophyse bovine (WATANABE, 1975). Chez le rat, les macromolécules réceptrices spécifiques de la corticostérone ^3H dans l'extrait cytosoluble du cerveau sont des protéines de poids moléculaire élevé (> 200.000). La liaison de haute affinité et de capacité limitée pour la corticostérone ^3H présente une constante de dissociation de l'ordre de $3,8 \times 10^{-9}$ M (GROSSER et Coll., 1971 ; DE KLOET et McEWEN, 1976 a et b). Lorsqu'il est marqué *in vivo* par la corticostérone ^3H , ce récepteur est abondamment précipité par le sulfate de protamine ; ce qui indique qu'il possède une charge négative (McEWEN et Coll., 1972 ; STEVENS et Coll., 1973). En fonction de cela et pour les raisons suivantes : sa sensibilité aux agents sulphydryls bloquants, sa présence après perfusion intense du cerveau, son pouvoir à lier les glucocorticoïdes synthétiques tels que la dexaméthasone, les récepteurs cytosolubles du cerveau chez le rat sont différents de la transcortine présente dans le sang (McEWEN et Coll., 1972 ; McEWEN et WALLACH, 1973 ; DE KLOET et Coll., 1975 ; DE KLOET et McEWEN, 1976 b).

2) Existe-t-il plusieurs populations de récepteurs des glucocorticoïdes dans l'hypophyse et le cerveau?

Une explication possible à la localisation régionale différente des cellules corticostérone-sensibles et dexaméthasone-sensibles chez le rat serait l'existence de plusieurs populations de récepteurs des glucocorticoïdes ; la spécificité du récepteur envers le stéroïde étant en rapport avec la distribution topographique. Cette possibilité a été envisagée par plusieurs chercheurs.

Les premières tentatives faites pour résoudre cette question ont rencontré des difficultés dues au fait que la liaison de la dexaméthasone ^3H et de la corticostérone ^3H aux récepteurs dans les régions de l'hippocampe, de l'hypothalamus et de l'hypophyse diffère *in vivo* et *in vitro* (DE KLOET et Coll., 1975). La divergence principale demeure dans la capacité de liaison de la corticostérone ^3H au noyau cellulaire *in vitro* qui est presque aussi élevée dans l'hypophyse que dans l'hippocampe. Certains résultats radioautographiques *in vivo* sont néanmoins en accord avec ceux obtenus *in vitro*. C'est le cas pour la liaison nucléaire de la dexaméthasone ^3H *in vitro* plus importante dans l'hypophyse que dans l'hippocampe et l'hypothalamus où elle est équivalente. De même, la capacité de liaison de la corticostérone ^3H *in vitro* dans l'hippocampe est supérieure à celle trouvée dans l'hypothalamus.

La fraction cytosoluble hypophysaire manifeste une capacité de liaison plus grande pour la corticostérone ^3H que pour la dexaméthasone ^3H ; le résultat inverse est obtenu pour l'extrait nucléaire (KOCH et Coll., 1975). Les données de travaux biochimiques récents que nous rapportons dans ce paragraphe permettent de clarifier ce qui se passe au niveau hypophysaire et fournissent des critères en faveur de l'existence possible de plusieurs populations de sites de liaison des glucocorticoïdes dans le cerveau et l'hypophyse.

a) Cytosol de l'hypophyse

L'extrait cytosoluble de pituitaire de rats surrénalectomisés perfusés fournit une macromolécule semblable à la transcortine qui est incapable de lier la dexaméthasone (KOCH et Coll., 1975 ; DE KLOET et McEWEN, 1976 a). De plus, la proportion de "transcortine-like" matériel est importante, comparée à la quantité faible de "receptor-like" macromolécules de poids moléculaire élevé mise en évidence. Cette dernière population de macromolécules, contrairement à la composante analogue à la transcortine, lie à la fois la dexaméthasone ^3H

et la corticostérone ^3H . Le complexe récepteur-hormone formé avec l'un ou l'autre des deux stéroïdes se lie au DNA-cellulose (DE KLOET et McEWEN, 1976 a) de la même façon que les complexes récepteur-glucocorticoïde dans le foie (KALAMI et Coll., 1975).

Chez le rat, les deux caractéristiques qui distinguent les récepteurs des glucocorticoïdes de l'hypophyse de ceux du cerveau sont les suivantes :

- Après surrénalectomie, le contenu en récepteurs cytosolubles dans l'hypophyse n'augmente pas à l'inverse de celui du cerveau,
- La concentration des récepteurs hypophysaires est constante dès les premiers jours de la vie tandis que dans le cerveau elle augmente entre la naissance et le quinzième jour (OLPE et McEWEN, 1976).

Ces macromolécules "transcortine-like" apparaissent dans le cytosol de l'hypophyse dans lequel toute présence détectable de sang circulant est éliminée par perfusion. Cela démontre que ces macromolécules sont, soit étroitement associées aux cellules hypophysaires dissociées, soit existantes à l'intérieur même de ces cellules (KOCH et Coll., 1976 ; DE KLOET et Coll., 1977). Le fait qu'elles ne se lient pas à la dexaméthasone, ni au DNA-cellulose, rejette la possibilité de les considérer comme un récepteur intracellulaire jouant un rôle de médiateur dans l'action exercée par les stéroïdes sur la sécrétion d'ACTH. Ces molécules se conduiraient plutôt comme un tampon envers la corticostérone circulante, intervenant en retardant la quantité de ce stéroïde capable de se lier au récepteur vrai. Cet effet serait plus prononcé *in vivo* lors d'une injection de corticostérone ^3H que *in vitro* car dans ce cas on peut parvenir à une concentration élevée et constante de corticostérone ^3H . Cela tendrait à justifier l'importante capacité de liaison au noyau cellulaire atteinte par la corticostérone ^3H *in vitro* dans les extraits hypophysaires (DE KLOET et Coll., 1975). Ce rôle hypothétique de la transcortine dans la régulation de l'accès de la corticostérone et non dans celui de la dexaméthasone aux sites récepteurs hypophysaires expliquerait la disponibilité des récepteurs intracellulaires envers la dexaméthasone ^3H chez des rats intacts avec des taux

de base normaux de corticostérone. Il contribuerait également à élucider l'action beaucoup plus puissante exercée par la dexaméthasone, comparativement à la corticostérone, sur la suppression de la sécrétion d'ACTH *in vivo*.

b) Cytosol du cerveau

Considérant l'existence possible de plusieurs sites de liaison pour les glucocorticostéroïdes dans le tissu nerveux, DE KLOET et Coll. (1975), DE KLOET et McEWEN (1976 b) suggèrent que la fraction cytosoluble de l'hippocampe contient deux populations légèrement différentes de récepteurs des glucocorticoides. Celles-ci se distinguent par les propriétés suivantes :

- L'activité de liaison des récepteurs pour la dexaméthasone ^3H , sans renouvellement du stéroïde, décline plus rapidement que l'activité de liaison pour la corticostérone ^3H .
- Dans les expériences de compétition, la corticostérone ^3H est largement déplacée par la corticostérone non marquée mais très peu par la dexaméthasone non radioactive. Par contre, la liaison de la dexaméthasone ^3H est supprimée dans les mêmes proportions par la corticostérone et la dexaméthasone non marquées. D'autres auteurs (STEVENS et Coll., 1975 ; ANDERSON et FANESTIL, 1976) signalent également, au cours d'expériences de compétition dans le cytosol du cerveau du rat, l'existence de plusieurs populations de récepteurs caractérisées par leurs affinités différentes envers les stéroïdes surrénaliens.
- Les complexes corticostérone ^3H et dexaméthasone ^3H formés avec les macromolécules cytosolubles dans l'hippocampe présentent après chromatographie un trajet d'élution différent en gradient de NaCl.
- L'isoélectrofocalisation des récepteurs cytosolubles du cerveau marqués par la dexaméthasone ^3H ou la corticostérone ^3H définit au moins deux composantes (focalisant avec un pI à pH 5,9 et 6,8 respectivement) qui se distinguent par leur affinité vis-à-vis des deux stéroïdes (MACLUSKY et Coll., 1977).

Ainsi, l'existence dans le cerveau de deux populations de récepteurs des glucocorticoïdes est mise en évidence chez le rat. Le problème n'est pas totalement résolu de savoir dans quelle mesure elles permettent d'expliquer les marquages aussi distincts obtenus entre l'hippocampe, l'hypothalamus et les autres régions cérébrales après injection de corticostérone ^3H et de dexaméthasone ^3H .

Dans le rein, la situation est assez semblable chez le rat. Trois populations de sites récepteurs pour les stéroïdes surrénaliens sont mises en évidence (FUNDER et Coll., 1973 a et b) : un type I préférant l'aldostérone, un type II préférant la dexaméthasone, un type III ressemblant à la transcortine du sérum préférant la corticostérone. Les récepteurs du type III sont localisés par radioautographie dans les tubes collecteurs du rein (STRUM et Coll., 1975).

IV - ROLE DES REGIONS MARQUEES PAR LES GLUCOCORTICOIDES ^3H DANS LES MECANISMES DE REGULATION DE L'AXE HYPOPHYSE-SURRENALE

1) Régions cérébrales

Des expériences de lésions, de stimulations, d'implantations de divers glucocorticoïdes au niveau des structures limbiques ont fait l'objet de nombreux travaux et les résultats sont souvent très controversés.

La fonction de base du système hypophyse-surrénale évaluée trois semaines après l'implantation de corticostérone dans les champs cellulaires CA_2 et CA_3 de la corne d'Ammon (mais pas dans le champ CA_1) et dans une partie du *gyrus dentatus* est facilitée chez le lapin (KAWAKAMI et Coll., 1968 b). SLUSHER (1966) observe que les valeurs de corticostérone plasmatique mesurées le matin sont augmentées après implantation de corticostérone dans l'hippocampe ventral chez le rat. Après implantation de cortisone, KNIGGE (1966) constate également un taux plus

élevé de corticostérone plasmatique évalué à un moment non spécifié de la journée. Des implantations bilatérales de cortisol dans l'hippocampe ventral, mais pas dorsal, accroissent la décharge d'ACTH basale ainsi que celle en réponse à une agression psychique (changement d'environnement) (BOHUS, 1975). Si l'on suppose que ces corticostéroïdes ainsi implantés agissent de façon physiologique, le résultat de ces expériences peut indiquer un rôle de "feedback positif" pour l'hippocampe. La présence d'un taux élevé de glucocorticoïde entraîne l'activation des mécanismes de l'hippocampe qui stimulent l'activité corticosurrénalienne.

L'effet de la stimulation électrique de l'hippocampe sur l'activité hypophyse-surrénale dépend de la fréquence de la stimulation et de l'état comportemental de l'animal. Pour ENDRÖCZI et LISSAK, (1962), la stimulation de l'hippocampe, à basse fréquence uniquement (12 à 36 Hz), empêche l'augmentation de l'activité hypophyse-surrénale consécutive à un stress tandis que des fréquences progressivement plus élevées n'ont pas d'effet (120 Hz) ou activent de façon significative (240 Hz) la réponse à une agression. Cependant, si les animaux sont habitués à la stimulation, la réponse ne sera pas influencée. KAWAKAMI et Coll. (1968 a) affirment que la stimulation pendant une heure des champs CA₂ et CA₃ de l'hippocampe dorsal augmente l'activité de l'axe hypophyse-surrénale chez le lapin dans les conditions basales. Par contre, l'activation du système hypophyse-surrénale induite par l'immobilisation est bloquée par la même stimulation. De même, la stimulation à basse fréquence (10 Hz) du *gyrus dentatus* chez le rat inhibe fortement l'augmentation de la corticostérone plasmatique consécutive à une entaille de la queue ou à une exposition au froid, (DUPONT et Coll., 1972). Pour la plupart des auteurs la stimulation de l'hippocampe supprime la réponse corticosurrénalienne au stress.

Un autre aspect de l'axe hypophyse-surrénale dans lequel l'hippocampe prédomine est la variation diurne de la décharge d'ACTH. La persistance d'une corticostéronémie constante après implantation de cortisol dans l'hippocampe abolit le rythme nycthéral d'ACTH

(SLUSHER, 1966) ce qui témoigne d'une influence possible des glucocorticoïdes dans le maintien de ce cycle circadien. Des lésions de l'hippocampe ou des destructions de ses afférences ou de ses efférences tendent à annuler le rythme normal de la sécrétion hypophysaire. Après section du *fornix* le taux des glucocorticoïdes plasmatiques, normalement bas le matin, atteint celui de la fin de la journée (NAKADATE et DE GROOT, 1963 ; MOBERG et Coll., 1971). ENDRÖCZI (1972) reporte des changements similaires chez le rat après lésions septales rostrales ou ablation chirurgicale de l'hippocampe. Bien que ces résultats soient remis en question par plusieurs auteurs (WILSON et CRITCHLOW, 1973 / 1974 ; LENGVARI et HALASZ, 1973) et que l'origine nerveuse de cette variation diurne ne soit pas exactement connue, il est probable que les fibres afférentes à l'hippocampe et particulièrement le *fornix* ont un rôle modulateur sur ce rythme nyctéméral. En accord avec la fonction régulatrice présumée des corticostéroïdes dans la variation journalière de l'activité nerveuse, PFAFF et Coll. (1971) obtiennent un abaissement de l'activité unitaire des neurones de l'hippocampe dorsal après injection intraveineuse de corticostérone. Cette diminution après un départ souvent lent, se manifeste pendant au moins trois heures après l'injection. Il est possible qu'elle soit provoquée par des changements métaboliques dans la cellule, induits par l'hormone, qui durent plus longtemps que le taux d'hormone circulante.

On peut se demander si les glucocorticoïdes affectent directement l'activité fonctionnelle du système septum-hippocampe ou si les influences de l'hippocampe sur les autres régions cérébrales dépendent de l'"état hormonal" de ces autres structures. De nombreux chercheurs constatent des modifications dans l'orientation de l'effet de la stimulation cérébrale locale sur la sécrétion d'ACTH, en fonction de la corticostéronémie au moment de la stimulation. Quand les taux sanguins sont bas, la stimulation augmente la sécrétion de corticostéroïdes ; quand les niveaux sont élevés, elle ne produit aucun changement ou diminue la sécrétion. Cela peut signifier que le résultat de l'effet de la stimulation cérébrale sur la sécrétion d'ACTH en présence de glucocorticoïdes

est opposé à celui produit lors de la stimulation en leur absence. Cette variation de l'effet de la stimulation suivant la teneur en glucocorticoïdes est observée non seulement quand elle est appliquée dans l'hippocampe (KAWAKAMI et Coll., 1968 a) mais également dans l'amygdale (MATHE-SON et Coll., 1971). Comme ces régions présentent des similitudes quant à leurs afférences et à leurs efférences, ces observations reflètent peut-être une modalité commune à ces structures. En dépit des corrélations avec les taux de glucocorticoïdes plasmatiques, le rapport de cause à effet entre l'hormone et le résultat de la stimulation n'est pas parfaitement établi.

2) Hypophyse

De nombreux travaux démontrent que les glucocorticoïdes synthétiques tels que la dexaméthasone exercent une action inhibitrice sur la sécrétion d'ACTH au repos ou induite par un stress en agissant principalement au niveau hypophysaire (DE WIED, 1964 ; SMELIK et PAPAI-KONOMOU, 1973 ; DE KLOET et Coll., 1974). La dexaméthasone provoque la suppression de la décharge d'hormone corticotrope dans les cellules hypophysaires *in vitro* par un processus qui implique une synthèse d'A.R.N. dépendante de l'A.D.N. (ARIMURA et Coll., 1969). On peut penser qu'une corrélation existe entre le marquage nucléaire de la dexaméthasone et le mécanisme de libération de l'ACTH. Cependant à partir d'hypophyses incubées avec des extraits purifiés de CRH et soumises à la dexaméthasone, KOCH et Coll., (1974) dissocient les processus de synthèse et de décharge de l'hormone corticotrope. Ils observent après un traitement prolongé par la dexaméthasone une inhibition à la fois de la biosynthèse et de la décharge d'ACTH tandis qu'un traitement à court terme supprime la libération de l'hormone hypophysaire mais n'altère pas sa synthèse *de novo*.

La corticostérone est beaucoup moins active que la dexaméthasone dans la suppression de la décharge d'ACTH *in vivo*. Dans les cellules hypophysaires de rats surrénalectomisés depuis une période assez longue, le taux d'ACTH induit par le CRH est élevé comparativement

à celui enregistré dans les cellules de rats intacts (SAYERS et PORTANOVA, 1974). Ainsi la corticostérone semble exercer une influence de contrôle à long terme sur la sécrétion de l'hormone corticotrope. L'actinomycine D empêche la corticostérone d'exercer *in vitro* son pouvoir inhibiteur sur la sécrétion d'ACTH dans des cellules hypophysaires préparées à partir de rats surrénalectomisés mais n'a pas d'influence lorsque ces cellules proviennent de rats intacts (PORTANOVA et SAYERS, 1974). Ces auteurs suggèrent la formation d'un facteur cellulaire induit par la corticostérone avec lequel l'hormone agirait par la suite pour supprimer la sécrétion d'ACTH. Cette hypothèse pourrait expliquer les résultats de KOCH et Coll. (1974) obtenus avec la dexaméthasone.

CONCLUSION DE LA QUATRIEME PARTIE

L'analyse radioautographique révèle chez le rat après injection de corticostérone ^3H , le principal glucocorticoïde endogène, des cellules marquées au niveau nucléaire dans plusieurs structures extra-hypothalamiques : l'hippocampe, le septum, l'amygdale et certaines régions du cortex. Par contre, après injection de dexaméthasone ^3H , un glucocorticoïde de synthèse, la radioactivité est préférentiellement concentrée dans l'hypothalamus médio-basal et l'hypophyse ainsi qu'au niveau des ventricules, des organes circumventriculaires et des plexus choroïdes. Comparativement à la corticostérone, la dexaméthasone ^3H pénètre beaucoup plus lentement dans le cerveau. Il est possible que ce stéroïde rencontre des difficultés à passer la barrière hémato-encéphalique et que la principale voie d'accès devienne le système ventriculaire. Cette hypothèse est étayée par la présence de nombreux grains d'argent sur les plexus choroïdes et les organes circumventriculaires.

La réaction radioautographique visualisée par les grains d'argent est probablement due en grande partie aux glucocorticoïdes injectés car le métabolisme de ces stéroïdes dans le cerveau est peu important.

On peut tenter d'expliquer la différence observée dans la localisation des cellules corticostérone-sensibles et des cellules dexaméthasone-sensibles par les résultats biochimiques. Ces derniers démontrent l'existence d'au moins deux classes de sites récepteurs des glucocorticoïdes se distinguant par leur distribution régionale et leur spécificité envers le stéroïde.

Les informations relatives à des changements biochimiques consécutifs à une liaison nucléaire de corticostéroïde au niveau des régions marquées sont peu nombreuses. MÜHLEN et OCKENFELS (1969) re-

marquent un accroissement de la taille des noyaux des neurones pyramidaux de l'hippocampe après injection intraveineuse de cortisone chez le cobaye. Ces augmentations suggèrent des effets au niveau du génome. Une autre constatation, moins directe, de ces effets est le changement constaté dans l'incorporation de cytidine à l'A.R.N. qui se produit dans l'hippocampe durant l'apprentissage d'un travail impliquant un stress (BOWMAN et STROBEL, 1969 ; KOTTLER et Coll., 1972). Ces auteurs n'ayant cependant pas effectué cette étude chez des rats surrénalectomisés, le rôle des surrénales dans ces changements n'est pas établi.

Il est évident que la régulation de certaines enzymes du cerveau passe par un effet des glucocorticoïdes au niveau du génome. C'est le cas de la glycérphosphate déshydrogénase qui est induite par les corticostéroïdes à la fois dans le cerveau (DE VELLIS et INGLISH, 1968) et dans les cellules gliales en culture chez le rat (DE VELLIS et Coll., 1971). L'induction de cette enzyme par le cortisol est bloquée par l'actinomycine D dans la culture de tissu (DE VELLIS et Coll., 1971). Ces résultats ont soulevé le problème de l'existence de récepteurs des glucocorticoïdes dans les cellules gliales. Il a été montré récemment que ces cellules contenaient une seule population de récepteurs avec un point isoélectrique de 5,9 correspondant à celle qui lie préférentiellement la dexaméthasone ^3H dans le cerveau (McEWEN, 1979). La radioautographie n'apporte pas de preuve à ces données car les glucocorticoïdes ^3H n'apparaissent pas être sélectivement retenus dans les cellules gliales du cerveau. Cependant, nous avons récemment mis en évidence une fixation spécifique nucléaire dans les cellules gliales du ganglion cervical supérieur chez le rat après injection de dexaméthasone ^3H (WAREMBOURG et Coll., 1979).

Bien que l'existence d'une relation réciproque entre les systèmes septum-hippocampe et hypophyse-surrénale soit évidente, l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien et sa régulation par l'hippocampe pose un problème très complexe. Les mécanismes de contrôle de la sécrétion corticotrope ne reflètent pas l'activité d'une seule région

nerveuse mais apparaissent mettre en jeu un ensemble de structures du système nerveux central. De plus, le système septum-hippocampe, avec sa structure bien organisée n'a pas une fonction "unitaire" dans la régulation de la sécrétion corticosurrénalienne mais peut manifester à la fois des propriétés facilitantes et inhibitrices. L'amygdale est aussi impliquée dans cette régulation mais là aussi il y a désaccord sur les modalités de son action qui peut être soit stimulante, soit inhibitrice.

La réponse de l'axe hypophyse-surrénale à des changements de milieu externe est modifiée par l'hippocampe. Cette région est considérée comme une structure clef dans le contrôle des fluctuations journalières de la sécrétion d'ACTH, dans l'activité nerveuse relative au sommeil paradoxal et dans certaines réponses comportementales, accompagnant la peur par exemple, qui sont associées avec la sécrétion d'ACTH.

L'aspect endocrine du rétrocontrôle des corticostéroïdes qui s'exerce au niveau des neurones marqués, se manifeste en modulant la réponse hypophyse-surrénale aux stimuli d'environnement et vraisemblablement en contrôlant la rythmicité circadienne de ce système endocrine, mais, comporte aussi probablement des effets comportementaux, ou autres, dans lesquels les structures nerveuses sont des cibles "directes" et non seulement des sites de rétroaction.

CONCLUSION GENERALE

Nous avons, à l'aide de la technique historadioautographique spécifique pour la détection des substances solubles, étudié la distribution topographique des cellules stéroïdo-sensibles au niveau d'organes cibles chez plusieurs mammifères. Les stéroïdes tritiés, injectés par voie sous-cutanée, appartiennent à deux catégories d'hormones : des hormones gonadiques (l'oestradiol, la progestérone et un progestagène de synthèse : le R5020) et des hormones glucocorticoïdes (la corticostérone, et un glucocorticoïde de synthèse : la dexaméthasone). En plus du système nerveux central et de l'hypophyse qui sont les organes cibles préférentiellement étudiés pour chaque hormone, le tractus génital a été examiné pour les progestagènes.

La technique radioautographique utilisée permet de visualiser les cellules cibles des stéroïdes en maintenant en place des associations moléculaires complexes compatibles avec une conservation morphologique satisfaisante des tissus. La technique que nous utilisons a été initialement décrite par APPLETON (1964, 1966, 1967, 1968). Nous l'avons adaptée à la détection des récepteurs des stéroïdes. Elle est basée sur l'emploi de coupes effectuées au cryostat qui sont déposées sur des lames émulsionnées et séchées. Cette méthode exclut les principales sources de diffusion et permet de préserver la liaison non covalente stéroïde-macromolécule puisque les préparations sont maintenues à basse température (- 20°C) et qu'aucun solvant n'est utilisé.

Cependant la radioautographie ne donne pas de renseignement sur la nature du produit détecté ; aussi, est-il indispensable de confronter nos résultats avec ceux obtenus par des méthodes biochimiques.

La localisation radioautographique des stéroïdes à l'échelle ultrastructurale, qui pourrait apporter des précisions sur les modalités d'action des hormones au niveau du génome, rencontre encore quelques difficultés techniques. Par contre, les essais de détection immunocytochimique des stéroïdes après cryo-ultramicrotomie viennent de donner des résultats prometteurs (MOREL et Coll., 1979).

La localisation neuroanatomique des cellules fixant l'oestradiol ^3H a été décrite chez la souris, le cobaye et le singe écureuil, ovariectomisés. Les cellules marquées sont généralement observées dans des régions bien individualisées du cerveau et dans l'hypophyse. Les trois zones principales d'accumulation nerveuse centrale de radioactivité sont la région préoptico-striale (aire préoptique, n. interstitiel de la strie terminale), l'hypothalamus médio-basal (n. arqué, n. ventromédian, n. prémillaire ventral) et l'aire amygdalienne (n. médian, basal et cortical). La distribution des cellules marquées se retrouve chez les rongeurs comme chez les primates suivant un trajet septo-préoptico-hypothalamique. Cette disposition est d'ailleurs constatée par d'autres auteurs chez plusieurs espèces de vertébrés. Ces régions marquées appartiennent à des structures phylogénétiquement anciennes du cerveau.

La fixation de progestagènes ^3H a été étudiée dans le système nerveux central, l'hypophyse et le tractus génital chez le cobaye après injection de progestérone ^3H et chez le rat après injection de R5020 ^3H (promégestone). Ce progestagène de synthèse a l'avantage de se lier sélectivement aux récepteurs de la progestérone, alors que

l'hormone naturelle peut aussi se fixer à des protéines plasmatiques. Il nous a permis de localiser chez le rat les récepteurs de la progestérone. Cette étude est la première à avoir été effectuée en radioautographie.

Chez ces animaux ovariectomisés et soumis aux oestrogènes, le marquage au niveau du système nerveux central se limite essentiellement à deux régions : l'aire préoptique (organe vasculaire de la lame terminale, n. préoptique périventriculaire, *pars* suprachiasmatic) et l'hypothalamus médio-basal (n. périventriculaire, n. arqué). Dans l'hypophyse, certaines cellules du lobe antérieur retiennent le traceur. Ces cellules cibles sont localisées dans des aires répondant à l'oestradiol ^3H . Cela peut laisser supposer qu'un même neurone est capable de fixer à la fois l'oestradiol ^3H et les progestagènes ^3H .

Dans l'utérus, nous avons montré pour la première fois en historadioautographie une fixation spécifique de progestérone ^3H chez le cobaye et de R5020 ^3H chez le rat. Les différents types cellulaires retiennent les progestagènes avec une intensité plus ou moins forte. Les cellules de la couche externe du myomètre et du stroma de l'endomètre sont plus fortement marquées que celles des épithéliums glandulaire et de surface.

Dans le vagin du rat, les cellules musculaires retiennent modérément le R5020 ^3H tandis que les petites cellules du chorion et celles de la couche basale de l'épithélium sont plus fortement marquées.

MILGROM et Coll. (1972b) ont montré que le taux des récepteurs de la progestérone évoluait au cours du cycle oestral chez le cobaye avec une concentration maximale en prooestrus. Nous avons effectué une analyse radioautographique des différentes populations cellulaires impliquées dans ces variations. Le marquage observé est maximal en prooestrus et minimal en dioestrus sur les cellules du myomètre et du

stroma de l'endomètre de l'utérus ainsi que sur les cellules épithéliales du vagin. Ces changements quantitatifs de récepteurs se produisent simultanément dans tous les types cellulaires des organes cibles considérés (cornes utérines, endocol, vagin). Il apparaît vraisemblable que les mécanismes qui contrôlent la concentration en récepteurs sont identiques dans les différentes catégories cellulaires. Cette étude est la première démonstration radioautographique qui mette en évidence ces variations cycliques de récepteurs.

La distribution topographique des sites de fixation de la corticostérone ³H et de la dexaméthasone ³H a été établie dans le système nerveux central et l'hypophyse chez le rat mâle surrénalectomisé. La localisation des neurones corticostérone-sensibles est essentiellement extra-hypothalamique et se révèle très différente de celle des cellules oestrogéno-sensibles. Les principales régions marquées sont l'hippocampe (hippocampe précommissural, *indusium griseum*, cornes d'Ammon, *gyrus dentatus*, *subiculum*) le septum (n. septal latéral et dorsal), l'amygdale (n. basal, n. cortical, aire de transition cortico-amygdalienne) et certaines régions du cortex.

Au contraire, après injection de dexaméthasone ³H ces régions extra-hypothalamiques ne sont pas marquées, la radioactivité étant principalement concentrée dans l'hypophyse, l'hypothalamus médio-basal et les régions bordant les ventricules. Cette différence dans la localisation des cellules marquées par la corticostérone ³H et la dexaméthasone ³H peut s'expliquer par l'existence de plusieurs populations de récepteurs des glucocorticoïdes dans le cerveau et l'hypophyse.

Ces résultats montrent que la réponse du cerveau aux hormones stéroïdes n'est pas topographiquement uniforme mais que les zones sensibles sont localisées dans certaines régions bien individualisées. Des

différences frappantes apparaissent dans la topographie des cellules fixant les hormones gonadiques (oestradiol, progestérone, promégestone) et celle des cellules retenant les hormones glucocorticoïdes (corticos-térone et dexaméthasone) ou minéralocorticoïdes étudiée par d'autres auteurs (ERMISCH et RUHLE, 1978). Ces observations suggèrent une certaine spécialisation chimique du système nerveux central vis-à-vis d'un type d'hormone mais dans les conditions actuelles, il est impossible d'établir si certains neurones possèdent des récepteurs pour plusieurs catégories de stéroïdes.

Dans les régions qui, par radioautographie, révèlent des cellules stéroïdo-sensibles, la présence de protéines réceptrices cytosolubles a été démontrée par des méthodes biochimiques. Injectée par voie intraveineuse, l'hormone radioactive est retrouvée dans l'extrait nucléaire purifié des cellules de ces régions. La fixation nucléaire obtenue sur nos radioautographies témoigne de la translocation du complexe hormone-récepteur vers le noyau. L'activité de certains gènes peut donc être modulée par des signaux hormonaux.

Ces différents stéroïdes influencent les mécanismes nerveux intervenant dans le comportement et la fonction neuroendocrine chez les vertébrés adultes. Les effets spécifiques qu'ils provoquent, comme l'activation du comportement par les stéroïdes sexuels, ont été mis en évidence au cours d'expériences de lésions, de stimulations ou d'implantations cérébrales d'hormones. La plupart des régions répondant à ces diverses interventions se superposent, dans de nombreux cas, aux aires renfermant des cellules stéroïdo-sensibles pour lesquelles des récepteurs intracellulaires ont été mis en évidence. D'après le temps de réponse lent et les effets durables des actions exercées, ces hormones agissent vraisemblablement au niveau du génome.

Le stéroïde qui atteint le noyau cellulaire des neurones adultes déclenche un signal qui augmente ou diminue l'activité des gènes. Il affecte probablement la fonction cellulaire en stimulant

la synthèse d'ARN et de protéines puisque son action est inhibée par des agents qui bloquent la synthèse protéique. On peut se demander quel est le résultat de cette action hormonale au niveau du génome sur les cellules nerveuses. Plusieurs hypothèses peuvent être envisagées. Le produit qui théoriquement procède de cette action peut être transporté aux terminaisons axonales et en fait, fonctionner comme un neurotransmetteur ou comme un modulateur local de la synthèse et/ou de la décharge des neurotransmetteurs. Il peut aussi modifier le potentiel de membrane et après un transport axonal ou dendritique peut participer à des événements pré ou post-synaptiques. Ou encore, le résultat de l'action hormonale peut être la modulation d'une enzyme ou d'un cofacteur qui peut entraîner une réaction en chaîne aboutissant à l'élaboration d'un nouveau produit de sécrétion ou au renouvellement de protéines réceptrices. Ainsi, par ces divers moyens, l'hormone est capable d'influencer le fonctionnement de circuits nerveux établis au cours du développement et qui sont impliqués dans la régulation des fonctions neuroendocrines et de comportements spécifiques.

La distribution topographique des cellules stéroïdo-sensibles constitue un substrat anatomique important pour l'étude des actions hormonales sur la fonction cérébrale mais il reste à démontrer comment les effets exercés par ces stéroïdes sont intégrés au niveau des circuits nerveux et comment les actions relatives aux divers événements endocriniens et comportementaux sont déclenchées et transmises. Nous avons noté que les régions stéroïdo-sensibles entretenaient entre elles des relations neuroanatomiques mais les circuits mobilisés dans le déroulement de ces actions ne sont pas fixés avec précision. Si l'on considère le rôle des stéroïdes sur la fonction neuroendocrine, les connexions engagées dans les processus d'action doivent être plus particulièrement celles reliant l'aire préoptique et l'hypothalamus à la tige hypophysaire. Il ne faut cependant pas oublier les projections des structures limbiques stéroïdo-sensibles telles que l'amygdale, le septum et l'hippocampe qui ont un impact important sur la sécrétion hypophysaire. Par contre,

si l'on envisage les effets des stéroïdes sur le comportement, des circuits nerveux plus longs sont vraisemblablement mis en jeu, reliant les neurones stéroïdo-sensibles du système limbique-hypothalamique aux neurones moteurs de la moëlle épinière qui exécutent l'acte comportemental.

Dans la période pendant laquelle l'hormone induit la réponse neuroendocrine ou comportementale il semble évident qu'une modification neurochimique survienne au niveau du système nerveux central qui affecte un aspect important de la fonction du neurone (synthèse de neurotransmetteurs, de libérines ou de statines, apport d'énergie, utilisation de neurotransmetteurs). Il serait intéressant de rechercher le changement neurochimique consécutif à une action hormonale qui correspond à un évènement neuroendocrine ou comportemental particulier.

Si l'action d'un stéroïde au niveau du génome, illustrée par le marquage nucléaire obtenu sur nos radioautographies, engendre les évènements dont nous venons de parler, il faut souligner que certains effets des hormones sur la fonction nerveuse ne sont pas compatibles avec une modification de la transcription génétique et de la synthèse des protéines impliquées dans les réponses classiques. Il a été récemment montré en collaboration avec le laboratoire du Professeur BAULIEU qu'une micro-iontophorèse d'oestradiol - 7 α - acide butyrique au niveau des neurones septaux et préoptiques chez le cobaye déclenche dans un délai de l'ordre de la seconde des modifications de l'activité électrique de ces cellules (CARETTE et Coll., 1979). Selon ces auteurs, cette réponse résulterait d'une interaction entre l'oestrogène acide et la membrane des neurones. Ce pourrait également être le cas dans l'inhibition de la décharge pulsatile de LH par l'oestradiol ; cet effet qui apparaît immédiatement après l'administration intraveineuse du stéroïde est pratiquement identique à celui obtenu après injection d'un agent bloquant α -adrénergique : la phénoxybenzamine (BLAKE, 1974 ; KNOBIL, 1974). Ces effets rapides et peu durables du stéroïde s'expliquent dif-

ficilement par une intervention du génome mais plutôt par une action de l'hormone sur la membrane pré ou post-synaptique. Cette action pourrait entraîner une variation dans la perméabilité membranaire aux neurotransmetteurs ou à leurs précurseurs et/ou modifier le fonctionnement des récepteurs des neurotransmetteurs. Il serait particulièrement intéressant de pouvoir dissocier les effets hormonaux qui résultent d'une intervention au niveau du matériel génétique de ceux qui proviennent d'une action déclenchée à la surface des cellules. Il ne semble pas que les techniques d'historadioautographie puissent apporter dans l'immediat une contribution spécifique dans ce débat. Toutefois, on peut concevoir des protocoles très élaborés qui pourraient, théoriquement, permettre d'aborder ce problème.

BIBLIOGRAPHIE

- AIYER M.S., CHIAPPA S.A. and FINK G. (1974) - A priming effect of luteinizing hormone-releasing factor on the anterior pituitary gland in the female rat.
J. Endocrinol., 62, 573-588.
- ALBERGA A. et BAULIEU E.E. (1965) - Concentration élective de l'oestradiol dans l'endomètre chez la ratte.
C. R. Acad. Sci., Paris, 261, 5226-5228.
- ANDERSON N.S. and FANESTIL D.D. (1976) - Corticoid receptors in rat brain : evidence for an aldosterone receptor.
Endocrinology, 98, 676-684.
- ANDERSON C.H. and GREENWALD G.S. (1969) - Autoradiographic analysis of estradiol uptake in the brain and pituitary of the female rat.
Endocrinology, 85, 1160-1165.
- ANDERSON J.N., PECK E.J. and CLARK J.H. (1973) - Nuclear receptor estrogen complex : accumulation, retention and localization in the hypothalamus and pituitary.
Endocrinology, 93, 711-717.
- APPLETON T.C. (1964) - Autoradiography of soluble labeled compounds.
J. Roy. Micro. Soc., 83, 277-281.
- APPLETON T.C. (1966) - Resolving power, sensitivity and latent image fading of soluble compound autoradiographs.
J. Histochem. Cytochem., 14, 414-420.
- APPLETON T.C. (1967) - Storage of frozen materials for cryostat sectioning and soluble compound autoradiography.
J. Roy. Micro. Soc., 87, 489-492.
- APPLETON T.C. (1968) - The application of autoradiography to the study of soluble compounds.
Acta Histochemica, suppl. 8, 115-133.
- ARIMURA A., BOWERS C.Y., SCHALLY A.V., SAITO M. and MILLER M.C. (1969) - Effect of corticotropin-releasing factor, dexamethasone and actinomycin D on the release of ACTH from rat pituitaries *in vivo* and *in vitro*.
Endocrinology, 85, 300-311.
- ARIMURA A. and SCHALLY A.V. (1971) - Augmentation of pituitary responsiveness to LH-releasing hormone (LH-RH) by oestrogen.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 136, 290-293.
- ASCHHEIM S. and ZONDEK B. (1927) - Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon im Harn von Schwangeren.
Klin. Wochenschr., 6, 1322.
- ASCHNER B. (1912) - Über die Beziehungen zwischen Hypophysis und Genitale.
Arch. Gynäkol., 97, 200-228.
- ATGER M., BAULIEU E.E. and MILGROM E. (1974) - An investigation of progesterone receptors in the guinea pig vagina, uterine cervix, mammary glands, pituitary and hypothalamus.
Endocrinology, 94, 161-167.

- ATKINSON L.E., BHATTACHARYA A.N., MONROE S.E., DIERSCHKE D.J. and KNOBIL E. (1970) - Effects of gonadectomy on plasma LH concentrations in the rhesus monkey.
Endocrinology, 87, 847-849.
- ATTRAMADAL A. (1970 a) - Cellular localization of ^3H - oestradiol in the hypothalamus. An autoradiographic study in male and female rats.
Z. Zellforsch., 104, 572-581.
- ATTRAMADAL A. (1970 b) - Cellular localization of ^3H - oestradiol in the hypophysis. An autoradiographic study in male and female rats.
Z. Zellforsch., 104, 597-614.
- ATTRAMADAL A. and AAKWAAG A. (1970) The uptake of ^3H - oestradiol by the anterior hypophysis and hypothalamus of male and female rats.
Z. Zellforsch., 104, 582-596.
- BALDWIN D.M., RAMIREZ V.D. and SAWYER C.H. (1974) - Pituitary responsiveness to LH RH in short term ovariectomized rats given a single injection of estrogen.
Fed. Proc., 33, 212 (abstract).
- BARRACLOUGH C.A. and GORSKI R.A. (1961) - Evidence that the hypothalamus is responsible for androgen-induced sterility in the female rat.
Endocrinology, 68, 68-70.
- BARRACLOUGH C.A., YRARRAZAVAL S. and HATTON R. (1964) - A possible hypothalamic site of action of progesterone in the facilitation of ovulation in the rat.
Endocrinology, 75, 838-845.
- BARRY J. (1976) - Immunohistochemical localization of hypothalamic hormones (especially LRF) at the light microscopy level.
Dans : Hypothalamus and endocrine functions. LABRIE F., MEITES J. & PELLETIER G. (eds). Plenum Publ. Corp., pp 451-473.
- BARRY J. (1978) - Septo-epithalamo-habenular LRF-reactive neurons in monkeys.
Brain Res., 151, 183-187.
- BARRY J. (1979 a) - Immunofluorescence study of the preoptico-terminal LRH tract in the female squirrel monkey during the estrous cycle.
Cell Tiss. Res., 198, 1-13.
- BARRY J. (1979 b) - Immunohistochemistry of luteinizing hormone - releasing hormone.
Internat. Rev. Cytol., 60, 179-221.
- BARRY J. and CARETTE B. (1975) - Immunofluorescence study of LRF neurons in primates.
Cell Tiss. Res., 164, 163-178.
- BARRY J. and DUBOIS M.P. (1976) - Immunoreactive LRF neurosecretory pathways in mammals.
Acta Anat., 94, 497-503.

- BARRY J., DUBOIS M.P. and CARETTE B. (1974) - Immunofluorescence study of the preoptic-infundibulaire LRF neurosecretory pathway in the normal, castrated or testosterone-treated male guinea pig. *Endocrinology*, 95, 1416-1423.
- BARRY J., DUBOIS M.P., POULAIN P. et LEONARDELLI J. (1973 a) - Caractérisation et topographie des neurones hypothalamiques immunoréactifs avec des anticorps anti-LRF de synthèse. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 276, 3191-3193.
- BARRY J., DUBOIS M.P. and POULAIN P. (1973 b) - LRF producing cells of the mammalian hypothalamus. A fluorescent antibody study. *Z. Zellforsch.*, 146, 351-366.
- BARRY J., POULAIN P. et CARETTE B. (1976) - Systématisation et efférences des neurones à LRH chez les primates. *Ann. Endocrinol.*, 37, 227-234.
- BASS N.H. and LUNDBORG P. (1973) - Cerebral edema : the effects of dexamethasone during brain maturation in the rat. *Arch. Neurol. (Chic.)*, 29, 151-157.
- BAULIEU E.E. (1974) - Etudes sur le mode d'action des hormones stéroïdes sexuelles : métabolisme au niveau des organes cibles et liaison à des protéines spécifiques. *Cours et Documents de Biologie, GORDON et BREACH, Paris*, volume 7, 141pp.
- BAULIEU E.E. (1976) - Récepteurs des stéroïdes et "réceptivité" hormonale. *Ann. Biol. Clin.*, 34, 341-349.
- BAULIEU E.E. (1978 a) - Current approaches to steroid hormone-cell interactions. Dans : *Principles for the central regulation of the endocrine system. Nobel Symposium 42, Stockholm.*
- BAULIEU E.E. (1978 b) - Hormones. Aspects fondamentaux et physio-pathologiques. HERMANN. Editeurs des Sciences et des Arts, Paris. 549 pp.
- BAULIEU E.E., ALBERGA A. et JUNG I. (1967) - Liaison de divers oestrogènes à des protéines utérines. Une méthode de dosage de l'oestradiol. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 265, 501-504.
- BAULIEU E.E., ALBERGA A., JUNG I., LEBEAU M.C., MERCIER-BODARD C., MILGROM E., RAYNAUD J.P., RAYNAUD-JAMMET C., ROCHEFORT H., TRUONG H. and ROBEL P. (1971) - Metabolism and protein binding of sex steroids in target organs : an approach to the mechanism of hormone action. *Recent Prog. Horm. Res.*, 27, 351-419.
- BAUMGARTEN H.G. and LACHENMEYER L. (1974) - Indolamine - containing nerve terminals in the rat median eminence. *Z. Zellforsch.*, 147, 285-292.

- BENOIT J. et ASSENMACHER I. (1955) - Le contrôle hypothalamique de la sécrétion gonadotrope préhypophysaire.
J. Physiol., Paris, 47, 427-567.
- BERTHOLD A.A. (1849) - Transplantation der Hoden.
Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med., 16, 42-46.
- BILLIARD R. and McDONALD P.G. (1973) - Inhibition of ovulation in the rat by intrahypothalamic implants of anti-estrogen.
J. Endocrinol., 56, 585-590.
- BLAKE C.A. (1974) - Localization of the inhibitory actions of ovulation blocking drugs on the release of luteinizing hormone in ovariectomized rats.
Endocrinology, 95, 999-1004.
- BLAKE C.A., WEINER R.I., GORSKI R.A. and SAWYER C.H. (1972) - Secretion of pituitary luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in female rats made persistently estrous or diestrous by hypothalamic deafferentation.
Endocrinology, 90, 855-861.
- BLAUSTEIN J.D. and WADE G.N. (1977) - Sequential inhibition of sexual behavior by progesterone in female rats : comparison with a synthetic anti-oestrogen.
J. Comp. Physiol. Psychol., 91, 752-760.
- BLAUSTEIN J.D. and WADE G.N. (1978) - Progestin binding by brain and pituitary cell nuclei and female rat sexual behavior.
Brain Res., 140, 360-367.
- BOGDANOVA E.M. (1963)-Direct gonad-pituitary feedback : an analysis of effects of intracranial estrogenic depots on gonadotropin secretion.
Endocrinology, 73, 696-712.
- BOHUS B. (1968) - Pituitary ACTH release and avoidance behavior of rats with cortisol implants in mesencephalic reticular formation and median eminence.
Neuroendocrinology, 3, 355-365.
- BOHUS B. (1975) - The hippocampus and the pituitary-adrenal system hormones.
Dans : the hippocampus, ISAACSON R.L. & PRIBRAM K.H. (Eds). Plenum Press, New York, volume 1, pp 323-353.
- BOHUS B. and STRASHIMIROV D. (1970) - Localization and specificity of corticosteroid "feedback receptors" at the hypothalamo-hypophysial level ; comparative effects of various steroids implanted in the median eminence or the anterior pituitary of the rat.
Neuroendocrinology, 6, 197-209.
- BOLING J.L. and BLANDAU R.J. (1939) - The estrogen-progesterone induction of mating responses in the spayed female rat.
Endocrinology, 25, 359-364.

- BOWMAN R.E. and STROBEL D.A. (1969) - Brain RNA metabolism in the rat during learning.
J. Comp. Physiol. Psychol., 67, 448-456.
- BRAINBRIDGE J.G. and LABHSETWAR A.P. (1971) - The role of oestrogens in spontaneous ovulation : location of site of action of positive feedback of oestrogen by intracranial implantation of the anti-oestrogen I.C.I. 46474.
J. Endocrinol., 50, 321-327.
- BRAWER J.R. (1971) - The role of the arcuate nucleus in the brain-pituitary gonad axis.
J. Comp. Neurol., 143, 411-416.
- BRAWER J.R. and SONNENSCHNEIN C. (1975) - Cytopathological effects of estradiol on the arcuate nucleus of the female rat. A possible mechanism for pituitary tumorigenesis.
Amer. J. Anat., 144, 57-87.
- BRIAUD B., ENJALBERT A., MIALHE C. and KORDON C. (1974) - Subcellular distribution of corticotropin-releasing factor in the medio-basal hypothalamus of the rat.
Neuroendocrinology, 28, 371-376.
- BROWN-GRANT K. and RAISMAN F. (1977) - Abnormalities in reproductive function associated with the destruction of the suprachiasmatic nuclei in female rats.
Proc. R. Soc. Lond. (Biol.), 198, 267-278.
- BUSH I.E. (1953) - Species differences in adrenocortical secretion.
J. Endocrinol., 9, 95-100.
- BUTLER J.E.M. and DONOVAN B.T. (1971) - The effects of surgical isolation of the hypothalamus upon reproduction in the female guinea pig.
J. Endocrinol., 50, 507-514.
- CALIGARIS L., ASTRADA J.J. and TALEISNIK S. (1971 a) - Release of luteinizing hormone induced by estrogen injection into ovariectomized rats.
Endocrinology, 88, 810-815.
- CALIGARIS L., ASTRADA J.J. and TALEISNIK S. (1971 b) - Biphasic effect of progesterone on the release of gonadotropin in rats.
Endocrinology, 89, 331-337.
- CARETTE B., BARRY J., LINKIE D., FERIN M., MESTER J. et BAULIEU E.E. (1979) Effets de l'"oestradiol - 7 α - acide butyrique" au niveau de cellules hypothalamiques.
C. R. Acad. Sci., Paris, 288, 631-634.
- CARMEL P.W., ARAKI S. and FERIN M. (1976) - Pituitary stalk portal blood collection in rhesus monkeys : Evidence for pulsatile release of gonadotropin-releasing hormone (Gn-RH).
Endocrinology, 99, 243-248.

CASTRO-VAZQUEZ A. and McCANN S.M. (1975) - Cyclic variations in the increased responsiveness of the pituitary to luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) induced by LH-RH.
Endocrinology, 97, 13-19.

CHENG Y.J. and KARAVOLAS H.J. (1973) - Conversion of progesterone to 5 α - pregnane - 3,20 - dione and 3 α - hydroxy - 5 α - pregnan - 20 - one by rat medial basal hypothalamus and the effects of estradiol and stage of estrous cycle on the conversion.
Endocrinology, 93, 1157-1162.

CHI C.C. (1970 a) - Afferent connections to the ventromedial nucleus of the hypothalamus in the rat.
Brain Res., 17, 439-445.

CHI C.C. (1970 b) - An experimental silver study of the ascending projections of the central gray substance and adjacent tegmentum in the rat with observations in the cat.
J. Comp. Neurol., 139, 259-272.

CLARK J.H., CAMPBELL P.S. and PECK E.J. Jr. (1972) - Receptor-estrogen complex in the nuclear fraction of the pituitary and hypothalamus of male and female immature rats.
Neuroendocrinology, 77, 218-228.

CLEMENS J.A., SHAAR C.J. and SMALSTIG E.B. (1972) - Effects of electrical stimulation of the hypothalamus on LH release in steroid-treated rats.
Neuroendocrinology, 10, 175-182.

CLEMENS J.A., SMALSTIG E.B. and SAWYER B.D. (1976) - Studies on the role of the preoptic area in the control of reproductive function in the rat.
Endocrinology, 99, 728-735.

CONRAD L.C.A. and PFAFF D.W. (1976 a) - Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat. I - An autoradiographic study of the medial preoptic area.
J. Comp. Neurol., 169, 185-220.

CONRAD L.C.A. and PFAFF D.W. (1976 b) - Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat. II. An autoradiographic study of the anterior hypothalamus.
J. Comp. Neurol., 169, 221-262.

COOPER D.M.F., SYNETHOS D., CHRISTIE R.B. and SCHULSTER D. (1976) - Studies on the nature of corticotrophin releasing hormone and its partial purification from porcine hypothalamus.
J. Endocrinol., 71, 171-172.

CORBIN A., MANGILI G., MOTTA M. and MARTINI L. (1965) - Effect of hypothalamic and mesencephalic steroid implantations on ACTH feedback mechanisms.
Endocrinology, 76, 811-818.

CORVOL P., FALK R., FREIFELD M. and BARDIN C.W. (1972) - *In vitro* studies of progesterone binding proteins in guinea pig uterus. *Endocrinology*, 90, 1464-1469.

COUTARD M. and OSBORNE-PELLEGRIN M.J. (1979) - Autoradiographic studies of a glucocorticoid agonist and antagonist : localization of ³H-corticosterone and ³H-cortexolone in mouse brain. *Cell Tiss. Res.*, 197, 531-538.

COUTARD M., OSBORNE-PELLEGRIN M.J. and FUNDER J.W. (1978) - Tissue distribution and specific binding of tritiated dexamethasone *in vivo* : autoradiographic and cell fractionation studies in the mouse. *Endocrinology*, 103, 1144-1152.

COWAN W.M., RAISMAN G. and POWELL T.P.S. (1965) - The connexions of the amygdala. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 28, 137-151.

CRITCHLOW V. (1963) - The role of light in the neuroendocrine system. Dans : *Advances in neuroendocrinology*, NALBANDOV A.V. (Ed.) Urbana : University of Illinois Press, pp 377-402.

DAANE T.A. and PARLOW A.F. (1971) - Periovulatory patterns of rat serum follicle stimulating hormone and luteinizing hormone during the normal estrous cycle as revealed by radioimmunoassays. *Endocrinology*, 88, 653-663.

DAIKOKU S., MATSUMURA H. and SCHINOHARA Y. (1976) - Efferent projection of the nucleus praeopticus medialis to the median eminence in rats. *Neuroendocrinology*, 21, 130-138.

DAVIDSON J.M. and FELDMAN S. (1963) - Cerebral involvement in the inhibition of ACTH secretion by hydrocortisone. *Endocrinology*, 72, 936-946.

DAVIDSON J.M. and FELDMAN S. (1967) - Effects of extrahypothalamic dexamethasone implants on the pituitary-adrenal system. *Acta endocrinol.*, 55, 240-246.

DAVIDSON J.M., JONES L.E. and LEVINE S. (1968) - Feedback regulation of adrenocorticotropin secretion in "basal" and "stress" conditions : Acute and chronic effects of intrahypothalamic corticoid implantation. *Endocrinology*, 82, 655-663.

DAVIS R.E., MORRELL J.I. and PFAFF D.W. (1977) - Autoradiographic localization of sex steroid-concentrating cells in the brain of the teleost *Macropodus opercularis* (Osteichthyes : Belontiidae). *Gen. Comp. Endocrin.*, 33, 496-505.

De KLOET E.R., BURBACH P. and MULDER G.H. (1977) - Localization and role of transcortin-like molecules in the anterior pituitary. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 7, 261-273.

De KLOET E.R. and McEWEN B.S. (1976 a) - A putative glucocorticoid receptor and a transcortin-like macromolecule in pituitary cytosol. *Biochim. Biophys. Acta*, 421, 115-123.

- DUBOIS M.P. et KOLODZIEJCZYK E. (1975) - Centres hypothalamiques du rat sécrétant de la somatostatine : répartition des péricaryons en systèmes magno et parvocellulaires (étude immunocytologique).
C. R. Acad. Sci., Paris, 281, 1737-1740.
- "
DUPONT A., BASTARACHE E., ENDROCZI E. and FORTIER C. (1972) - Effect of hippocampal stimulation on the plasma thyrotropin (TSH) and corticosterone responses to acute cold exposure in the rat.
Can. J. Physiol. Pharmacol., 50, 364-367.
- EATON G.G., GOY R.W. and RESKO J.A. (1975) - Brain uptake and metabolism of estradiol benzoate and estrous behavior in ovariectomized guinea pigs.
Horm. Behav., 6, 81-97.
- EDWARDS D.A., WHALEN R.E. and NADLER R.D. (1968) - Induction of estrus : estrogen-progesterone interactions.
Physiol. Behav., 3, 29-33.
- EISENFELD A.J. and AXELROD A. (1965) - Selectivity of estrogen distribution in tissues.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 15, 469-475.
- EISENFELD A.J. (1967) - Estradiol binding sites in the hypothalamus.
Fed. Proc., 26, 365 (abstract).
- EISENFELD A.J. (1970) - ^3H - estradiol : *In vitro* binding to macromolecules from the rat hypothalamus, anterior pituitary and uterus.
Endocrinology, 86, 1313-1326.
- EISENFELD A.J. and AXELROD J. (1966) - Effect of steroid hormones, ovariectomy, estrogen pretreatment, sex and immaturity on the distribution of ^3H - estradiol.
Endocrinology, 79, 38-42.
- EISENFELD A.J. and AXELROD J. (1967) - Evidence for estradiol binding sites in the hypothalamus. Effect of drugs.
Biochim. Pharmac., 16, 1781-1785.
- "
ELDE R.P., HOKFELT J., JOHANSSON O. and TERENIUS L. (1976) - Immunohistochemical studies using antibodies to leucine-enkephaline : initial observations on the nervous system of the rat.
Neuroscience, 1, 349-351.
- ELDE R.P. and PARSONS J.A. (1975) - Immunocytochemical localization of somatostatin in cell bodies of the rat hypothalamus.
Am. J. Anat., 144, 541-548.
- EMMERS R. and AKERT K. (1963) - A stereotaxic atlas of the brain of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*).
The University of Wisconsin Press, Madison, 102 pp.
- "
ENDROCZI E. (1972) - Limbic system, learning and pituitary-adrenal function.
Budapest : Akademiae kiado, 154 pp.

- ENDRÖCZI E. and LISSÁK K. (1962) - Interrelations between paleocortical activity and pituitary-adrenocortical function.
Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., 21, 257-263.
- ENDRÖCZI E., LISSÁK K. and TEKERES (1961) - Hormonal feedback regulation of pituitary-adrenocortical activity.
Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., 18, 291-299.
- ERMISCH A. and RÜHLE H.J. (1978) - Autoradiographic demonstration of aldosterone-concentrating neuron populations in rat brain.
Brain Res., 147, 154-158.
- EVERETT J.W. (1948) - Progesterone and estrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the estrous cycle in the rat.
Endocrinology, 43, 389-405.
- EVERETT J.W. and SAWYER C.H. (1950) - A 24-hour periodicity in the "LH - release apparatus" of female rats, disclosed by barbiturate sedation.
Endocrinology, 47, 198-218.
- EVERITT B.J., FUXE K. and HOKFELT T. (1974) - Inhibitory role of dopamine and 5 - hydroxytryptamine in the sexual behavior of female rats.
Eur. J. Pharmacol., 29, 187-191.
- FABER L.E., SANDMANN M.L. and STAVELY H.E. (1973) - Progesterone and corticosterone binding in rabbit uterine cytosols.
Endocrinology, 93, 74-80.
- FALK R.J. and BARDIN C.W. (1970) - Uptake of tritiated progesterone by the uterus of the ovariectomized guinea pig.
Endocrinology, 86, 1059-1063.
- FEDER H.H. and MARRONE B.L. (1977) - Progesterone : its role in the central nervous system as a facilitator and inhibitor of sexual behavior and gonadotropin release.
Ann. NY Acad. Sci., 286, 331-354.
- FEDER H.H., RESKO J.A. and GOY R.W. (1968 a) - Progesterone concentrations in the arterial plasma of guinea pigs during the oestrus cycle.
J. Endocrinol., 40, 505-513.
- FEDER H.H., RESKO J.A. and GOY R.W. (1968 b) - Progesterone levels in the arterial plasma of pre-ovulatory and ovariectomized rats.
J. Endocrinol., 41, 563-569.
- FEDER H.H., SIEGEL H. and WADE G.N. (1974) - Uptake of (6,7-³H) estradiol 17-β in ovariectomized rats, guinea pigs and hamsters : correlation with species differences in behavioral responsiveness to estradiol.
Brain Res., 71, 93-103.
- FEIL P.D. and BARDIN C.W. (1975) - Cytoplasmic and nuclear progesterone receptors in the guinea pig uterus.
Endocrinology, 97, 1398-1407.

- FEIL P.D., GLASSER S.R., TOFT D.O. and O'MALLEY B.W. (1972) - Progesterone binding in the mouse and rat uterus. *Endocrinology*, 91, 738-746.
- FERIN M., ANTUNES J.L., ZIMMERMAN E.A., DYRENFURTH I., FRANTZ A.G., ROBINSON A. and CARMEL P.W. (1977) - Endocrine function in female rhesus monkeys after hypothalamic disconnection. *Endocrinology*, 101, 1611-1620.
- FERIN M., CARMEL P.W., ZIMMERMAN E.A., WARREN M., PEREZ R. and VAN DE WIELE R.L. (1974) - Location of intrahypothalamic estrogen responsive sites influencing LH secretion in the female rhesus monkey. *Endocrinology*, 95, 1059-1068.
- FERIN M., ROSENBLATT H., CARMEL P.W., ANTUNES J.L. and VAN DE WIELE R.L. (1979) - Estrogen-induced gonadotropin surges in female rhesus monkeys after pituitary stalk section. *Endocrinology*, 104, 50-52.
- FERLAND L., DROUIN J. and LABRIE F. (1976) - Role of sex steroids on LH and FSH secretion in the rat. Dans : *Hypothalamus and Endocrine Functions*. LABRIE F., MEITES J., and PELLETIER G. (Eds), Plenum Press, New York, pp 191-209.
- FISHMAN J. and NORTON B. (1975) - Catechol estrogen formation in the central nervous system of the rat. *Endocrinology*, 96, 1054-1059.
- FITZGERALD P.J. (1961) - "Dry" mounting autoradiographic technique for intracellular localization of water-soluble compounds in tissue sections. *Lab. Invest.*, 10, 846-856.
- FITZGERALD P.J., ORD M.G., and STOCKEN L.A. (1961) - A "dry" mounting autoradiographic technique for the localization of water-soluble compounds. *Nature*, 189, 55-56.
- FLERKO B. and SZENTAGOTTHAI J. (1957) - Oestrogen-sensitive neurons structures in the hypothalamus. *Acta Endocrinol. (Kbh)*, 26, 121-127.
- FOX T.O. and JOHNSTON C.J. (1974) - Estradiol receptors from mouse brain and uterus : binding to D.N.A. *Brain Res.*, 77, 330-336.
- FREIFELD M.L., FEIL P.D. and BARDIN C.W. (1974) - The *in vivo* regulation of the progesterone "receptor" in guinea pig uterus : dependence on estrogen and progesterone. *Steroids*, 23, 93-103.
- FUNDER J.W., FELDMAN D. and EDELMAN I.S. (1973 a) - The roles of plasma binding and receptor specificity in the mineralocorticoid action of aldosterone. *Endocrinology*, 92, 994-1004.

- FUNDER J.W., FELDMAN D. and EDELMAN I.S. (1973 b) - Glucocorticoid receptors in rat kidney : the binding of tritiated-dexamethasone. *Endocrinology*, 92, 1005-1013.
- " " "
FUXE K., HOKFELT T., LOFSTROM A., JOHANSSON O., AGNATI L., EVERITT B., GOLDSTEIN M., JEFFCOATE S., WHITE N., ENEROTH P., GUSTAFSSON J.A. and SKETT P. (1976) - On the role of neurotransmitters and hypothalamic hormones and their interaction in hypothalamic and extrahypothalamic control of pituitary function and sexual behavior. Dans : *Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology*. NAFTOLIN E., RYAN K.J. & DAVIES I.J. (Eds), Elsevier Scientific Publ. Comp. Amsterdam, pp 193-246.
- GAY V.L., MIDGLEY A.R., and NISWENDER G.D. (1970) - Patterns of gonadotrophin secretion associated with ovulation. *Fed. Proc.*, 29, 1880-1887.
- GERLACH J.L. and McEWEN B.S. (1972) - Rat brain binds adrenal steroid hormone : Radioautography of hippocampus with corticosterone. *Science*, 175, 1133-1136.
- GERLACH J.L., McEWEN B.S., PFAFF D.W., MOSKOVITZ S., FERIN M., CARMEL P.W. and ZIMMERMAN E.A. (1976) - Cells in regions of rhesus monkey brain and pituitary retain radioactive estradiol, corticosterone and cortisol differentially. *Brain Res.*, 103, 603-612.
- GIROD C. (1968) - *Leçons sur les glandes endocrines*. S.I.M.E.P. éditions, Lyon, 336 pp. (2ème édition 1979, actuellement sous presse).
- GLASCOCK R.F. and HOEKSTRA W.G. (1959) - Selective accumulation of tritium-labelled hexoestrol by the reproductive organs of immature female goats and sheep. *Biochem. J.*, 72, 673-682.
- GOLDBERG J.M. and MOORE R.Y. (1967) - Ascending projections of the lateral lemniscus in the cat and monkey. *J. Comp. Neurol.*, 129, 143-156.
- GOODMAN R.L. (1978) - The site of the positive feedback action of estradiol in the rat. *Endocrinology*, 102, 151-159.
- GORSKI J., TOFT D., SHYAMALA G., SMITH D. and NOTIDES A. (1968) - Hormone receptors : studies on the interaction of estrogen with the uterus. *Recent Prog. Horm. Res.*, 24, 45-80.
- GOY R.W. and PHOENIX C.H. (1965) - Inhibitory actions of progesterone. *Amer. Zool.*, 5, 725 (abs.).
- GOY R.W., PHOENIX C.H. and YOUNG W.C. (1966) - Inhibitory action of the corpus luteum on the hormonal induction of estrous behavior in the guinea pig. *Gen. Comp. Endocrin.*, 6, 267-275.

GRANT L.D. and STUMPF W.E. (1973) - Localization of ³H-estradiol and catecholamines in identical neurons in the hypothalamus.
J. Histochem. Cytochem., 21, 404 (abstract).

GRANT L.D. and STUMPF W.E. (1975) - Hormone uptake sites in relation to CNS biogenic amine systems.
Dans : Anatomical neuroendocrinology. STUMPF W.E. & GRANT L.D. (Eds)
Karger, Basel, pp 445-463.

"
GRAY G.D., SODERSTEN P., TALLENTIRE D. and DAVIDSON J.M. (1978) - Effects of lesions in various structures of the suprachiasmatic-preoptic region on LH regulation and sexual behavior in female rats.
Neuroendocrinology, 25, 174-191.

GRIMM Y. and KENDALL J.W. (1968) - A study of feedback suppression of ACTH secretion utilizing glucocorticoid implants in the hypothalamus : the comparative effects of cortisol, corticosterone and their 21-acetates.
Neuroendocrinology, 3, 55-63.

GROSSER B.I. (1966) - 11 β -hydroxysteroid metabolism by mouse brain and glioma 261.
J. Neurochem., 13, 475-478.

GROSSER B.I., STEVENS W., BRUENGER F.W. and REED D.J. (1971) - Corticosterone binding in rat brain cytosol.
J. Neurochem., 18, 1725-1732.

GUILLERY R.W. (1956) - Degeneration in the postcommissural fornix and the mamillary peduncle of the rat.
J. Anat., 90, 350-370.

GUILLERY R.W. (1957) - Degeneration in the hypothalamic connexions of the albino rat.
J. Anat., 91, 91-115.

HALASZ B. and GORSKI R.A. (1967) - Gonadotropic hormone secretion in female rats after partial or total interruption of neural afferents to the medial basal hypothalamus.
Endocrinology, 80, 608-622.

HAMILTON B.L. and SKULTETY M. (1970) - Efferent connections of the periaqueductal gray matter in the cat.
J. Comp. Neurol., 139, 105-114.

"
HANSEN S. and SODERSTEN P. (1978) - Effects of subcutaneous implants of progesterone on the induction and duration of sexual receptivity in ovariectomized rats.
J. Endocrinol., 77, 373-379.

HEIMER L. (1968) - Synaptic distribution of centropetal and centrifugal nerve fibres in the olfactory system of the rat. An experimental anatomical study.
J. Anat., 103, 413-432.

- HEIMER L. and NAUTA W.J.H. (1969) - The hypothalamic distribution of the stria terminalis in the rat.
Brain Res., 13, 284-297.
- HESS D.L., WILKINS R.H., MOSSY J., CHANG J.L., PLANT T.M., McCORMACK J.T., NAKAI Y. and KNOBIL E. (1977) - Estrogen-induced gonadotropin surges in decerebrated female rhesus monkeys with medial basal hypothalamic peninsulae.
Endocrinology, 101, 1264-1277.
- HOFFMAN G.E., MELNYK V., HAYES T., BENNETT-CLARKE C. and FOWLER E. (1978) - Immunocytochemistry of LH RH neurons.
Dans : Brain-endocrine interaction. III. Neural hormones and reproduction. SCOTT D.E., KOZLOWSKI G.P. & WEINDL A. (Eds) Karger, Basel, pp 67-82.
- HOHLWEG W. und JUNKMANN K. (1932) - Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion des Hypophysenvorderlappens.
Klin. Wochenschr., 11, 321-323.
- "
HOKFELT T., ELDE R.P., JOHANSSON O., TERENIUS L. and STEIN L. (1977) - Distribution of enkephaline-like immunoreactivity in the rat central nervous system. I. Cell bodies.
Neuroscience Letters, 5, 25-31.
- HOSKINS R.G. (1949) - Sex-hormone relationships in schizophrenic men.
Psychosom. Med., 11, 102-109.
- IRAMAIN C.A., DANZO B.J., STROTT C.A. and TOFT D.O. (1973) - Progesterone binding in the hypothalamus and hypophysis of female guinea pigs and rabbits.
Dans : Proc. IV Int. Congr. Int. Soc. Psychoneuroendocrinol., University of California - Berkeley, Abstract. p. 5.
- JACKSON G.L. (1972) - Effect of actinomycin D on estrogen-induced release of luteinizing hormone in ovariectomized rats.
Endocrinology, 91, 1284-1287.
- JACKSON G.L. (1973) - Time interval between injection of estradiol benzoate and LH release in the rat and effect of actinomycin D or cycloheximide.
Endocrinology, 93, 887-891.
- JACKSON G.L. (1975) - Blockage of progesterone-induced release of LH by intrabrain implants of actinomycin D.
Neuroendocrinology, 17, 236-244.
- JACOBOWITZ D.M. and PALKOVITS M. (1974) - Topographic atlas of catecholamine and acetylcholine esterase-containing neurons in the rat brain.
J. Comp. Neurol., 157, 13-28.
- JENSEN E.V. and JACOBSON H.I. (1962) - Basic guides to the mechanism of estrogen action.
Recent. Prog. Horm. Res., 18, 387-408.

JENSEN E.V., SUZUKI T., KAWASHIMA T., STUMPF W.E., JUNGBLUT P.W. and De SOMBRE E.R. (1968) - A two-step mechanism for the interaction of estradiol with rat uterus.

Proc. natl. Acad. Sci. U.S.A., 59, 632-638.

JEWELWICZ R., FERIN M., VAN DE WIELE R.L., DYRENFURTH I. and WARREN M. (1974) - Active immunization to 17β -estradiol and its effects upon the reproductive cycle of the rhesus monkey.

Fert. Steril., 25, 290-291.

JOHN P.N. and ROGERS A.W. (1972) - The distribution of (^3H)progesterone and (^3H)megestrol acetate in the uterus of the ovariectomized rat.

J. Endocrinol., 53, 375-387.

KAASJAGER W.A., WOODBURY D.M., VAN DIETEN J.A.M.J. and VAN REES G.P. (1971) - The role played by the preoptic region and the hypothalamus in spontaneous ovulation and ovulation induced by progesterone.

Neuroendocrinology, 7, 54-64.

KAHWANAGO I., HEINRICHS W.L. and HERRMANN W.L. (1970) - Estradiol "receptors" in hypothalamus and anterior pituitary gland: inhibition of estradiol binding by SH-group blocking agents and clomiphene citrate.

Endocrinology, 86, 1319-1326.

KALIMI M., COLMAN P. and FEIGELSON P. (1975) - The "activated" hepatic glucocorticoid-receptor complex.

J. Biol. Chem., 250, 1080-1086.

KALRA S.P. (1975) - Studies on the site(s) of blockade by actinomycin-D of estrogen-induced LH release.

Neuroendocrinology, 18, 333-344.

KALRA S.P. and McCANN S.M. (1975) - The stimulatory effect on gonadotropin release of implants of estradiol or progesterone in certain sites in the central nervous system.

Neuroendocrinology, 19, 289-302.

KARAVOLAS H.J. and NUTI K.M. (1976) - Progesterone metabolism by neuroendocrine tissues.

Dans : Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology. NAFTOLIN F., RYAN K.J. & DAVIES I.J. (Eds). Elsevier, Amsterdam, pp 305-326.

KARSCH F.J., DIERSCHKE D.J., WEICK R.F., YAMAJI T., HOTCHKISS J. and KNOBIL E. (1973 a) - Positive and negative feedback control by estrogen of luteinizing hormone secretion in the rhesus monkey.

Endocrinology, 92, 799-804.

KARSCH F.J., WEICK R.F., BUTLER W.R., DIERSCHKE D.J., KREY L.C., WEISS G., HOTCHKISS J., YAMAJI T. and KNOBIL E. (1973 b) - Induced LH surges in the rhesus monkey: strength-duration characteristics of the estrogen stimulus.

Endocrinology, 92, 1740-1747.

KARSCH F.J., WEICK R.F., HOTCHKISS J., DIERSCHKE D.J. and KNOBIL E. (1973 c) - An analysis of the negative feedback control of gonadotropin secretion utilizing chronic implantation of ovarian steroids in ovariectomized rhesus monkeys.

Endocrinology, 93, 478-486.

- KATO J. (1975) - The role of hypothalamic and hypophyseal 5 α - dihydrotestosterone, estradiol and progesterone receptors in the mechanism of feedback action.
J. Steroid Biochem., 6, 979-987.
- KATO J., ATSUMI Y. and INABA M. (1970 a) - Soluble estradiol receptor in rat anterior hypophysis.
J. Biochem. (Tokyo), 68, 759-761.
- KATO J., ATSUMI Y. and MURAMATSU M. (1970 b) - Nuclear estradiol receptor in rat anterior hypophysis.
J. Biochem. (Tokyo), 67, 871-872.
- KATO J. and ONOUCHI T. (1977) - Specific progesterone receptors in the hypothalamus and anterior hypophysis of the rat.
Endocrinology, 101, 920-928.
- KATO J., ONOUCHI T. and OKINAGA S. (1978) - Hypothalamic and hypophysial progesterone receptors : estrogen-priming effect, differential localization, 5 α - dihydroprogesterone binding and nuclear receptors.
J. Steroid Biochem., 9, 419-427.
- KATO J. and VILLEE C.A. (1967 a) - Preferential uptake of estradiol by the anterior hypothalamus of the rat.
Endocrinology, 80, 567-575.
- KATO J. and VILLEE C.A. (1967 b) - Factors affecting uptake of estradiol - 6,7 - 3 H by the hypophysis and hypothalamus.
Endocrinology, 80, 1133-1138.
- KAWAKAMI M. and KIMURA F. (1975) - Possible roles of CNS estrogen-neuron systems in the control of gonadotropin release.
Dans : Anatomical neuroendocrinology. STUMPF W.E. & GRANT L.D. (Eds) Karger, Basel, pp 216-231.
- KAWAKAMI M. and KIMURA F. (1976) - Limbic - preoptic responses to estrogens and catecholamines in relation to cyclic LH secretion.
Dans : Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology. NAFTOLIN F, RYAN K.J. & DAVIES I.J. (Eds), Elsevier Scientific Publ. Comp. Amsterdam, pp 423-452.
- KAWAKAMI M., KONDA N. and YOSHIOKA E. (1977) - Stimulatory feedback action of estradiol and estrone on LH release in the ovariectomized rat : role different between limbic system and preoptic area.
Endocr. jap., 19, 449-459.
- KAWAKAMI M. and SAWYER C.H. (1959) - Neuroendocrine correlates of change in brain activity thresholds by sex steroids and pituitary hormones.
Endocrinology, 65, 652-668.
- KAWAKAMI M., SETO K., TERASAWA E., YOSHIDA K., MIYAMOTO T., SEKIGUCHI M., and HATTORI Y. (1968 a) - Influence of electrical stimulation and lesion in limbic structure upon biosynthesis of adrenocorticoid in the rabbit.
Neuroendocrinology, 3, 337-348.

- KAWAKAMI M., SETO K. and YOSHIDA K. (1968 b) - Influence of corticosterone implantation in limbic structures upon biosynthesis of adrenocortical steroid.
Neuroendocrinology, 3, 349-354.
- KAWAKAMI M., TERASAWA E., and IBUKI T. (1970) - Changes in multiple unit activity of the brain during the estrous cycle.
Neuroendocrinology, 6, 30-48.
- KAWAKAMI M., YOSHIOKA E., KONDA N., ARITA J. and VISESSUVAN S. (1978) Data on the sites of the stimulatory feedback action of gonadal steroids indispensable for luteinizing hormone release in the rat.
Endocrinology, 102, 791-798.
- KEEFER D.A. and STUMPF W.E. (1975 a) - Estrogen-concentrating cells in the brain of the tree shrew.
Gen. Comp. Endocrin., 26, 504-516.
- KEEFER D.A. and STUMPF W.E. (1975 b) - Atlas of estrogen-concentrating cells in the central nervous system of the squirrel monkey.
J. Comp. Neurol., 160, 419-442.
- KEEFER D.A., STUMPF W.E. and PETRUSZ P. (1976) - Quantitative autoradiographic assessment of ^3H -estradiol uptake in immunocytochemically characterized pituitary cells.
Cell Tiss. Res., 166, 25-35.
- KELLEY D.B., LIEBERBURG I., McEWEN B.S. and PFAFF D.W. (1978) - Autoradiographic and biochemical studies of steroid hormone-concentrating cells in the brain of *Rana pipiens*.
Brain Res., 140, 287-305.
- KENDALL J.W. and ALLEN C.W. (1968) - Studies on the glucocorticoid feedback control of ACTH secretion.
Endocrinology, 82, 397-405.
- KENDALL J.W., GRAY D.K. and GAUDETTE N.D. (1976) - Corticotropin releasing factor (CRF) activity in rat plasma.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 152, 691-694.
- KIM Y.S., SAR M. and STUMPF W.E. (1979 a) - Estrogen target cells in the pituitary of Platyfish, *Xiphophorus maculatus*.
Cell Tiss. Res., 198, 435-440.
- KIM Y.S., STUMPF W.E. and SAR M. (1979 b) - Topographical distribution of estrogen target cells in the forebrain of platyfish, *Xiphophorus maculatus* studied by autoradiography.
Brain Res., 170, 43-60.
- KIM Y.S., STUMPF W.E. and SAR M. (1978 a) - Topography of estrogen target cells in the forebrain of goldfish, *Carassius auratus*.
J. comp. Neurol., 182, 611-620.

- KIM Y.S., STUMPF W.E., SAR M. and MARTINEZ-VARGAS M.C. (1978 b) - Estrogen and androgen target cells in the brain of fishes, reptiles and birds : phylogeny and ontogeny.
Am. Zoologist, 18, 425-433.
- KIMURA F. and KAWAKAMI M. (1978) - Reanalysis of the preoptic afferents and efferents involved in the surge of LH, FSH and prolactin release in the proestrous rat.
Neuroendocrinology, 27, 74-85.
- KING J.C., PARSONS J.A., ERLANDSEN S.L. and WILLIAMS T.H. (1974 a) - Luteinizing hormone-releasing hormone (LH - RH) pathway of the rat hypothalamus revealed by the unlabeled antibody peroxidase - antiperoxidase method.
Cell Tiss. Res., 153, 211-218.
- KING J.C., WILLIAMS T.H. and GERRALL A.A. (1974 b) - Transformation of hypothalamic arcuate neurons - I. Changes associated with stages of the estrous cycle.
Cell Tiss. Res., 153, 497-515.
- KNIGGE K.M. (1966) - Feedback mechanisms in neural control of adeno-hypophyseal function : effect of steroids implanted in amygdala and hippocampus.
Abstracts 2nd International Congress on Hormonal Steroids. Excerpta - Medica International Congress Series n° 111, p 208.
- KNIZLEY H. Jr (1972) - The hippocampus and septal area as primary target sites for corticosterone.
J. Neurochem., 19, 2737-2745.
- KNOBIL E. (1974) - On the control of gonadotropin secretion in the rhesus monkey.
Recent Prog. Horm. Res., 30, 1-36.
- KNOBIL E., DIERSCHKE D.J., YAMAJI T., KARSCH F.J., HOTCHKISS J. and WEICK R.F. (1972) - Role of estrogen in the positive and negative control of LH secretion during the menstrual cycle of the rhesus monkey.
Dans : Gonadotropins, SAXENA B.B., BELLING G.G. & GANDY H.M. (Eds). John Wiley & Sons. New York, pp 72-86.
- KNOBIL E. and PLANT T.M. (1978) - Neuroendocrine control of gonadotropin secretion in the female rhesus monkey.
Dans : Frontiers in Neuroendocrinology, GANONG W.F. & MARTINI L. (Eds), Raven Press, New York, vol. 5, pp 249-264.
- KOBAYASHI F., HARA K., and MIYAKE T. (1970) - Facilitation of luteinizing hormone release by progesterone in proestrous rats.
Endocrinol. Jap., 17, 149-155.
- KOCH B., BUCHER B. and MIAHLE C. (1974) - Pituitary nuclear retention of dexamethasone and ACTH biosynthesis.
Neuroendocrinology, 15, 365-375.

KOCH B., LUTZ B., BRIAUD B. and MIALHE C. (1975) - Glucocorticoid binding to adenohipophysys receptors and its physiological role. *Neuroendocrinology*, 18, 299-310.

KOCH B., LUTZ B., BRIAUD B. and MIALHE C. (1976) - Heterogeneity of pituitary glucocorticoid binding evidence for a transcortin-like compound. *Biochim. Biophys. Acta*, 444, 497-507.

"
KONIG J.F.R. and KLIPPEL R.A. (1963) - The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md, 162 pp.

KORDON C., EPELBAUM J., ENJALBERT A. and MCKELVY J. (1976) - Neurotransmitter interactions with neuroendocrine tissue. Dans : *Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology*, NAFTOLIN F., RYAN K.J., DAVIES I.J. (Eds), Elsevier Scientific Publ. Comp., Amsterdam, pp 167-184.

KORDON C. and GLOWINSKI J. (1969) - Selective inhibition of superovulation by blockade of dopamine synthesis during the "critical period" in the immature rat. *Endocrinology*, 85, 924-931.

KORDON C. and GLOWINSKI J. (1972) - Role of hypothalamic monoaminergic neurons in the gonadotropic release-regulating mechanisms. *J. Neuropharmacol.*, 11, 153-162.

KORDON C., KERDELHUE B., PATTOU E. and JUTISZ M. (1974) - Immunocytochemical localization of LH - RH in axons and nerve terminals of the rat median eminence. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.)*, 147, 122-127.

KORDON C. and ROTSZTEJN W.H. (1977) - Subcellular distribution and neurotransmitter control of hypophysiotropic factors in the median eminence. Dans : *Nonstriatal dopaminergic neurons. Advances in biochemical psychopharmacology*, COSTA E. & GESSA G.L. (Eds), Raven Press, New York, vol. 16, pp 89-97.

KOTTLER P.D., BOWMAN R.E. and HAASCH W.D. (1972) - R.N.A. metabolism in the rat brain during learning following intravenous and intraventricular injections of H-cytidine. *Physiol. Behav.*, 8, 291-297.

KOVES K. and HALASZ B. (1970) - Location of the neural structures triggering ovulation in the rat. *Neuroendocrinology*, 6, 180-193.

KOYAMA T., SAITO M. and HAGINO N. (1977) - Effects of anterior hypothalamic deafferentation on plasma response to LH - RH in the baboon. *Folia Endocrinol. Jap.*, 53, 921-928.

KRAICER J. and CONRAD R.G. (1971) - Circulating adrenocorticotropin (ACTH) as a controlled variable in the regulation of ACTH secretion. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 49, 744-751.

- KREY L.C., BUTLER W.R. and KNOBIL E. (1975) - Surgical disconnection of the medial basal hypothalamus and pituitary function in the rhesus monkey. I. Gonadotropin secretion. *Endocrinology*, 96, 1073-1087.
- KREY L.C. and SILVERMAN A.J. (1978) - The luteinizing hormone - releasing hormone (LH - RH) neuronal networks of the guinea pig brain. II. The regulation on gonadotropin secretion and the origin of terminals in the median eminence. *Brain Res.*, 157, 247-255.
- KRIEGER M.S., MORRELL J.I., and PFAFF D.W. (1976) - Autoradiographic localization of estradiol-concentrating cells in the female hamster brain. *Neuroendocrinology*, 22, 193-205.
- KRIEGER M.S., MORRELL J.I. and PFAFF D.W. (1978) - Neuroanatomical connections of steroid concentrating cell groups. Dans : Neural hormones and reproduction. SCOTT D.E., KOZLOWSKI G.P. & WEINDL A. (Eds), Karger, Basel, pp 197-211.
- KUBLI-GARFIAS C. and WHALEN R.E. (1977) - Induction of lordosis behavior in female rats by intravenous administration of progestins. *Horm. Behav.*, 9, 380-386.
- LABHSETWAR A.P. and BRAINBRIDGE J.G. (1971) - Inhibition of ovulation by intracranial implantation of progesterone in the 4-day cyclic rat. *J. Reprod. Fertil.*, 27, 445-449.
- LADISICH W. (1974) - Effect of progesterone on regional 5 - hydroxytryptamine metabolism in the rat brain. *Neuropharmacology*, 13, 877-883.
- LARRA F. et DROZ B. (1970) - Techniques radioautographiques et leur application à l'étude du renouvellement des constituants cellulaires. *J. Microscopie*, 9, 845-880.
- LAUMAS K.R. and FAROOQ A. (1966) - The uptake *in vivo* of (1,2 - ³H) progesterone by the brain and genital tract of the rat. *J. Endocrinol.*, 36, 95-96.
- LEAVITT W.W. and BLAHA G.C. (1972) - An estrogen-stimulated progesterone - binding system in the hamster uterus and vagina. *Steroids*, 19, 263-274.
- LEAVITT W.W., KIMMEL G.L. and FRIEND J.P. (1973) - Steroid hormone uptake by anterior pituitary cell suspensions. *Endocrinology*, 92, 94-103.
- LEAVITT W.W., TOFT D.O., STROTT C.A. and O'MALLEY B.W. (1974) - A specific progesterone receptor in the hamster uterus : physiologic properties and regulation during the estrous cycle. *Endocrinology*, 94, 1041-1053.

- LEBLOND C.P. (1976) - Interpretations in radioautography.
J. Microscopie Biol. Cell., 27, 73-80.
- LEGAN S.J., COON G.A. and KARSCH F.J. (1975) - Role of estrogen as initiator of daily LH surges in the ovariectomized rat.
Endocrinology, 96, 50-56.
- LEGAN S.J., GAY V.L. and MIDGLEY A.R. Jr (1973) - LH release following steroid administration in ovariectomized rats.
Endocrinology, 93, 781-785.
- LEGAN S.J. and KARSCH F.J. (1975) - A daily signal for the LH surge in the rat.
Endocrinology, 96, 57-62.
- LENGVARI I. and HALASZ B. (1973) - Evidence for a diurnal fluctuation in plasma corticosterone levels after fornix transection in the rat.
Neuroendocrinology, 11, 191-196.
- LEONARD C.M. and SCOTT J.W. (1971) - Origin and distribution of the amygdalofugal pathways in the rat : an experimental neuroanatomical study.
J. Comp. Neurol., 141, 313-330.
- LEONARDELLI J. (1961) - Recherches sur les mécanismes hypothalamiques de contrôle de l'axe préhypophyso-ovarien chez le cobaye.
Thèse de Doctorat en Médecine. Université d'Alger, n° 61.
- LEONARDELLI J., BARRY J. et DUBOIS M.P. (1973) - Mise en évidence par immunofluorescence d'un constituant immunologiquement apparenté au LH-RH dans l'hypothalamus et l'éminence médiane chez les mammifères.
C. R. Acad. Sci., Paris, 276, 2043-2046.
- LISK R.D. (1960) - Estrogen-sensitive centers in the hypothalamus of the rat.
J. Exp. Zool., 145, 197-205.
- LISK R.D. (1963) - Maintenance of normal pituitary weight and cytology in the spayed rat following estradiol implants in the arcuate nucleus.
Anat. Rec., 146, 281-292.
- LISK R.D. (1967) - Sexual behavior : Hormonal control.
Dans : Neuroendocrinology. MARTINI L. & GANONG W.F. (Eds), Academic Press New York, vol. 2, pp 197-239.
- LISK R.D. and BARFIELD M.A. (1975) - Sites and mechanisms of steroid effects on behavior.
Dans : Anatomical neuroendocrinology. STUMPF W.E. & GRANT L.D. (Eds), Karger, Basel, pp 232-244.
- LISK R.D. and NEWLON M. (1963) - Estradiol : evidence for its direct effect on hypothalamic neurons.
Science, 139, 223-224.
- LITTERIA M. (1973) - Increased incorporation of ³H-lysine in specific hypothalamic nuclei following castration in the male rat.
Exp. Neurol., 40, 309-315.

- LORENTE de NO R. (1933) - Studies on the structure of the cerebral cortex. I. The area entorhinalis. J. Psychol. Neurol. (Lpz.), 45, 381-438.
- LORENTE de NO R. (1934) - Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. J. Psychol. Neurol. (Lpz.), 46, 113-117.
- LUTTGE W.G., CHRONISTER R.B. and HALL N.R. (1973) - Accumulation of ^3H -progesterins in limbic, diencephalic, and mesencephalic regions of mouse brain. Life Sci., 12, 419-424.
- LUTTGE W.G. and HUGHES J.R. (1976) - Intracerebral implantation of progesterone : reexamination of the brain sites responsible for facilitation of sexual receptivity in estrogen-primed ovariectomized rats. Physiol. Behav., 17, 771-775.
- LUTTGE W.G., WALLIS C.J. and HALL N.R. (1974) - Effects of pre and post-treatment with unlabeled steroids on the *in vivo* uptake of (^3H) progesterins in selected brain regions, uterus and plasma of the female mouse. Brain Res., 71, 105-115.
- MACLEAN P.D. (1949) - Psychosomatic disease and the "visceral brain". Recent developments bearing on the PAPEZ theory of emotion. Psychosom. Med., 11, 338-353.
- MACLEAN P.D. (1958) - Contrasting functions of limbic and neocortical systems of the brain and their relevance to psychophysiological aspects of medicine. Am. J. Med., 25, 611-626.
- MACLEAN P.D. (1970) - The limbic brain in relation to the psychoses. Dans : Physiological correlates of Emotion. BLACK P. (Ed.). Academic Press, New York, pp 129-146.
- MACLUSKY N.J. and McEWEN B.S. (1978) - Oestrogen modulates progesterin receptor concentrations in some rat brain regions but not in others. Nature, 274, 276-278.
- MACLUSKY N.J., TURNER B.B. and McEWEN B.S. (1977) - Corticosteroid binding in rat brain and pituitary cytosols : resolution of multiple binding components by polyacrylamide gel based isoelectric focusing. Brain Res., 130, 564-571.
- MARRONE B.L., RODRIGUEZ-SIERRA J.F. and FEDER H.H. (1977) - Lordosis : inhibiting effects of progesterone in the female rat. Horm. Behav., 8, 391-402.
- MARRONE B.L., RODRIGUEZ-SIERRA J.F. and FEDER H.H. (1979) - Intrahypothalamic implants of progesterone inhibit lordosis behavior in ovariectomized, estrogen-treated rats. Neuroendocrinology, 28, 92-102.

- MARTIN J.E., TYREY L., EVERETT J.W., and FELLOWS R.E. (1974) - Variations in responsiveness to synthetic LH-releasing factor (LRF) in proestrus and diestrus-3 rats.
Endocrinology, 94, 556-562.
- MARTINEZ-VARGAS M.C., STUMPF W.E. and SAR M. (1975) - Estrogen localization in the dove brain. Phylogenetic considerations and implications for nomenclature.
Dans : Anatomical Neuroendocrinology. STUMPF W.E. and GRANT L.D. (Eds), Karger, Basel, pp 166-175.
- MASON J.W. (1968) - A review of psychoendocrine research on the pituitary-adrenal cortical system.
Psychosomatic medicine, 30, 576-607.
- MATHESON G.K., BRANCH B.J. and TAYLOR A.N. (1971) - Effects of amygdaloid stimulation on pituitary-adrenal activity in conscious cats.
Brain Res., 32, 151-167.
- MAURER R.A. (1974) - ³H-Estradiol binding macromolecules in the hypothalamus and anterior pituitary of normal female, androgenized female and male rats.
Brain Res., 67, 175-177.
- MAZZUCA M. (1977) - Immunocytochemical and ultrastructural identification of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) containing neurons in the vascular organ of the lamina terminalis (OVLt) of the squirrel monkey.
Neuroscience letters, 5, 123-128.
- MAZZUCA M. and DUBOIS M.P. (1974) - Detection of luteinizing hormone-releasing hormone in the guinea pig median eminence with an immunohistochemical technique. J. Histochem. Cytochem., 22, 993-996.
- MCCANN S.M., FRUIT A. and FULFORD B.D. (1958) - Studies on the loci of action of cortical hormones in inhibiting the release of adrenocorticotrophin.
Endocrinology, 63, 29-42.
- McCLURE T.D. and CLARK G. (1968) - Descending connections from hypothalamus.
Exp. Neurol., 22, 343-349.
- MCEWEN B.S. (1976 a) - Interactions between hormones and nerve tissue.
Scientific American, 235, 48-58.
- MCEWEN B.S. (1976 b) - Steroid receptors in neuroendocrine tissues : topography, subcellular distribution and functional implications.
Dans : Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology. NAFTOLIN F., RYAN K.J. & DAVIES I.J. (Eds), Elsevier Scientific Publ. Comp., Amsterdam, pp 277-304.
- MCEWEN B.S. (1979) - Influences of adrenocortical hormones on pituitary and brain function.
Dans : Monographs on Endocrinology. vol. 12 : Glucocorticoid hormone action. BAXTER J.D. & ROUSSEAU G.G. (Eds), Springer - Verlag, Berlin, New York, pp 467-492.

- McEWEN B.S., DAVIS P.G., PARSONS B. and PFAFF D.W. (1979) - The brain as a target for steroid hormone action.
Ann. Rev. Neurosci., 2, 65-112.
- McEWEN B.S., De KLOET E.R. and WALLACH G. (1976) - Interactions *in vivo* and *in vitro* of corticoids and progesterone with cell nuclei and soluble macromolecules from rat brain regions and pituitary.
Brain Res., 105, 129-136.
- McEWEN B.S., MAGNUS C. and WALLACH G. (1972) - Soluble corticosterone binding macromolecules extracted from rat brain.
Endocrinology, 90, 217-226.
- McEWEN B.S. and PFAFF D.W. (1973) - Chemical and physiological approaches to neuroendocrine mechanisms : attempts at integration.
Dans : Frontiers in neuroendocrinology, GANONG W.F. & MARTINI L. (Eds)
Oxford University Press, New York, pp 267-335.
- McEWEN B.S., PFAFF D.W., CHAPTAL C. and LUINE V. (1975) - Brain cell nuclear retention of (³H) estradiol doses able to promote lordosis : temporal and region aspects.
Brain Res., 86, 155-161.
- McEWEN B.S. and WALLACH G. (1973) - Corticosterone binding to hippocampus : nuclear and cytosol binding *in vitro*.
Brain Res., 57, 373-386.
- McEWEN B.S., WEISS J.M., and SCHWARTZ L.S. (1969) - Uptake of corticosterone by rat brain and its concentration by certain limbic structures.
Brain Res., 16, 227-241.
- McEWEN B.S., WEISS J.M. and SCHWARTZ L.S. (1970) - Retention of corticosterone by cell nuclei from brain regions of adrenalectomized rats.
Brain Res., 17, 471-482.
- McGUIRE J.L. and BARISO C.D. (1972) - Isolation and preliminary characterization of a progestogen specific binding macromolecule from the 273,000 g supernatant of rat and rabbit uteri.
Endocrinology, 90, 496-506.
- McGUIRE J.L. and LISK R.D. (1969) - Localization of estrogen receptors in the rat hypothalamus.
Neuroendocrinology, 4, 289-295.
- MEYERSON B.J. (1972) - Latency between intravenous injection of progestins and the appearance of estrous behavior in estrogen-treated ovariectomized rats.
Horm. Behav., 3, 1-9.
- MICHAEL R.P. (1965) - Oestrogens in the central nervous system.
Br. Med. Bull., 21, 87-90.
- MILGROM E., ATGER M. and BAULIEU E.E. (1970) - Progesterone in uterus and plasma. IV. Progesterone receptor(s) in guinea pig uterus cytosol.
Steroids, 16, 741-764.

- MILGROM E., ATGER M., PERROT M. and BAULIEU E.E. (1972 b) - Progesterone in uterus and plasma : VI. Uterus progesterone receptors during the estrus cycle and implantation in the guinea pig. *Endocrinology*, 90, 1071-1078.
- MILGROM E. and BAULIEU E.E. (1970 a) - Progesterone in uterus and plasma : I. Binding in rat uterus 105,000 g supernatant. *Endocrinology*, 87, 276-287.
- MILGROM E. and BAULIEU E.E. (1970 b) - Progesterone in the uterus and the plasma. II. The role of hormone availability and metabolism on selective binding to uterus protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 40, 723-730.
- MILGROM E., LUU THI M., ATGER M. and BAULIEU E.E. (1973) - Mechanisms regulating the concentration and the conformation of progesterone receptor(s) in the uterus. *J. Biol. Chem.*, 248, 6366-6374.
- MILGROM E., PERROT M., ATGER M. and BAULIEU E.E. (1972 a) - Progesterone in uterus and plasma : V. An assay of the progesterone cytosol receptor of the guinea pig uterus. *Endocrinology*, 90, 1064-1070.
- MILLHOUSE O.E. (1969) - A Golgi study of the descending medial forebrain bundle. *Brain Res.*, 15, 341-363.
- MOBERG G.P., SCAPAGNINI U., De GROOT J. and GANONG W.F. (1971) - Effect of sectioning the fornix on diurnal fluctuation in plasma corticosterone levels in the rat. *Neuroendocrinology*, 7, 11-15.
- MOGUILLEWSKY M. and RAYNAUD J.P. (1977) - Progestin binding studies in the rat hypothalamus, pituitary and uterus. *Steroids*, 30, 99-109.
- MOGUILLEWSKY M. and J.P. RAYNAUD (1979) - Estrogen-sensitive progestin-binding sites in the female rat brain and pituitary. *Brain Res.*, 164, 165-175.
- MONROE S.E., ATKINSON L.E. and KNOBIL E. (1970) - Patterns of circulating luteinizing hormone and their relation to plasma progesterone levels during the menstrual cycle of the rhesus monkey. *Endocrinology*, 87, 453-455.
- MORALI G. and BEYER C. (1979) - Neuroendocrine control of mammalian estrous behavior. Dans : *Endocrine control of sexual behavior*. BEYER C. (Ed). Raven Press, New York, pp 33-75.
- MOREL G., FOREST M.G. et DUBOIS P.M. (1979) - Spécificité tissulaire de la fixation de testostérone : mise en évidence par immunocytochimie ultrastructurale après cryoultramicrotomie. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, 288, 1667-1670.

- MORIN L.P. and FEDER H.H. (1974 a) - Inhibition of lordosis behavior in ovariectomized guinea pigs by mesencephalic implants of progesterone. *Brain Res.*, 70, 71-80.
- MORIN L.P. and FEDER H.H. (1974 b) - Hypothalamic progesterone implants and facilitation of lordosis behavior in estrogen-primed ovariectomized guinea pigs. *Brain Res.*, 70, 81-93.
- MORIN L.P. and FEDER H.H. (1974 c) - Intracranial estradiol benzoate implants and lordosis behavior of ovariectomized guinea pigs. *Brain Res.*, 70, 95-102.
- MORRELL J.I., BALLIN A. and PFAFF D.W. (1977) - Autoradiographic demonstration of the pattern of ^3H -estradiol concentrating cells in the brain of a carnivore, the mink, *Mustela vison*. *Anat. Rec.*, 189, 609-624.
- MORRELL J.I., DAVIS R.E. and PFAFF D.W. (1976) - Autoradiographic localization of sex steroid concentrating cells in the brain of the paradise fish after ^3H -estradiol or ^3H -testosterone administration. *Vth. Internat. Congress of Endocrinology, Hamburg*. Abstract n° 278, p. 114.
- MORRELL J.I., KELLEY D.B. and PFAFF D.W. (1975) - Autoradiographic localization of hormone-concentrating cells in the brain of an amphibian *Xenopus laevis*. II. Estradiol. *J. comp. Neurol.*, 164, 63-78.
- MOSS R.L. and McCANN S.M. (1973) - Induction of mating behavior in rats by luteinizing hormone-releasing factor. *Science*, 181, 177-179.
- MOWLES T.F., ASHKANAZY B., MIX E. Jr, and SHEPPARD H. (1971) - Hypothalamic and hypophyseal estradiol binding complexes. *Endocrinology*, 89, 484-491.
- MUHLEN K. and OCKENFELS H. (1969) - Morphologische Veränderungen im Diencephalon und Telencephalon nach Störungen des Regelkreises Adenohypophyse - Nebennierenrinde III. Ergebnisse beim Meerchweinchen nach Verabreichung von Cortison und Hydrocortison. *Z. Zellforsch.*, 93, 126-141.
- NAFTOLIN F., BROWN-GRANT K. and CORKER C.S. (1972) - Plasma and pituitary luteinizing hormone and peripheral plasma oestradiol concentrations in the normal oestrus cycle of the rat and after experimental manipulation of the cycle. *J. Endocrinol.*, 53, 17-30.
- NAIK D.V. (1975 a) - Immunoreactive LH-RH neurons in the hypothalamus identified by light and fluorescent microscopy. *Cell Tiss. Res.*, 157, 423-436.

- NAIK D.V. (1975 b) - Immuno-electron microscopic localization of luteinizing hormone-releasing hormone in the arcuate nuclei and median eminence of the rat.
Cell Tiss. Res., 157, 437-455.
- NAKADATE G.M. and De GROOT J. (1963) - Fornix transection and adrenocortical function in rats.
Anat. Rec. 145, 338 (Abstract).
- NAKAI Y., PLANT T.M., HESS D.L., KEOGH E.J. and KNOBIL E. (1978) - On the sites of the negative and positive feedback actions of estradiol in the control of gonadotropin secretion in the rhesus monkey.
Endocrinology, 102, 1008-1014.
- NALLER R., ANTUNES-RODRIGUES J. and McCANN S.M. (1956) - Effect of progesterone on the level of plasma LH in normal female rats.
Endocrinology, 79, 907-911.
- NAUTA W.J.H. (1956) - An experimental study of the fornix system in the rat.
J. Comp. Neurol., 104, 247-271.
- NAUTA W.J.H. (1958) - Hippocampal projections and related neural pathways to the mid-brain in the cat.
Brain, 81, 319-340.
- NAUTA W.J.H. (1963) - Central nervous organization and the endocrine motor system.
Dans : Advances in Neuroendocrinology, NALBANDOV A.V. (Ed). University of Illinois Press, URBANA, Ill., pp 5-21.
- NEILL J.D. (1972) - Sexual differences in the hypothalamic regulation of prolactin secretion.
Endocrinology, 90, 1154-1159.
- NEILL J.D., PATTOU J.M., DAILEY R.A., TSOU R.C. and TINDALL G.T. (1977) - Luteinizing hormone releasing hormone (LH RH) in pituitary stalk blood of rhesus monkeys : relationship to level of LH release.
Endocrinology, 101, 430-434.
- NORMAN R.L., RESKO J.A. and SPIES H.G. (1976) - The anterior hypothalamus : How it affects gonadotropin secretion in the rhesus monkey.
Endocrinology, 99, 59-71.
- NOTIDES A.C. (1970) - Binding affinity and specificity of the estrogen receptor of the rat uterus and anterior pituitary.
Endocrinology, 87, 987-992.
- O'MALLEY B.W. and MEANS A.R. (1974) - Female steroid hormones and target cell nuclei.
Science, 183, 610-620.
- O'MALLEY B.W. and SCHRADER W.T. (1976) - The receptors of steroid hormones.
Scientific American, 234, 32-43.

- OLPE H.R. and McEWEN B.S. (1976) - Glucorticoid binding to receptor-like proteins in rat brain and pituitary : ontogenetic and experimentally induced changes.
Brain Res., 105, 121-128.
- PALKA Y., RAMIREZ V.D. and SAWYER C.H. (1966) - Distribution and biological effects of tritiated estradiol implants in the hypothalamo-hypophyseal region of female rats.
Endocrinology, 78, 487-499.
- PAPEZ J.W. (1937) - A proposed mechanism of emotion.
Arch. Neurol. Psychiatr., 38, 725-743.
- PEARLMUTTER A.F., RAPINO E. and SAFFRAN M. (1975) - The ACTH-releasing hormone of the hypothalamus requires a co-factor.
Endocrinology, 97, 1336-1339.
- PELC S.R. (1947) - Autoradiograph technique.
Nature, 160, 749-750.
- PELLETIER G., LECLERC R., DUBE D., LABRIE F., PUVIANI R., ARIMURA A. and SCHALLY A.V. (1975) - Localization of growth hormone-release inhibiting hormone (somatostatin) in the rat brain.
Am. J. Anat., 142, 397-401.
- PFAFF D.W. (1973) - Luteinizing hormone-releasing factor potentiates lordosis behavior in hypophysectomized ovariectomized female rats.
Science, 182, 1148-1149.
- PFAFF D.W., GERLACH J.L., McEWEN B.S., FERIN M., CARMEL P. and ZIMMERMAN E.A. (1976) - Autoradiographic localization of hormone-concentrating cells in the brain of the female rhesus monkey.
J. comp. Neurol., 170, 279-294.
- PFAFF D.W. and KEINER M. (1973) - Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat.
J. comp. Neurol., 151, 121-158.
- PFAFF D.W., SILVA M.T.A. and WEISS J.M. (1971) - Telemetered recording of hormone effects on hippocampal neurons.
Science, 172, 394-395.
- PHILIBERT D., OJASOO T. and RAYNAUD J.P. (1977) - Properties of the cytoplasmic progestin-binding protein in the rabbit uterus.
Endocrinology, 101, 1850-1861 .
- PHILIBERT D. and RAYNAUD J.P. (1973) - Progesterone binding in the immature mouse and rat uterus.
Steroids, 22, 89-98.
- PHILIBERT D. and RAYNAUD J.P. (1974 a) -Progesterone binding in the immature rabbit and guinea pig uterus.
Endocrinology, 94, 627-632.

- PHILIBERT D. and RAYNAUD J.P. (1974 b) - Binding of progesterone and R5020, a highly potent progestin, to human endometrium and myometrium. *Contraception*, 10, 457-466.
- PIVA F., KALRA P.S. and MARTINI L. (1973) - Participation of the amygdala and of the cerebellum in the feedback effects of progesterone. *Neuroendocrinology*, 11, 229-239.
- PLANT T.M., KREY L.C., MOSSY J., McCORMACK J.T., HESS D.L. and KNOBIL E. (1978) - The arcuate nucleus and the control of gonadotropin and prolactin secretion in the female rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Endocrinology*, 102, 52-62.
- PLAPINGER L. and McEWEN B.S. (1973) - Ontogeny of estradiol binding sites in rat brain. I. Appearance of presumptive adult receptors in cytosol and nuclei. *Endocrinology*, 93, 1119-1128.
- PORTANOVA R. and SAYERS G. (1974) - Corticosterone suppression of ACTH secretion : actinomycin D sensitive and insensitive components of the response. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 56, 928-933.
- POULAIN P. (1974) - L'hypothalamus et le septum du cobaye de 400 grammes en coordonnées stéréotaxiques. *Arch. Anat. Microsc.*, 63, 37-50.
- POWELL T.P.S., COWAN W.M. and RAISMAN G. (1965) - The central olfactory connexions. *J. Anat.* 99, 791-813.
- POWERS J.B. (1972) - Facilitation of lordosis in ovariectomized rats by intracerebral progesterone implants. *Brain Res.*, 48, 311-325.
- POWERS J.B. and MOREINES J. (1976) - Progesterone : examination of its postulated inhibitory actions on lordosis during the rat estrous cycle. *Physiol. Behav.*, 17, 493-498.
- POWERS J.B. and ZUCKER I. (1969) - Sexual receptivity in pregnant and pseudopregnant rats. *Endocrinology*, 84, 820-827.
- RAISMAN G. (1966) - The connexions of the septum. *Brain*, 89, 317-348.
- RAISMAN G. (1970) - An evaluation of the basic pattern of connections between the limbic system and the hypothalamus. *Am. J. Anat.*, 129, 197-202.
- RAISMAN G., COWAN W.M. and POWELL T.P.S. (1966) - An experimental analysis of the efferent projection of the hippocampus. *Brain*, 89, 83-108.

- RAMIREZ V.D., KOMISARUK B.R., WHITMOYER D.I. and SAWYER C.H. (1967) - Effects of hormones and vaginal stimulation on the EEG and hypothalamic units of rats.
Am. J. Physiol., 212, 1376-1384.
- RAMIREZ V.D. and McCANN S.M. (1963) - Comparison of the regulation of luteinizing hormone (LH) secretion in immature and adult rats.
Endocrinology, 72, 452-464.
- RAMON-MOLINER E. and NAUTA W.J.H. (1966) - The isodendritic core of the brain stem.
J. comp. Neurol., 126, 311-336.
- RAO B.R., WIEST W.G. and ALLEN W.M. (1973) - Progesterone "receptor" in rabbit uterus. I. Characterization and estradiol-17 β augmentation.
Endocrinology, 92, 1229-1240.
- RASPE G. (1971) - Schering workshop on steroid hormone receptors.
Advances in the Biosciences, vol. 7, Oxford : Pergamon Press, Vieweg.
- RAYNAUD J.P. (1977) - R5020, a tag for the progestin receptor.
Dans : Progesterone receptors in normal and neoplastic tissues, McGUIRE W.L., RAYNAUD J.P. & BAULIEU E.E. (Eds), Raven Press, New York, pp 9-21.
- REES H.D., STUMPF W.E. and SAR M. (1975) - Autoradiographic studies with ^3H -dexamethasone in the rat brain and pituitary.
Dans : Anatomical Neuroendocrinology. STUMPF W.E. & GRANT L.D. (Eds), Karger, Basel, pp 262-269.
- REES H.D., STUMPF W.E., SAR M. and PETRUSZ P. (1977) - Autoradiographic studies of ^3H -dexamethasone uptake by immunocytochemically characterized cells of the rat pituitary.
Cell Tiss. Res., 182, 347-356.
- RHEES R.W., ABEL J.H. Jr, and HAACK D.W. (1972) - Uptake of tritiated steroids in the brain of the duck (*Anas platyrhynchos*) : an autoradiographic study.
Gen. comp. Endocrin., 18, 292-300.
- RHEES R.W., GROSSER B.I. and STEVENS W. (1975 a) - Effect of steroid competition and time on the uptake of ^3H -corticosterone in the rat brain ; an autoradiographic study.
Brain Res., 83, 293-300.
- RHEES R.W., GROSSER B.I. and STEVENS W. (1975 b) - The autoradiographic localization of ^3H -dexamethasone in the brain and pituitary of the rat.
Brain Res., 100, 151-156.
- RING J.R. (1944) - The estrogen-progesterone induction of sexual receptivity in the spayed female mouse.
Endocrinology, 34, 269-275.

- RODRIGUEZ-SIERRA J.F. and DAVIS G.A. (1977) - Serotonin receptor antagonism : similarities and dissimilarities to the actions of progesterone on the sexual behavior of the female rat.
VIIIth Ann. Meet. Soc. Neuroscience (Abstract).
- ROGERS A.W. and JOHN P.N. (1969) - Latent image stability in autoradiographs of diffusible substances.
Dans : Autoradiography of diffusible substances. ROTH L.J. & STUMPF W.E. (Eds), Academic Press, New York, London, pp 51-68.
- ROSE S. and NELSON J. (1956) - Hydrocortisone and ACTH release.
Austr. J. exp. Biol. med. Sci., 34, 77-80.
- ROSS G.T., CARGILLE C.M., LIPSETT M.B., RAYFORD P.L., MARSHALL J.R., STROTT C.A. and RODBAD D. (1970) - Pituitary and gonadal hormones in women during spontaneous and induced ovulatory cycles.
Recent Prog. Horm. Res., 26, 1-48.
- ROSS J., CLAYBAUGH V., CLEMENS L.G. and GORSKI R.A. (1971) - Short latency induction of estrous behavior with intracerebral gonadal hormones in ovariectomized rats.
Endocrinology, 89, 32-38.
- ROTSZTEJN W.H., CHARLI J.L., PATTOU E., EPELBAUM J. and KORDON C. (1976) - *In vitro* release of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) from rat mediobasal hypothalamus : effects of potassium, calcium and dopamine.
Endocrinology, 99, 1663-1666.
- ROTSZTEJN W.H., CHARLI J.L., PATTOU E. and KORDON C. (1977) - Stimulation by dopamine of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) release from the mediobasal hypothalamus in male rats.
Endocrinology, 101, 1475-1483.
- ROVIT R.L. and HAGAN R. (1968) - Steroids and cerebral edema : the effects of glucocorticoids on abnormal capillary permeability following cerebral injury in cats.
J. Neuropath. exp. Neurol., 27, 277-299.
- ROY E.J., MACLUSKY N.J. and MCEWEN B.S. (1979) - Antioestrogen inhibits the induction of progestin receptors by estradiol in the hypothalamus-preoptic area and pituitary.
Endocrinology, 104, 1333-1336.
- RUSSELL S.M., DHARIVAL A.P.S., MCCANN S.M. and YATES F.E. (1969) - Inhibition by dexamethasone of the *in vivo* pituitary response to corticotropin-releasing factor (CRF).
Endocrinology, 85, 512-521.
- SAEZ S. et BERTRAND J. (1977) - Récepteurs cellulaires et mécanisme d'action des hormones stéroïdes.
Lyon Pharmaceutique, 28, 11-24.

- SAFFRAN M. and SCHALLY A.V. (1977) - The status of the corticotropin releasing factor (CRF).
Neuroendocrinology, 24, 359-375.
- SAR M. and STUMPF W.E. (1973) - Neurons of the hypothalamus concentrate (³H) progesterone or its metabolites.
Science, 182, 1266-1268.
- SAR M. and STUMPF W.E. (1974) - Cellular and subcellular localization of (³H) progesterone or its metabolites in the oviduct, uterus, vagina and liver of the guinea pig.
Endocrinology, 94, 1116-1125.
- SAR M., STUMPF W.E., MILLER R.J., CHANG K.J. and CUATRECASAS P. (1978) - Immunohistochemical localization of enkephalin in rat brain and spinal cord.
J. comp. Neurol., 182, 17-38.
- SARKAR D.K., CHIAPPA S.A., FINK G. and SHERWOOD N.M. (1976) - Gonadotropin-releasing hormone surge in pro-oestrus rats.
Nature, 264, 461-463.
- SAYERS G. and PORTANOVA R. (1974) - Secretion of ACTH by isolated anterior pituitary cells : kinetics of stimulation by corticotropin-releasing factor and of inhibition by corticosterone.
Endocrinology, 94, 1723-1730.
- SCHALLY A.V. and BOWERS C.Y. (1964) - Corticotropin-releasing factor and other hypothalamic peptides.
Metabolism, 13, 1190-1205.
- SCHROEDER D.M. and JANE J.A. (1971) - Projection of the dorsal column nuclei and spinal cord to brainstem and thalamus in the tree shrew (*Tupaia glis*).
J. comp. Neurol., 142, 309-350.
- SCHULING G.A., VAN DIETEN J.A.M.J. and VAN REES G.P. (1974) - Induction and inhibition of ovulation in the rat by intracerebral progesterone implants.
Neuroendocrinology, 15, 38-50.
- SCHWARTZ N.B. (1969) - A model for the regulation of ovulation in the rat.
Recent Prog. Horm. Res., 25, 1-55.
- SCHWARTZ R.J., CHANG C., SCHRADER W.T. and O'MALLEY B.W. (1977) - Effect of progesterone receptors on transcription.
Ann. N.Y.Acad.Sci., 286, 147-160.
- SCOTT J.W. and LEONARD C.M. (1971) - The olfactory connections of the lateral hypothalamus in the rat, mouse and hamster.
J. comp. Neurol., 141, 331-344.
- SEIKI K., HARUKI Y., IMANISHI Y. and ENOMOTO T. (1977) - Further evidence of the presence of progesterone-binding proteins in female rat hypothalamus.
Endocrinol. jap., 24, 233-238.

- SEIKI K. and HATTORI M. (1973) - *In vivo* uptake of progesterone by the hypothalamus and pituitary of the female ovariectomized rat and its relationship to cytoplasmic progesterone-binding protein. *Endocrinol. jap.*, 20, 111-119.
- SEIKI K., HATTORI M. and KARAKI M. (1975) - Uptake of ³H-progesterone by brain and pituitary of castrated male rats. *Endocrinol. jap.*, 22, 147-149.
- SEIKI K., HIGASHIDA M., IMANISHI Y., MIYAMOTO M., KITAGAWA T. and KOTANI M. (1968) - Radioactivity in the rat hypothalamus and pituitary after injection of labelled progesterone. *J. Endocrinol.*, 41, 109-100.
- SEIKI K., MIYAMOTO M., YAMASHITA A. and KOTANI M. (1969) - Further studies on the uptake of labelled progesterone by the hypothalamus and pituitary of rats. *J. Endocrinol.*, 43, 129-130.
- SELYE H. (1950) - Stress : the physiology and pathology of exposure to stress. Montreal : Acta Medica Publication.
- SETALO G., VIGH S., SCHALLY A.V., ARIMURA A. and FLERKO B. (1975) - LH-RH containing neural elements in the rat hypothalamus. *Endocrinology*, 96, 135-142.
- SETALO G., VIGH S., SCHALLY A.V., ARIMURA A. and FLERKO B. (1976) - Immunohistological study of the origin of LH-RH containing nerve fibers of the rat hypothalamus. *Brain Res.*, 103, 596-602.
- SILVERMAN A.J. (1976) - Distribution of luteinizing hormone-releasing hormone (LH - RH) in the guinea pig brain. *Endocrinology*, 99, 30-41.
- SIMANTOV R., KUCHAR M.J., UHL G.R. and SNYDER S.H. (1977) - Opioid peptide enkephalin : immunohistochemical mapping in the rat central nervous system. *Proc. natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 74, 2167-2171.
- SLUSHER M.A. (1966) - Effects of cortisol implants in the brainstem and ventral hippocampus on diurnal corticosterone levels. *Exp. Brain Res.*, 1, 184-194.
- SMELIK P.G. (1965) - The regulation of ACTH secretion. *Acta Physiol. pharmacol. neer.*, 13, 370-371.
- SMELIK P.G. and PAPAICONOMOU E. (1973) - Steroid feedback mechanisms in pituitary-adrenal function. Dans : *Drugs effects on neuroendocrine regulation*, ZIMMERMANN E., GISPEN W.H., MARKS B.H. & De WIED D. (Eds), *Progress in Brain Research*, Elsevier, Amsterdam, volume 39, pp 99-109.

- SMELIK P.G. and SAWYER C.H. (1962) - Effects of implantation of cortisol into the brain stem or pituitary gland on the adrenal response to stress in rabbit.
Acta Endocrinol., 41, 561-570.
- SMITH E.R. and DAVIDSON J.M. (1974) - Location of feedback receptors : effects of intracranial implanted steroids on plasma LH and LRF response.
Endocrinology, 95, 1566-1573.
- SMITH P.E. and ENGLE E.T. (1927) - Experimental evidence regarding the role of the anterior pituitary in the development and regulation of the genital system.
Amer. J. Anat., 40, 159-217.
- "
SODERSTEN P. and HANSEN S. (1977) - Effects of oestradiol and progesterone on the induction and duration of sexual receptivity in cyclic female rats.
J. Endocrinol., 74, 477-485.
- STEVENS W., REED D.J., ERICKSON S. and GROSSER B.I. (1973) - The binding of corticosterone to brain proteins : diurnal variation.
Endocrinology, 93, 1152-1156.
- STEVENS W., REED D.J. and GROSSER B.I. (1975) - Binding of natural and synthetic glucocorticoids in rat brain.
J. Steroid biochem., 6, 521-527.
- STEVENS K.R., SPIES H.G., HILLIARD J. and SAWYER C.H. (1970) - Site(s) of action of progesterone in blocking ovulation in the rat.
Endocrinology, 86, 970-975.
- STRUM J.M., FELDMAN D., TAGGART B., MARVER D. and EDELMAN I.S. (1975) - Autoradiographic localization of corticosterone receptors (Type III) to the collecting tubule of the rat kidney.
Endocrinology, 97, 505-516.
- STUMPF W.E. (1968) - Estradiol-concentrating neurons : topography in the hypothalamus by dry-mount autoradiography.
Science, 162, 1001-1003.
- STUMPF W.E. (1971 a) - Autoradiographic techniques for the localization of hormones and drugs at the cellular and subcellular level.
Acta Endocrinol. suppl. 153, 205-222.
- STUMPF W.E. (1971 b) - Autoradiographic techniques and the localization of estrogen, androgen and glucocorticoid in the pituitary and brain.
Amer. Zool., 11, 725-739.
- STUMPF W.E. and ROTH J.L. (1966) - High resolution autoradiography with dry mounted freeze-dried frozen sections. Comparative study of six methods using two diffusible compounds ³H-estradiol and ³H-mesobilirubinogen.
J. Histochem. Cytochem., 14, 274-287.

- STUMPF W.E. and ROTH L.J. (1967) - Freeze-drying of small tissue samples and thin frozen sections below - 60°C. A simple method of cryosorption pumping.
J. Histochem. Cytochem., 15, 243-251.
- STUMPF W.E. and SAR M. (1975 a) - Hormone-architecture of the mouse brain with ³H-estradiol.
Dans : Anatomical neuroendocrinology. STUMPF W.E. & GRANT L.D. (Eds). Karger, Basel, New York, pp 82-103.
- STUMPF W.E. and SAR M. (1975 b) - Anatomical distribution of corticosterone-concentrating neurons in the rat brain.
Dans : Anatomical neuroendocrinology. STUMPF W.E. & GRANT L.D. (Eds), Karger, Basel, pp 254-261.
- STUMPF W.E., SAR M. and KEEFER D.A. (1975) - Localization of hormones in pituitary cells. Receptor sites for hormones from hypophyseal target glands and the brain.
Dans : Pituitary : ultrastructure in biological systems. TIXIER-VIDAL A. & FARQUHAR M.G. (Eds), Academic Press, New York, pp 63-82.
- SWANSON L.W. (1976) - An autoradiographic study of the efferent connections of the preoptic region in the rat.
J. comp. Neurol., 167, 227-256.
- SWANSON L.W. and COWAN W.M. (1979) - The connections of the septal region in the rat.
J. comp. Neurol., 186, 621-656.
- SZENTÁGOTHAI J., FLERKÓ B., MESS B. and HALÁSZ B. (1962) - Hypothalamic control of the anterior pituitary.
Akadémiai Kiado. Budapest.
- TERASAWA E. and KAWAKAMI M. (1974) - Positive feedback sites of estrogen in the brain on ovulation : possible role of the bed nucleus of the stria terminalis and the amygdala.
Endocrinol. Jap., 21, 51-60.
- TOFT D. and GORSKI J. (1966) - A receptor molecule for estrogens : isolation from the rat uterus and preliminary characterization.
Proc. natl. Acad. Sci. U.S.A., 55, 1574-1581.
- TRAMU G. and LEONARDELLI J. (1979) - Immunohistochemical localization of enkephalins in median eminence and adenohypophysis.
Brain Res., 168, 457-471.
- TUOHIMAA P. (1970) - Radioautography of tritiated sex steroids in the rat.
Histochemie, 23, 349-357.
- UNGERSTEDT V. (1971) - Stereotaxic mapping of monoamine pathways in the rat brain.
Acta physiol. scand., 367 (Suppl.) , 1-48.

- VERTES M. and KING R.J.B. (1971) - The mechanism of estradiol binding in rat hypothalamus : effect of androgenization.
J. Endocrinol., 51, 271-282.
- VU HAI M.T. and MILGROME E. (1978 a) - Characterization and assay of the progesterone receptor in rat uterine cytosol.
J. Endocrinol., 76, 21-31.
- VU HAI M.T. and MILGROME E. (1978 b) - Characterization and assay of the progesterone receptor in rat uterine nuclei.
J. Endocrinol., 76, 33-41.
- VU HAI M.T., LOGEAT F., and MILGROME E. (1978) - Progesterone receptors in the rat uterus : variations in cytosol and nuclei during the oestrous cycle and pregnancy.
J. Endocrinol., 76, 43-48.
- VU HAI M.T., LOGEAT F., WAREMBOURG M. and MILGROME E. (1977) - Hormonal control of progesterone receptors.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 286, 199-209.
- WADE G.N. and FEDER H.H. (1972 a) - ($1,2\text{-}^3\text{H}$) progesterone uptake by guinea pig brain and uterus : differential localization, time-course of uptake and metabolism, and effects of age, sex, estrogen-priming and competing steroids.
Brain Res., 45, 525-543.
- WADE G.N. and FEDER H.H. (1972 b) - Uptake of ($1,2\text{-}^3\text{H}$) 20α - hydroxyprogesterone - 4 - en 3 one, ($1,2\text{-}^3\text{H}$) corticosterone and ($6,7\text{-}^3\text{H}$) estradiol - 17β by guinea pig brain and uterus : comparison with uptake of ($1,2\text{-}^3\text{H}$) progesterone.
Brain Res., 45, 545-554.
- WADE G.N., HARDING C.F. and FEDER H.H. (1973) - Neural uptake of ($1,2\text{-}^3\text{H}$) progesterone in ovariectomized rats, guinea pigs and hamsters : correlation with species differences in behavioral responsiveness.
Brain Res., 61, 357-367.
- WALLEN K., GOLDFOOT D.A., JOSLYN W.D. and PARIS C.A. (1972) - Modification of behavioral estrus in the guinea pig following intracranial cycloheximide.
Physiol. Behav., 8, 221-223.
- WALLEN K., GOY R.W. and PHOENIX C.H. (1975) - Inhibitory actions of progesterone on hormonal induction of estrus in female guinea pigs.
Horm. Behav., 6, 127-138.
- WAREMBOURG M. (1970 a) - Fixation de l'oestradiol tritié au niveau des noyaux amygdaliens, septaux et du système hypothalamo-hypophysaire chez la souris femelle.
C. R. Acad. Sci., Paris, 270, 152-154.
- WAREMBOURG M. (1970 b) - Fixation de l'oestradiol tritié dans le télencéphale et le diencéphale chez la souris femelle.
C. R. Soc. Biol., 164, 126-129.

- WAREMBOURG M. (1971) - Etude historadioautographique des rétroactions gona-
do-hypothalamiques.
Lille Médical, 16, 507-514.
- WAREMBOURG M. (1973) - Etude radioautographique des rétroactions centrales
des corticostéroïdes ^3H chez le rat et le cobaye.
Dans : Neuroendocrinologie de l'axe corticotrope. P. DELL (Ed.). Les
Colloques de L'I.N.S.E.R.M., Paris, Vol. 22, pp 41-66.
- WAREMBOURG M. (1974) - Radioautographic study of the guinea pig uterus
after injection and incubation with ^3H progesterone.
Endocrinology, 94, 665-670.
- WAREMBOURG M. (1975 a) - Radioautographic study of the rat brain after in-
jection of (1,2- ^3H) corticosterone.
Brain Res., 89, 61-70.
- WAREMBOURG M. (1975 b) - Radioautographic study of the rat brain and
pituitary after injection of ^3H -dexamethasone.
Cell Tiss. Res., 161, 183-191.
- WAREMBOURG M. (1975 c) - Recherches des fixations nerveuses centrales des
glucocorticoïdes ^3H chez le rat.
Lille Médical, 20, 541-547.
- WAREMBOURG M. (1976) - Detection of diffusible substances.
J. Microscopie Biol. Cell., 27, 277-280.
- WAREMBOURG M. (1977 a) - Fixation des stéroïdes au niveau du système ner-
veux central et de l'hypophyse chez différents mammifères.
Ann. endocrinol., 38, 41-54.
- WAREMBOURG M. (1977 b) - Radioautographic localization of estrogen-concen-
trating cells in the brain and pituitary of the guinea pig.
Brain Res., 123, 357-362.
- WAREMBOURG M. (1977 c) - Topographical distribution of estrogen-concentra-
ting cells in the brain and pituitary of the squirrel monkey.
Neuroscience Letters, 5, 315-319.
- WAREMBOURG M. (1978 a) - Radioautographic study of the brain and pituita-
ry after ^3H progesterone injection into estrogen-primed ovariectomized
guinea pigs.
Neuroscience Letters, 7, 1-5.
- WAREMBOURG M. (1978 b) - Distribution of steroid-concentrating cells in
the central nervous system.
Dans : Biologie cellulaire des processus neurosécrétoires hypothalamiques.
VINCENT J.D. & KORDON C. (Eds), Colloques internationaux du C.N.R.S., n°
280, Editions du C.N.R.S., pp 221-237.

- WAREMBOURG M. (1978 c) - Radioautographic study of the rat brain, uterus and vagina after (³H)R5020 injection.
Mol. Cell. Endocrinol., 12, 67-79.
- WAREMBOURG M. (1978 d) - Uptake of ³H R5020 by rat brain and pituitary. A radioautographic study.
Neuroscience Letters, 9, 329-332.
- WAREMBOURG M. et MILGROM E. (1971) - Etude radioautographique des sites de fixation de la progestérone ³H au niveau de l'utérus de cobaye.
C. R. Acad. Sci., Paris, 273, 891-893.
- WAREMBOURG M. and MILGROM E. (1977) - Radioautography of the uterus and vagina after (³H) progesterone injection into guinea pigs at various periods of the estrous cycle.
Endocrinology, 100, 175-181.
- WAREMBOURG M., OTTEN U. and SCHWAB M.E. (1979) - Specific labeling of glial cells by ³H-dexamethasone in a rat sympathetic ganglion and sciatic nerve.
(Soumise pour publication).
- WATANABE H. (1975) - Dexamethasone-binding receptor in bovine pituitary cytosol.
J. Steroid Biochem., 6, 23-33.
- WEICK R.F., DIERSCHKE D.J., KARSCH F.J., BUTLER W.R., HOTCHKISS J. and KNOBIL E. (1973) - Periovulatory time courses of circulating gonadotropic and ovarian hormones in the rhesus monkey.
Endocrinology, 93, 1140-1147.
- WEINDL A. and SOFRONIEW M.V. (1976) - Demonstration of extrahypothalamic peptide secreting neurons. A morphologic contribution to the investigation of psychotropic effects of neurohormones.
Pharmakopsych., 9, 226-234.
- WHALEN R.E. (1974) - Estrogen-progesterone induction of mating in female rats.
Horm. Behav. 5, 157-162.
- WHALEN R.E. and GORZALKA B.B. (1974) - Estrogen-progesterone interactions in uterus and brain of intact and adrenalectomized immature and adult rats.
Endocrinology, 94, 214-223.
- WHALEN R.E. and LUTTGE W.G. (1971 a) - Differential localization of progesterone uptake in the brain. Role of sex, estrogen pretreatment and adrenalectomy.
Brain Res., 33, 147-155.
- WHALEN R.E. and LUTTGE W.G. (1971 b) - Role of the adrenal in the preferential accumulation of progestin by mesencephalic structures.
Steroids, 18, 141-146.

- WHALEN R.E. and MASSICCI J. (1975) - Subcellular analysis of the accumulation of estrogen by the brain of male and female rats. *Brain Res.*, 89, 255-264.
- WILSON M. and CRITCHLOW V. (1973/1974) - Effect of fornix transection or hippocampectomy on rhythmic pituitary-adrenal function in the rat. *Neuroendocrinology*, 13, 29-40.
- WINANS S.S. and SCALIA F. (1970) - Amygdaloid nucleus : new afferent input from the vomeronasal organ. *Science*, 170, 330-332.
- YANASE M. and GORSKI R.A. (1976 a) - Sites of estrogen and progesterone facilitation of lordosis behavior in the spayed rat. *Biol. Reprod.*, 15, 536-543.
- YANASE M. and GORSKI R.A. (1976 b) - The ability of the intracerebral exposure to progesterone on consecutive days to facilitate lordosis behavior : an interaction between progesterone and estrogen. *Biol. Reprod.*, 15, 544-550.
- ZEILMAKER G.H. (1966) - The biphasic effect of progesterone on ovulation in the rat. *Acta Endocrinol.*, 51, 461-468.
- ZIGMOND R.E. and McEWEN B.S. (1970) - Selective retention of oestradiol by cell nuclei in specific brain regions of the ovariectomized rat. *J. Neurochem.*, 17, 889-899.
- ZIMMERMAN E.A. (1976) - Localization of hypothalamic hormones by immunocytochemical techniques.
Dans : *Frontiers in neuroendocrinology*. MARTINI L. & GANONG W.R. (Eds), Raven Press, New York, vol. 4, pp 25-62.
- ZIMMERMAN E.A., HSU K.C., FERIN M. and KOZLOWSKI G. (1974) - Localization of gonadotropin-releasing hormone (Gn-RH) in the hypothalamus of the mouse by immunoperoxidase technique. *Endocrinology*, 95, 1-8.
- ZIMMERMANN E. and CRITCHLOW V. (1969) - Effects of intracerebral dexamethasone on pituitary-adrenal function in female rats. *Amer. J. Physiol.*, 217, 392-396.
- ZUCKER I. (1966) - Facilitatory and inhibitory effects of progesterone on sexual responses of spayed guinea pigs. *J. comp. Physiol. Psychol.*, 62, 376-381.
- ZUCKER I. (1968) - Biphasic effects of progesterone on sexual receptivity in the female guinea pig. *J. comp. Physiol. Psychol.*, 65, 472-478.



**Cette thèse
a été imprimée
sur offset
par
le Service Polycopie
de l'Association Corporative
des
Etudiants en Médecine
de Lille.**