

50376  
1979  
132

N° d'ordre: 447

50376  
1979  
132

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

**Pierre POULAIN**

# ÉTUDE DESCRIPTIVE ET FONCTIONNELLE DE L'AIRE SEPTOPRÉOPTIQUE ET DE SES RELATIONS AVEC LA RÉGION INFUNDIBULAIRE CHEZ LE COBAYE



soutenu le 27 Avril 1979 devant la commission d'examen :

MM. J.-P. ROUSSEAU,	Président
J. BARRY,	Rapporteur
Ph. RICHARD,	Rapporteur
Ph. ASCHER,	Examineur
P. DELORME,	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 TITULAIRES

M. BACCHUS Pierre	Astronomie
M. BEUFILS Jean-Pierre	Chimie Physique
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. 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. LINDER Robert	Biologie et Physiologie Végétales
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. 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 SANS CHAIRE

M. BELLET Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. BKUCHE Rudolphe	Algèbre
M. BODARD Marcel	Biologie Végétale
M. BOILLY Bénoni	Biologie Animale
M. CAPURON Alfred	Biologie Animale
M. CARREZ Christian	Informatique
M. CORTOIS Jean	Physique Nucléaire et Corpusculaire
Mme DACHARRY Monique	Géographie
M. DEVRAINNE Pierre	Chimie Minérale
M. GOSSELIN Gabriel	Sociologie
M. GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M. GUILBAULT Pierre	Physiologie Animale
M. HERMAN Maurice	Physique Spatiale
M. JOURNEL Gérard	Physique Atomique et Moléculaire
Mme LEHMANN Josiane	Analyse
M. LENTACKER Firmin	Géographie
M. LOUAGE Francis	Electronique
M. MAIZIERES Christian	Automatique
Mle MARQUET Simone	Probabilités
M. MESSELYN Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. MIGEON Michel	Chimie Physique
M. MONTEL Marc	Physique du Solide
M. RACZY Ladislas	Electronique
M. ROUSSEAU Jean-Paul	Physiologie Animale
M. SLIWA Henri	Chimie Organique
M. WATERLOT Michel	Géologie Générale

MAITRES DE CONFERENCES (et Chargés d'Enseignement)

M. AL FAKIR Sabah	Algèbre
M. ANTOINE Philippe	Analyse
M. BART André	Biologie Animale
Mme BATTIAU Yvonne	Géographie
M. BEGUIN Paul	Mécanique
M. BOBE Bernard	Sciences Economiques
M. BONNELLE Jean-Pierre	Chimie
M. BOSCOQ Denis	Probabilités
M. BREZINSKI Claude	Analyse Numérique
M. BRUYELLE Pierre	Géographie
M. CHAMLEY Hervé	Géotechnique
M. COQUERY Jean-Marie	Psychophysiologie
M. COURBIS Bernard	Sciences Economiques
M. COUTURIER Daniel	Chimie Organique
M. DEBRABANT Pierre	Géologie Appliquée
M. DEGAUQUE Pierre	Electronique
M. DELORME Pierre	Physiologie Animale
M. DE PARIS Jean-Claude	Mathématiques
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
M. ESCAIG Bertrand	Physique du Solide
M. FLAMME Jean-Marie	Technologie de Construction
M. FONTAINE Hubert	Physique
M. GAMBLIN André	Géographie
M. GOBLOT Rémi	Algèbre
M. GREVET Patrick	Sciences Economiques
M. JACOB Gérard	Informatique
M. KREMBEL Jean	Biochimie
M. LAURENT François	Automatique
Mlle LEGRAND Denise	Algèbre
Mlle LEGRAND Solange	Algèbre
M. LEVASSEUR Michel	Sciences Economiques
M. LHENAFF René	Géographie
M. LOCQUENEUX Robert	Physique Théorique
M. LOSFELD Joseph	Informatique
M. MACKE Bruno	Physique
M. MIGNOT Fulbert	Analyse Numérique
M. N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M. PARSY Fernand	Mécanique
Mlle PAUPARDIN Colette	Biologie Physiologie Végétales
M. PERROT Pierre	Chimie Appliquée
M. PERTUZON Emile	Physiologie Animale
M. PONSOLLE Louis	Chimie Physique
M. POVY Lucien	Automatique
M. RICHARD Alain	Biologie
M. RIETSCH François	Chimie
M. ROGALSKI Marc	Analyse
M. ROY Jean-Claude	Psychophysiologie
M. SALAMA Pierre	Sciences Economiques
Mme SCHWARZBACH Yvette	Mathématiques
M. SIMON Michel	Sociologie
M. SOMME Jean	Géographie

Mlle SPIK Geneviève  
M. STERBOUL François  
M. TAILLIEZ Roger  
M. TOULOTTE Jean-Marc  
M. TREANTON Jean-René  
M. VANDORPE Bernard  
M. WALLART Francis  
Mme ZINN-JUSTIN Nicole

Biochimie  
Informatique  
Biologie  
Automatique  
Sociologie  
Chimie Minérale  
Chimie  
Algèbre

A Monsieur le Professeur ROUSSEAU, j'exprime toute ma reconnaissance de l'honneur qu'il me fait en présidant le jury de cette thèse . J'ai profité de ses conseils judicieux lors de sa rédaction . Son esprit critique et sa bienveillance, qui m'ont été révélés à cette occasion, resteront exemplaires . Qu'il soit assuré de ma gratitude et de mon profond respect .

A Monsieur le Professeur BARRY, je témoigne mon admiration et mon respectueux attachement . M'ayant formé à la recherche dans un esprit ambitieux mais efficace, il a suscité avec foi et encouragé avec confiance les travaux qui font l'objet de ce mémoire . J'espère ne pas le décevoir dans la poursuite de ma carrière, qui sera toujours influencée par l'exemple de son dynamisme scientifique .

A Monsieur le Professeur RICHARD, j'exprime tous mes remerciements d'avoir bien voulu accepter d'être un des rapporteurs de cette thèse et de m'apporter les précieux conseils qui ont contribué à améliorer sa présentation . Sa compétence dans le domaine de la neuroendocrinologie fait que je serais très heureux s'il trouvait quelque intérêt à sa lecture .

A Monsieur le Professeur ASCHER, qui me fait l'honneur de s'intéresser à mes recherches et d'en juger les résultats, j'exprime ma sincère gratitude .

A Monsieur le Professeur DELORME, qui a aimablement accepté de faire partie du jury, je suis heureux d'adresser mes plus vifs remerciements .

J'adresse également un grand merci :

à Monsieur Poulain, qui a apporté son aide efficace dans la conception et la réalisation de certains dispositifs expérimentaux,

à Monsieur Carette, avec qui les expériences de microiontophorèse ont été effectuées,

à Mesdames Carette et Bouchez et à Mademoiselle Le Claire, qui ont assuré la dactylographie .

# PLAN

* <u>INTRODUCTION</u> .....	p. 1
* <u>DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES : PROBLEMES POSES ET OBJECTIFS</u> .....	p. 4
A. <u>LOCALISATION DES ELEMENTS ELABORANT LES NEUROPEPTIDES A COMPETENCE GONADOTROPE</u> .....	p. 4
1) Approche indirecte de la systématisation des éléments neurosécréteurs .....	p. 4
a) <i>L'aire hypophysiotrope</i> .....	p. 4
b) <i>Le système tubéro-infundibulaire</i> .....	p. 5
a) Description anatomique .....	p. 5
b) Description électrophysiologique .....	p. 5
2) Approche directe de la systématisation des éléments neurosécréteurs .....	p. 6
a) <i>Les neurones élaborant LH - RH chez le cobaye</i> .....	p. 6
b) <i>Problèmes posés</i> .....	p. 7
B. <u>LA REGION SEPTOPREOPTIQUE ET LE CONTROLE DE L'OVULATION CHEZ LA RATE</u> .....	p. 7
1) <i>L'aire préoptique : centre cyclique</i> .....	p. 8
a) <i>La relation préoptico-arquée</i> .....	p. 8
b) <i>Problèmes posés</i> .....	p. 9
2) <i>Le septum</i> .....	p. 10
a) <i>Implication du septum dans le contrôle de la sécrétion de LH ..</i>	p. 10
b) <i>Problèmes posés</i> .....	p. 11
C. <u>OBJECTIFS</u> .....	p. 12
* <u>MATERIEL ET METHODES</u> .....	p. 14
A. <u>ATLAS STEREOTAXIQUE</u> .....	p. 14

1) Définition des plans de référence de l'atlas stéréotaxique .....	p. 14
2) Préparation des plans de référence .....	p. 15
3) Techniques histologiques .....	p. 16
4) Obtention de l'atlas .....	p. 16
B. <u>LESIONS ELECTROLYTIQUES</u> .....	p. 17
C. <u>TECHNIQUE NEUROANATOMIQUE</u> .....	p. 17
1) Injection de peroxydase .....	p. 17
a) Injection de 0,1 à 0,3 $\mu$ l .....	p. 18
b) Injection de 0,05 $\mu$ l.....	p. 18
2) Révélation de la peroxydase .....	p. 18
D. <u>TECHNIQUES ELECTROPHYSIOLOGIQUES</u> .....	p. 19
1) Techniques opératoires .....	p. 19
2) Electrodes de stimulation .....	p. 20
3) Microélectrodes .....	p. 20
a) Microélectrodes simples.....	p. 20
b) Microélectrodes à canaux multiples .....	p. 21
c) Remplissage des microélectrodes .....	p. 22
d) Solutions utilisées .....	p. 23
4) Enregistrement et stimulation .....	p. 23
5) Microiontophorèse .....	p. 24
a) Principe .....	p. 24
b) Application des courants de microiontophorèse .....	p. 24
6) Repérage des sites d'enregistrement et de stimulation	p. 26
* <u>PREMIERE PARTIE</u> :	
<u>ETUDE DESCRIPTIVE ET FONCTIONNELLE DE L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE</u> .....	p. 27
INTRODUCTION .....	p. 27
<u>CHAPITRE I</u> : ATLAS STEREOTAXIQUE .....	p. 28
<u>CHAPITRE II</u> : ETUDE PRELIMINAIRE : LESIONS ELECTROLYTIQUES DES REGIONS PREOPTIQUE SUPRACHIASMATIQUE ET RETRO- CHIASMATIQUE : CONSEQUENCES SUR LE CYCLE OESTRAL ET L'OVULATION .....	p. 30
RESULTATS .....	p. 31
1) Destruction de la région préoptique suprachiasmatique	p. 31



a) Cycle oestral .....	p. 31
b) Ovaires .....	p. 33
2) Destruction de la région rétrochiasmatique .....	p. 34
a) Cycle oestral .....	p. 34
b) Ovaires .....	p. 34
3) Destruction incomplète de la région préoptique rétrochiasmatique .....	p. 34
4) Autres lésions .....	p. 34
DISCUSSION .....	p. 35
1) Sécrétion tonique des hormones gonadotropes .....	p. 35
2) Sécrétion cyclique de LH .....	p. 36
a) Rétroaction positive des oestrogènes .....	p. 37
b) Activation intrinsèque du centre cyclique .....	p. 38
c) Elaboration de LH - RH .....	p. 39
CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE .....	p. 41
 *DEUXIEME PARTIE :	
IDENTIFICATION A L'ECHELON UNITAIRE DES RELATIONS ENTRE L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE ET LA REGION INFUNDIBULAIRE. ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE ET NEUROANATOMIQUE .....	
	p. 42
INTRODUCTION .....	p. 42
 <u>CHAPITRE I</u> : ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE DES RELATIONS ENTRE L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE ET LA REGION INFUNDIBULAIRE .....	
	p. 43
 <u>A. PROPRIETES DES REPONSES DE NATURE ANTIDROMIQUE OBTENUES DANS L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE AU COURS DE LA STIMULATION DE LA REGION INFUNDIBULAIRE</u> .....	
	p. 43
RESULTATS .....	p. 43
1) Latence d'excitation .....	p. 44
a) vitesse de conduction .....	p. 44
b) Ajustement de la latence .....	p. 44
2) Composants de la réponse : spikes A et B .....	p. 45
3) Stimulation par double choc .....	p. 45
a) Période réfractaire absolue .....	p. 45
a) Mesure de la période réfractaire absolue .....	p. 45
b) r réductible .....	p. 46
b) Période réfractaire relative .....	p. 46
c) Latence et seuil de la réponse au second choc .....	p. 47
d) Résumé des observations recueillies lors d'une stimulation par double choc .....	p. 47

4) Stimulation à haute fréquence .....	p. 48
5) Propriétés particulières des réponses .....	p. 48
6) Collision .....	p. 50
a) Définition de l'intervalle de collision .....	p. 50
b) Résultats de l'application du test de la collision .....	p. 51
DISCUSSION .....	p. 52
1) Latence d'excitation .....	p. 52
2) Spikes A et B .....	p. 54
3) Stimulation par double choc, réponses à haute fréquence .....	p. 55
4) Latence et seuil de la réponse au choc test .....	p. 55
5) Collision .....	p. 56
 B. <u>PROPRIETES DES REPNSES DE NATURE TRANSSYNAPTIQUE OBTENUES DANS L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE AU COURS DE LA STIMULATION DE LA REGION INFUNDIBULAIRE</u> .....	 p. 57
RESULTATS .....	p. 57
1) Excitations orthodromiques .....	p. 58
a) Excitation brève.....	p. 58
b) Activation de longue durée .....	p. 59
2) Inhibition initiale de la fréquence de décharge ....	p. 59
3) Inhibition succédant à une excitation antidromique .	p. 59
a) Inhibition dépendante de l'apparition du potentiel d'action an- tidromique .....	p. 59
b) Inhibition indépendante de l'apparition du potentiel d'action antidromique .....	p. 60
α) Durée de la pause .....	p. 60
β) Latence de la pause .....	p. 61
4) Inhibition succédant à une excitation orthodromique	p. 61
DISCUSSION .....	p. 61
1) Inhibition succédant à une excitation antidromique .	p. 62
a) Nature transsynaptique de la pause .....	p. 62
b) Support anatomique du processus inhibiteur .....	p. 63
2) Inhibition succédant à une excitation orthodromique	p. 64
 C. <u>TOPOGRAPHIE DES NEURONES SEPTOPREOPTIQUES REPNDANT A LA STIMU- LATION DE LA REGION INFUNDIBULAIRE</u> .....	 p. 66

1) Topographie des neurones répondant à la stimulation par un potentiel d'action évoqué de manière antidromique ou orthodromique .....	p. 66
a) <i>Stimulation de l'émittance médiane</i> .....	p. 67
b) <i>Stimulation du noyau arqué</i> .....	p. 67
2) Topographie des neurones répondant à la stimulation pour une excitation ou une inhibition de longue durée .....	p. 68
DISCUSSION DES RESULTATS OBTENUS PAR LA TECHNIQUES D'IDENTIFICATION ELECTROPHYSIOLOGIQUE .....	
1) Tractus septopréoptico-tubéral .....	p. 69
a) <i>Projections afférentes au noyau arqué</i> .....	p. 70
b) <i>Projections afférentes à l'émittance médiane</i> .....	p. 71
c) <i>Projections afférentes au noyau arqué et à l'émittance médiane</i> .....	p. 71
2) Tractus tubéro-septopréoptique .....	p. 71
3) Inhibition de l'activité spontanée des neurones excités orthodromiquement .....	p. 73
<u>CHAPITRE II</u> : ETUDE NEUROANATOMIQUE DES RELATIONS ENTRE L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE ET LA REGION INFUNDIBULAIRE .....	
A. <u>DONNES BIBLIOGRAPHIQUES CONCERNANT LES RELATIONS ENTRE L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE ET LE TUBER MEDIO-BASAL, ETUDIEES A L'AIDE DE TECHNIQUES NEUROANATOMIQUES</u> .....	
1) Projections de l'aire préoptique médiane afférentes au tuber médio-basal .....	p. 75
a) <i>Projections afférentes au noyau arqué</i> .....	p. 76
b) <i>Projections afférentes à l'émittance médiane</i> .....	p. 76
2) Projections du septum afférentes au tuber médio-basal .....	p. 77
3) Projections du tuber médio-basal afférentes à l'aire septopréoptique .....	p. 78
B. <u>RECHERCHES PERSONNELLES SUR LES RELATIONS SEPTOPREOPTICO-TUBERALES</u> .....	
RESULTATS .....	p. 79
1) Eléments contenant une substance endogène réactive chez l'animal témoin .....	p. 79
2) Examens de la réaction produite au site d'injection .....	p. 80
3) Examen de la réaction produite à distance .....	p. 81
a) <i>Identification de fibres nerveuses</i> .....	p. 81
b) <i>Identification des péricaryons</i> .....	p. 82

α) Topographie des corps cellulaires des neurones afférents à la région infundibulaire .....	p. 82
β) Topographie des corps cellulaires des neurones afférents à la lèvre ventrale de l'éminence médiane.	p. 83
γ) Topographie des corps cellulaires des neurones affé- rents au noyau arqué .....	p. 83
DISCUSSION .....	p. 84
1) Aspects méthodologiques .....	p. 84
a) <i>Types de marquage</i> .....	p. 84
α) marquage de type diffus .....	p. 85
β) Marquage de type granulaire .....	p. 86
b) <i>Lieu d'origine du transport rétrograde</i> .....	p. 87
c) <i>Transport rétrograde à partir de fibres lésées</i> .....	p. 88
d) <i>Limitations de la topographie obtenue</i> .....	p. 89
2) Identification neuroanatomique des neurones afférents à la région infundibulaire .....	p. 90
CONCLUSION DE LA DEUXIEME PARTIE .....	p. 92

**\*TROISIEME PARTIE :**

CONTRIBUTION A L'IDENTIFICATION FONCTIONNELLE DES NEURONES DE L'  
AIRE SEPTOPREOPTIQUE. ETUDE PAR MICROIONTOPHORESE

INTRODUCTION .....	p. 94
A. <u>COMMANDE NERVEUSE DES NEURONES A LH - RH</u> .....	p. 95
1) Les neurones dopaminergiques .....	p. 96
2) La noradrénaline .....	p. 96
B. <u>PRESENTATION DE L'ETUDE MICROIONTOPHORETIQUE</u> .....	p. 96
<u>CHAPITRE I : ACETYLCHOLINE</u> .....	p. 98
RESULTATS .....	p. 98
DISCUSSION .....	p. 99
<u>CHAPITRE II : LH - RH</u> .....	p.102
RESULTATS .....	p.103
1) Types de réponse .....	p.103
2) Action de LH - RH sur les neurones excités orthodro- miquement .....	p.103

3) Action de LH - RH sur les neurones excités antidromiquement .....	p. 104
DISCUSSION .....	p. 105
1) Types de réponse des neurones sensibles à LH - RH en fonction de leurs projections .....	p. 106
2) Implication de LH - RH dans un rôle de neurotransmission .....	p. 107
a) Observations immunohistologiques .....	p. 107
b) Observations électrophysiologiques .....	p. 108
3) Signification fonctionnelle des effets .....	p. 108
a) Action sur les neurones à LH - RH .....	p. 108
b) Action sur le comportement sexuel .....	p. 110
<u>CHAPITRE III</u> : PROSTAGLANDINES E <sub>2</sub> ET F <sub>2α</sub> .....	p. 112
RESULTATS .....	p. 113
1) Cycle d'activation .....	p. 113
2) Désensibilisation .....	p. 113
3) Autres effets .....	p. 114
DISCUSSION .....	p. 115
1) Type de réponse .....	p. 115
2) Signification fonctionnelle des effets .....	p. 115
a) Sites d'intervention des PG dans le contrôle de la fonction LH .....	p. 115
b) Mode d'action des PG envers les neurones à LH - RH .....	p. 116
<u>CHAPITRE IV</u> : PROLACTINE .....	p. 118
RESULTATS .....	p. 119
1) Premier type de réponse : inhibition et excitation limitées à la période d'application de la prolactine .....	p. 119
2) Second type de réponse : excitation de longue durée .....	p. 120
DISCUSSION .....	p. 121
1) Types de réponse des neurones sensibles à la prolactine en fonction de leurs projections .....	p. 121
2) Implication de la prolactine dans un rôle de neurotransmission : effets brefs .....	p. 121
3) Signification fonctionnelle des effets de longue durée .....	p. 122
a) Régulation de la sécrétion de prolactine .....	p. 122
b) Régulation de la sécrétion de LH - RH .....	p. 124

DISCUSSION ET CONCLUSION DE LA TROISIEME PARTIE .....	p. 125
<u>A. ASPECTS METHODOLOGIQUES</u> .....	p. 125
1) Considérations sur le site d'action des substances appliquées par microiontophorèse .....	p. 125
a) Effets indirects .....	p. 125
b) Effets au niveau pré-synaptique .....	p. 126
c) Effets au niveau post-synaptique .....	p. 126
2) Considérations sur le mode d'action des substances appliquées par microiontophorèse .....	p. 127
a) Effets brefs .....	p. 127
b) Effets prolongés .....	p. 128
a) Action modulatrice à long terme .....	p. 128
b) Altération du métabolisme cellulaire .....	p. 129
<u>B. SYNTHESE DES RESULTATS OBTENUS PAR LA TECHNIQUE DE MICROIONTO- PHORESE</u> .....	p. 130
1) Caractéristiques fonctionnelles des structures de l'aire septopréoptique .....	p. 131
a) Septum .....	p. 131
b) Aire préoptique médiane .....	p. 131
a) Contrôle de la fonction LH .....	p. 131
b) Contrôle de la fonction prolactine .....	p. 132
2) Actions hormonales diverses au niveau de l'aire septo- préoptique .....	p. 132
<u>*DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALES</u> .....	p. 134
1) Tractus préoptico-infundibulaire .....	p. 135
2) La voie préoptico-infundibulaire à LH - RH chez le cobaye .....	p. 136
3) Tractus préoptico-arqué .....	p. 137
4) Tractus septo-arqué .....	p. 138

\*BIBLIOGRAPHIE.

## INTRODUCTION

La sécrétion des différentes hormones élaborées par le lobe antérieur de l'hypophyse (ou préhypophyse) est placée sous le contrôle du système nerveux central. Ce contrôle s'exerce à deux niveaux :

A un premier niveau, des hormones peptidiques synthétisées par des cellules neuroglandulaires hypothalamiques assurent la trophicité et la potentialité sécrétoire des cellules préhypophysaires. La connexion hypothalamo-hypophysaire est assurée par :

- les relations neurovasculaires existant entre certaines fibres nerveuses originaires de l'hypothalamus et les capillaires du plexus porte primaire de l'hypophyse, au niveau de l'éminence médiane (ou infundibulum au sens strict).

- les relations vasculaires (vaisseaux portes) existant entre le plexus porte primaire et les capillaires sinusoides irriguant la préhypophyse.

Déversés dans la circulation portale, les neuropeptides hypothalamiques ont le pouvoir, soit d'augmenter l'activité sécrétoire des différents groupes cellulaires de la préhypophyse : ce sont les RF (H) : releasing factors (hormones), soit de l'inhiber : ce sont les IF (H) : inhibiting factors (hormones). Parmi ces neuropeptides, une substance de structure décapeptidique, la gonadolibérine (LH-FSH/RH) ou lulibérine (LH-RH) est isolée et synthétisée. Elle exerce une action trophique sur les cellules gonadotropes à LH et FSH. Une autre substance, dont la séquence amino-acidique reste inconnue, le PIF (prolactin-inhibiting-factor) bloque la libération de prolactine. La dopamine a une action de type PIF (Fig. 1).

En l'absence de techniques permettant l'identification des cellules responsables de la sécrétion des neuropeptides, l'hypothalamus médio-basal



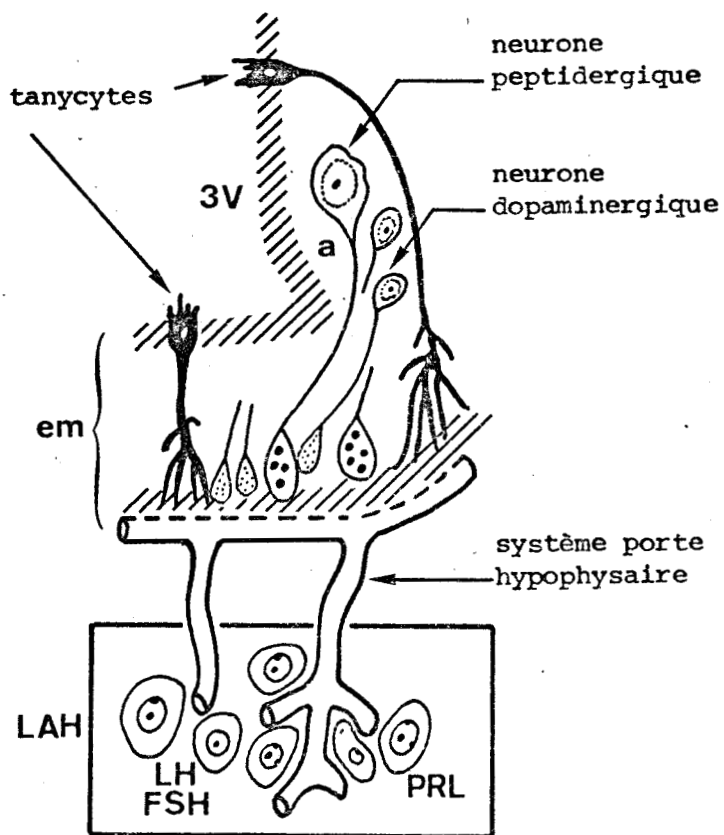


FIGURE 1. Représentation simplifiée des mécanismes de commande des sécrétions préhypophysaires .

La gonadolibérine (élaborée par les éléments neurosécréteurs) et la dopamine (des neurones tubéro-infundibulaires) sont libérées dans le sang du plexus porte primaire et drainées par les vaisseaux portes se distribuant à la région postéro-médiane de la préhypophyse (ou lobe antérieur : LAH) . Ces substances contrôlent respectivement la sécrétion des hormones gonadotropes : hormone folliculo-stimulante (FSH) et lutéinostimulante (LH) et de la prolactine (PRL) .

a : noyau arqué ; em : éminence médiane ; 3V : 3ème ventricule .



est longtemps resté considéré comme le siège du premier niveau du contrôle nerveux de l'activité préhypophysaire.

A un second niveau, ce contrôle est assuré par toutes les structures hypothalamiques et extra-hypothalamiques qui tiennent sous leur dépendance, par l'intermédiaire d'une relation directe ou indirecte, l'activité des éléments neuroglandulaires hypothalamiques. Des informations d'origine externe ou interne sont reçues et intégrées par ces structures. Stockées provisoirement ou utilisées immédiatement, elles sont transmises aux cellules neurosécrétrices. Parmi ces informations, celles qui proviennent des glandes endocrines distales et de la préhypophyse elle-même, assurent la régularisation des sécrétions préhypophysaires par le biais des rétroactions hormonales. La localisation des structures influençant la sécrétion des neuropeptides à compétence préhypophysaire est bien connue en ce qui concerne l'axe gonadotrope chez le rat. Dans l'hypothalamus, l'aire préoptique assure la commande du déclenchement périodique de la décharge massive des hormones gonadotropes responsable de l'ovulation. En dehors de l'hypothalamus, le septum contribue à l'activation du "centre cyclique" préoptique. L'aire septopréoptique dans son ensemble est donc impliquée dans le contrôle de l'activité sécrétoire des neurones élaborant LH-RH. L'emploi de techniques cytoimmunologiques rend maintenant possible l'examen morphologique direct de certaines catégories de neurones synthétisant les hormones dont dépendent les sécrétions préhypophysaires. Les résultats obtenus bouleversent la notion classique d'un contrôle des sécrétions gonadotropes à un double niveau, chacun ayant une localisation anatomique distincte. En effet, ils révèlent qu'en plus de l'hypothalamus médio-basal, l'aire septopréoptique contient les corps cellulaires des neurones élaborant LH-RH. De ce fait, l'étude de cette région s'avère être d'une importance primordiale pour la compréhension des mécanismes de contrôle des sécrétions gonadotropes. Cette thèse présente les résultats des travaux consacrés à cette étude chez le cobaye.

Le plan de thèse est le suivant :

- nous présentons d'abord un bref rappel des connaissances qui consacrent l'importance du rôle de la région septopréoptique dans le contrôle de la sécrétion de LH. En fonction de ces données, nous dégageons les objectifs précis qui font l'objet de nos recherches.

- nous présentons ensuite une mise au point sur le matériel et les méthodes utilisés

- nos résultats personnels sont enfin exposés et discutés.

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

PROBLÈMES POSÉS ET OBJECTIFS

L'examen de la bibliographie se rapportant au contrôle des sécrétions gonadotropes indique que la rate, du fait de ses cycles sexuels courts, est l'animal de prédilection pour l'étude des mécanismes de l'ovulation. Les données obtenues chez cet animal et les conclusions auxquelles elles mènent servent de référence pour la discussion des résultats obtenus chez d'autres rongeurs. De ces données se dégage la notion de la dualité du contrôle nerveux de la sécrétion des gonadotropines, assuré par deux structures distinctes : l'aire hypophysiotrope et la région septopréoptique.

A. LOCALISATION DES ELEMENTS ELABORANT LES NEUROPEPTIDES A COMPETENCE GONADOTROPE

1) Approche indirecte de la systématisation des éléments neurosécréteurs

Avant l'avènement des techniques qui permettent maintenant l'identification des cellules à LH-RH, diverses observations ont apporté chez le rat certaines données relatives à la systématisation des éléments neurosécréteurs à destinée infundibulaire.

a) L'aire hypophysiotrope

Les travaux de HALASZ et Coll. (1962), KNIGGE (1962) et FLAMENT-DURANT (1965) démontrent que des greffons hypophysaires ectopiques ne conservent leur structure et leur fonction que lorsqu'ils sont implantés dans une région bien délimitée de l'hypothalamus. L'examen histologique des greffons et l'incidence des homogreffes sur le cycle sexuel permettent d'envisager l'hypothèse suivante :

- les corps cellulaires de cette région hypothalamique produisent des "facteurs hypophysiotropes" stimulant la fonction gonadotrope.
- ces facteurs atteignent par diffusion les greffons implantés.
- ils sont identiques aux hormones hypothalamiques qui assurent par la voie portale la relation fonctionnelle entre le système nerveux et l'hypophyse.

Cette hypothèse conduit à définir les limites d'une "aire hypophysiotrope" (HALASZ et Coll., 1962, 1965) impliquée dans l'élaboration des facteurs de cession des hormones hypophysaires. Cette aire s'étend de l'hypothalamus antérieur à l'hypothalamus médio-basal (Fig. 2).

### b) Le système tubéro-infundibulaire

#### α) Description anatomique

L'examen neurohistologique de l'aire hypophysiotrope révèle l'existence d'une population de neurones parvocellulaires dont les axones aboutissent au contact des anses intra-infundibulaires et des capillaires du plexus porte primaire, dans la région externe de l'éminence médiane (SZENTAGOTHAÏ, 1964). Ces neurones appartiennent principalement au noyau arqué. Ils sont contenus dans les limites de l'aire hypophysiotrope, étant donné que sa déconnexion chirurgicale ne provoque pas de dégénérescence des terminaisons axoniques dans la région externe de l'éminence médiane (RETHEYLI et HALASZ, 1970).

#### β) Description électrophysiologique

La stimulation de la région externe de l'éminence médiane permet l'identification antidromique des neurones qui s'y projettent directement. L'ensemble des résultats obtenus par cette méthode (YAGI et SAWAKI, 1970a et b; YAGI et Coll. 1971; HARRIS et Coll., 1971; MAKARA et Coll., 1972; SAWAKI et YAGI, 1973; MOSS et RISKIND, 1973; HARRIS et SANGHERA, 1974; KAWAKAMI et SAKUMA, 1974; MOSS et Coll., 1975b; RENAUD et MARTIN, 1975; RENAUD, 1976 b, c, d; SAWAKI et YAGI, 1976; RENAUD, 1977; YAGI et SAWAKI, 1977) précise la zone d'extension des neurones à destinée infundibulaire. Les limites de cette zone se superposent assez exactement à celles de l'aire hypophysiotrope. Les descriptions anatomique et électrophysiologique conduisent à la défini-

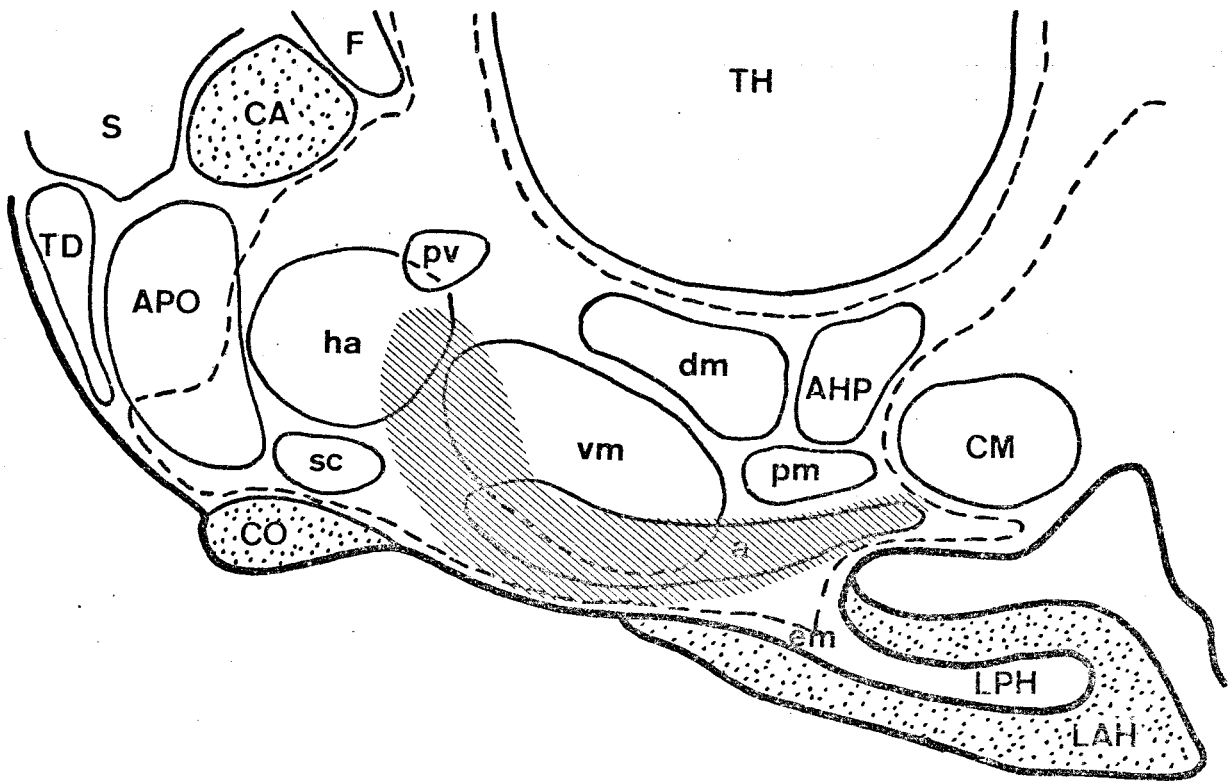


FIGURE 2 . Représentation schématique de la localisation de l'aire hypophysiotrope (d'après FLERKO, 1967)

L'aire hypophysiotrope est figurée par des hachures sur une coupe longitudinale parasagittale du diencéphale du rat .

a : noyau arqué, AHP : aire hypothalamique postérieure, APO : aire préoptique, CA : commissure blanche antérieure, CM : corps mamillaires, CO : chiasma optique, dm : noyau dorso-médian, em : éminence médiane, F : fornix, ha : noyau hypothalamique antérieur, LAH : lobe antérieur de l'hypophyse, LPH : lobe postérieur de l'hypophyse, pm : noyau prémamillaire, pv : noyau paraventriculaire, S : septum, sc : noyau suprachiasmatique, TD : tractus diagonal de Broca, TH : thalamus, vm : noyau ventro-médian .

tion d'un système parvocellulaire de neurones tubéro-infundibulaires, système présentant une projection jugée unidirectionnelle (HALASZ, 1972) vers les espaces péricapillaires du système porte primaire. La conception neuro-hormonale de l'articulation hypothalamo-hypophysaire repose sur l'existence d'un contact neuro-hémal entre les éléments neuroglandulaires et les capillaires du plexus porte primaire. De par leur projection, mais sans qu'une preuve directe de leur compétence neurosécrétoire ne soit apportée, les neurones tubéro-infundibulaires sont considérés comme étant les éléments élaborateurs des facteurs hypophysiotropes. L'aire hypophysiotrope, qui recèle la totalité de ces neurones, constitue l'unique source des hormones hypothalamiques destinées à la préhypophyse.

## 2) Approche directe de la systématisation des éléments neurosécréteurs

A la suite de la préparation d'anticorps spécifiques dirigés contre LH-RH, l'emploi des techniques cytoimmunologiques a rendu possible la caractérisation directe des cellules neuroglandulaires. L'individualisation d'axones spécifiquement immunoréactifs avec l'anticorps anti-LH-RH, aboutissant au contact des capillaires du plexus porte primaire, est d'abord réalisée (LEONARDELLI et Coll., 1973). Diverses manipulations tendant à bloquer la migration intra-axonale du peptide sont nécessaires pour identifier les corps cellulaires contenant un matériel immunoréactif décelable. Nous avons apporté notre contribution technique à ce travail qui a permis, pour la première fois, de détailler la topographie et la systématisation des neurones élaborateurs de LH-RH, chez le cobaye (BARRY et Coll., 1973 a et b ; LEONARDELLI et Coll., 1974).

### a) Les neurones élaborant LH-RH chez le cobaye

Les péricaryons immunoréactifs sont abondants dans les régions septopréoptique et hypothalamique antérieure. En arrière du chiasma, leur nombre devient très faible dans la région tubéro-mamillaire. Il est impossible de suivre sur tout leur trajet les fibres issues de ces corps cellulaires. Cependant, l'étude du matériel immunoréactif dans les deux sexes et de ses modifications dans diverses circonstances expérimentales et phy-



siologiques (BARRY et DUBOIS, 1974 ; BARRY et Coll., 1974) permet d'étayer l'hypothèse d'un tractus préoptico-infundibulaire à LH-RH, proposée par BARRY et Coll. (1973a). Ce tractus provient essentiellement des neurones de l'hypothalamus rostral. Il rassemble la majeure partie de leurs axones, qui se distribuent dans l'éminence médiane et se terminent au contact des capillaires du plexus porte primaire. En raison du faible nombre de neurones à LH-RH constituant le groupe infundibulaire, il n'est pas possible d'individualiser un tractus tubéro-infundibulaire à LH-RH (BARRY et DUBOIS, 1976).

#### b) Problèmes posés

L'hypothèse proposée par BARRY et ses collaborateurs remet en cause la notion d'un système à destinée infundibulaire étroitement confiné dans les limites de l'aire hypophysiotrope telles qu'elles sont décrites chez le rat. Cette hypothèse est remise en question par SILVERMAN (1976) qui assure que chez le cobaye, la plus grande partie du tractus hypothalamo-infundibulaire à LH-RH provient de neurones localisés dans l'hypothalamus médio-basal. D'après cet auteur, l'existence d'une voie neurosécrétrice préoptico-infundibulaire est contestable car l'isolement chirurgical de l'hypothalamus médio-basal (SILVERMAN, 1976) et la destruction de l'aire préoptique (SILVERMAN et KREY, 1977) ne provoquent qu'une faible baisse de la charge en LH-RH dans l'éminence médiane. De plus, des discussions subsistent quant à l'existence d'une relation directe entre l'aire préoptique et l'éminence médiane chez les rongeurs. Ces incertitudes justifient l'entreprise d'une étude visant à préciser chez le cobaye la distribution topographique des péricaryons des neurones afférents à l'éminence médiane.

#### B. LA REGION SEPTOPREOPTIQUE ET LE CONTROLE DE L'OVULATION CHEZ LA RATE

Les expériences de déconnexion de l'aire hypophysiotrope chez la rate permettent de déceler l'existence de structures impliquées dans les mécanismes assurant la libération périodique des gonadotropines, nécessaire au maintien de cycles sexuels normaux (HALASZ et PUPP, 1965). Des sections verticales, privant l'hypothalamus médio-basal de ses seules afférences frontales, démontrent que ces structures se situent en avant de l'aire hypophysiotrope (HALASZ et GORSKI, 1967 ; KOVES et HALASZ, 1970 ; TALEISNIK

et Coll., 1970 ; KAASJAGER et Coll., 1971 ; KOBAYASHI et MIYAKE, 1971). Parmi elles, la région préoptique représente le point de convergence des influences nerveuses dont dépend la libération du pic préovulatoire de LH.

#### 1) L'aire préoptique : centre cyclique

La destruction électrolytique de l'aire préoptique déclenche l'apparition d'un syndrome d'oestrus constant (HILLARP, 1949 ; COOK, 1959 ; TALEISNIK et Mc CANN, 1961 ; FLERKO, 1962 ; CRITCHLOW, 1963 ; KENNEDY, 1964 ; BARRACLOUGH et Coll., 1964 ; KORDON, 1967). En contrepartie, la stimulation électrique ou électrochimique de la même région :

- modifie le contenu des hormones hypophysiotropes dans l'hypothalamus médio-basal (KALRA et Coll., 1973)

- provoque une décharge de LH-RH dans la circulation portale (HARRIS et RUF, 1970 ; BURGER et Coll., 1972 ; FINK et JAMIESON, 1976 ; CHIAPPA et Coll., 1977 ; ESKAY et Coll., 1977)

- augmente le niveau plasmiq ue de LH (TERASAWA et SAWYER, 1969 b ; KAWAKAMI et Coll., 1971 ; KALRA et Coll., 1971 ; CLEMENS et Coll., 1971 b ; KELLER et LICHTENSTEIGER, 1971 ; CRAMER et BARRACLOUGH, 1971 ; KALRA et Mc CANN, 1973 b ; KAWAKAMI et Coll., 1973 a ; EVERETT et Coll., 1973 ; TURGEON et BARRACLOUGH, 1973)

- rétablit l'ovulation chez les animaux dont le cycle oestral est bloqué en pro-oestrus par l'anesthésie générale au Nembutal. (EVERETT et RADFORD, 1961 ; EVERETT, 1964 a ; EVERETT, 1965 ; TERASAWA et SAWYER, 1969a ; EVERETT et Coll., 1973).

Les deux types d'intervention (lésion et stimulation) influencent également la sécrétion de prolactine (références dans WUTTKE, 1976 ; HAYWARD, 1977).

#### a) La relation préoptico-arquée

La mise en jeu du centre cyclique préoptique au cours des mécanismes qui aboutissent à la décharge du pic pré-ovulatoire de LH est suivie d'une activation des structures de l'hypothalamus médio-basal. Le schéma proposé pour établir une corrélation entre l'activation en chaîne de ces deux régions et la libération de LH est le suivant :

- un signal nerveux naît spontanément dans l'aire préoptique (MOSS et LAW, 1971 ; CROSS et DYER, 1971 a et b ; TERASAWA et TIMIRAS, 1968, 1969 ; KAWAKAMI et Coll., 1973 b ; KAWAKAMI et TERASAWA, 1974 ; KUBO et Coll., 1975) pendant la "période critique" précédant la libération de la dose ovulante de LH (WUTTKE, 1974).

- ce signal est originaire de la région ventrale (suprachiasmatique) de l'aire préoptique (YAGI et SAWAKI, 1971 ; DYER et Coll., 1972 .)

- il est destiné à l'hypothalamus médio-basal (TERASAWA et SAWYER, 1969 b, KAWAKAMI et Coll., 1971) où il exerce une influence facilitante sur l'activité électrique du noyau arqué (KAWAKAMI et KUBO, 1971 ; KUBO et Coll., 1975).

- l'activation du noyau arqué accompagne la décharge de LH et l'ovulation (TERASAWA et Coll., 1969 ; TERASAWA et SAWYER, 1970).  
Ce schéma met l'accent sur l'existence d'une connexion préoptico-arquée assurant le transit du signal périodique originaire du centre cyclique vers la région infundibulaire effectrice. En réponse à ce signal, les neurones tubéro-infundibulaires à LH-RH sont stimulés, ce qui se traduit par une augmentation de l'activité électrique des éléments du noyau arqué. Cette interprétation consacre la complémentarité fonctionnelle des régions préoptique (centre cyclique) et infundibulaire (centre effecteur) dans les mécanismes de l'ovulation. Elle est en accord avec la notion de l'aire hypophysiotrope et confirmée par la découverte chez le rat d'une localisation préférentielle dans le noyau arqué des neurones élaborant LH-RH (NAIK, 1975, 1976 ; HOFFMAN, 1976 ; SETALO et Coll., 1976 ; BENNETT-CLARKE, 1977 ; KRISCH, 1978)

#### b) Problèmes posés

Des différences interspécifiques apparaissent dans la topographie des neurones à LH-RH chez le cobaye et le rat. Rien n'indique que les mécanismes de contrôle de l'ovulation soient identiques dans les deux espèces. Trop peu de données (QUINN, 1969, 1970, 1974 ; BOOTH et DONOVAN, 1974 ; SILVERMAN, 1976 ; DONOVAN et Coll., 1977), dont l'interprétation demeure délicate, concernent le rôle joué par l'aire préoptique chez le cobaye.

Aucun renseignement d'ordre électrophysiologique ou neuroanatomique n'apporte, chez ce dernier, la preuve de l'existence d'une relation préoptico-arquée comparable à celle qui est bien démontrée chez le rat par les mêmes techniques. Les rapports des noyaux hypothalamiques peuvent différer d'une espèce à l'autre. L'examen détaillé des relations entre l'aire préoptique et l'hypothalamus médio-basal chez le cobaye est donc indispensable pour la compréhension des mécanismes neuro-endocriniens intéressant l'axe gonadotrope. Des recherches préliminaires permettant d'élucider le rôle joué par l'aire préoptique dans le contrôle de la rythmicité oestrale chez cet animal sont nécessaires avant d'aborder l'étude ponctuelle de ces relations.

## 2) Le septum

### a) Implication du septum dans le contrôle de la sécrétion de LH

Le degré d'intervention des structures septales dans les mécanismes neuroendocriniens demeure mal connu. Les travaux de HILLARP (1949) et de EVERETT (1964 a) les impliquent, au même titre que l'aire préoptique, dans le contrôle de la cyclicité oestrale chez la rate. Ils démontrent que les fibres servant le signal nerveux précurseur de l'ovulation s'organisent en un système diffus traversant toute la région septopréoptique et devenant de plus en plus structuré alors qu'il converge vers l'aire hypophysiotrope. Le septum contribue ainsi à la genèse du signal nerveux apparaissant au cours de la "période critique" (BUNN et EVERETT, 1957 ; EVERETT, 1964 b, HAGINO, 1969 ; VELASCO et TALEISNIK, 1969 ; CLEMENS et Coll., 1971 b ; HAGINO et YAMAOKA, 1976). Des données plus précises indiquent que le centre cyclique préoptique reçoit et amplifie les signaux des régions plus antérieures impliquées collectivement dans le contrôle de l'ovulation (TERASAWA et SAWYER, 1969 a). L'importance potentielle du septum dans ce mécanisme découle des relations anatomiques privilégiées qu'il entretient avec les structures limbiques d'une part et l'aire préoptique d'autre part (RAISMAN et FIELD, 1971). Il est connu depuis longtemps que l'amygdale et l'hippocampe exercent des actions contraires de stimulation et d'inhibition envers la sécrétion des hormones gonadotropes (FLERKO, 1966). Le septum se présente donc comme un relais pour les influences limbiques qui y sont intégrées

avant d'être transmises au niveau ponctuel du centre cyclique. Cette conception implique que les structures septales agissent en synergie avec l'axe préoptico-arqué au cours de la période précédant la libération du pic préovulatoire de LH. A l'appui de cette conception viennent les résultats suivants :

- les neurones septaux présentent une augmentation de leur activité électrique au cours du proestrus (MOSS et LAW, 1971 ; KAWAKAMI et Coll., 1973b; KAWAKAMI et TERASAWA, 1974 ; KUBO et Coll., 1975).
- la stimulation du septum entraîne l'accélération de la fréquence de décharge des neurones de l'aire préoptique (KAWAKAMI et TERASAWA, 1974) et du noyau arqué (HAGINO et YAMAOKA, 1976).
- la stimulation de l'amygdale (KAWAKAMI et Coll., 1973 c ; KAWAKAMI et TERASAWA, 1974) et de l'hippocampe (KUBO et Coll., 1975) provoque une modification en chaîne de l'activité du septum, de l'aire préoptique et du noyau arqué. Ces résultats concrétisent l'existence de la relation indirecte qui s'établit entre le septum et le noyau arqué par l'intermédiaire de l'aire préoptique. Par cette relation, le septum exerce une influence facilitante sur la sécrétion de LH (HAGINO et YAMAOKA, 1976).

#### b) Problèmes posés

Contrairement à la relation septo-préoptico-arquée qui est bien établie, la mise en évidence d'une relation directe entre le septum et la région infundibulaire n'est pas encore réalisée de manière définitive. L'existence de neurones septaux se projetant directement vers le noyau arqué et l'éminence médiane est supposée à la vue des arguments suivants :

- une voie septo-arquée est impliquée par HAGINO et YAMAOKA (1976) dans les mécanismes de contrôle de la fonction gonadotrope chez le rat. Les impulsions convoyées par cette voie se conjuguent dans le noyau arqué à celles provenant de la mise en jeu de l'axe septo-préoptico-arqué ; elles ont le pouvoir de réduire l'influence facilitante exercée par ce dernier sur la libération de LH.

- une voie septo-infundibulaire peut représenter le support anatomique du transit vers l'éminence médiane de la LH-RH élaborée dans le septum. Des corps cellulaires immunoréactifs sont découverts dans les structures septales chez le cobaye, mais également chez le rat (STERNBERGER

et HOFFMAN, 1978 ; FLERKO et Coll., 1978 ; WEINDL et SOFRONIEW, 1978).

En conséquence, l'étude des afférences septales à la région infundibulaire doit compléter l'examen des relations existant entre l'aire préoptique et la même région.

### C. OBJECTIFS

Des données bibliographiques qui viennent d'être résumées se dégagent le premier objectif de ce travail. C'est l'identification des relations pouvant constituer le support anatomique du contrôle des fonctions gonadotropes chez le cobaye. Les problèmes posés concernent les projections de l'aire septopréoptique vers la région infundibulaire (noyau arqué et éminence médiane). Si certaines de ces projections sont bien systématisées chez le rat, leur réévaluation s'avère nécessaire dans la mesure où de nouvelles hypothèses se dégagent des données concernant la topographie des structures élaborant LH-RH.

L'étude descriptive permettant la réalisation de ce premier objectif est conduite par des méthodes électrophysiologique et neuroanatomique d'analyse unitaire qui mènent à une approche ponctuelle des problèmes posés. La deuxième partie de la thèse présente les résultats de cette étude.

Le second objectif est dicté par la constatation suivante. La région septopréoptique apparaît comme étant à la fois un des sites d'élaboration de la LH-RH et le lieu d'origine du signal nerveux précurseur de l'ovulation. Elle représente un lieu privilégié de fusion des deux niveaux de contrôle des sécrétions gonadotropes. En exerçant leur action dans la région septopréoptique, certains agents endogènes peuvent influencer à un double niveau les mécanismes contrôlant la cession de LH :

- en modifiant l'activité des neurones à LH-RH
- en interférant avec la genèse et/ou la transmission du signal nerveux destiné à la région infundibulaire.

Pour ajouter à l'étude descriptive des relations entre les régions septopréoptique et infundibulaire certains arguments pouvant contribuer à la démonstration de leur rôle fonctionnel, nous fixons comme second objectif de définir la sensibilité des neurones septopréoptiques vis-à-vis d'agents interférant spécifiquement avec la fonction gonadotrope. Ces agents sont choisis en raison de leur importance potentielle dans les mécanismes sexuels.

Des discussions subsistent quant à leur site exact d'intervention au sein de l'axe septo-hypothalamo-hypophysaire. Il s'agit de l'Acétylcholine, de la LH-RH et des prostaglandines  $E_2$  et  $F_{2\alpha}$ .

Comme les données recueillies chez le rat indiquent que la région préoptique est également impliquée dans le contrôle de la sécrétion de prolactine, l'examen de la sensibilité de ses neurones envers l'hormone hypophysaire est également entrepris.

L'étude fonctionnelle est réalisée grâce à la technique de microiontophorèse, qui rend possible à l'échelon individuel l'examen des sites d'impact et des effets des agents choisis. La troisième partie de la thèse se compose des résultats de cette étude.

Comme il n'existe pas de description détaillée des différents constituants de l'aire septopréoptique et que le rôle de l'aire préoptique dans le contrôle de la rythmicité oestrale n'est pas précisé chez le cobaye, des travaux préliminaires sont consacrés à ces deux points. Leurs résultats sont exposés dans la première partie de la thèse.

MATERIEL ET METHODES



L'étude porte sur le cobaye (*Cavia porcellus*) femelle de 400 grammes .

L'anesthésie des animaux est réalisée par injection intrapéritonéale de Nembutal (2mg/100 g), d'Uréthane (120 mg/100 g) ou d'un mélange Uréthane-Nembutal (U = 45 mg + N = 2 mg/100 g). Pour l'électrophysiologie, l'Uréthane est en général utilisé seul; cet anesthésique dont l'action sur la libération des hormones post-hypophysaires est importante (DYBALL et Mc PHAIL, 1974) n'abolit pas les réflexes neuroendocriniens comme le Nembutal : il ne supprime pas l'ovulation lorsqu'il est appliqué chez la rate pendant la "période critique" (LINCOLN et KELLY, 1972) et a peu d'effet direct sur l'activité spontanée des neurones hypothalamiques (CROSS et DYER, 1971 a).

#### A. ATLAS STERÉOTAXIQUE

L'atlas est dessiné à partir des coupes frontales des cerveaux de 30 cobayes, ces coupes étant perpendiculaires au plan horizontal.

##### 1) définition des plans de référence de l'atlas stéréotaxique.

Le plan basal de l'appareil stéréotaxique (BALTIMORE Inst. Co, Baltimore (Md) USA) passe par l'axe des deux barres d'oreille pénétrant dans le conduit auditif externe et la plaquette réglable en hauteur sur laquelle sont engagées les incisives (Fig. 3).

Le plan basal forme un angle de 14° avec le plan horizontal de référence qui comprend l'axe des deux barres d'oreille (axe inter-auriculaire). Cet angle est obtenu en ajustant la position de la plaquette des incisives.

Le plan vertical de référence est perpendiculaire au plan horizontal et passe par l'axe inter-auriculaire. Il représente le point 0 mm pour la numérotation antéro-postérieure des cartes stéréotaxiques.

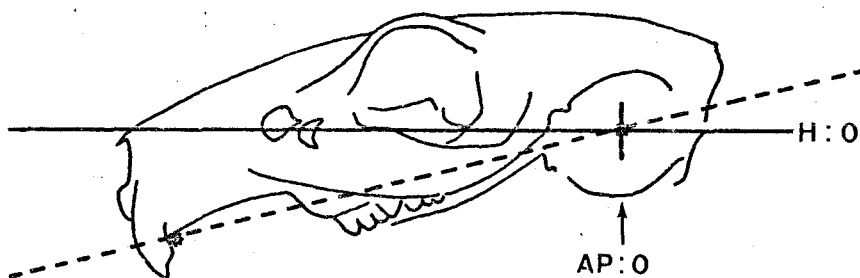


FIGURE 3 : Plans de référence de l'atlas stéréotaxique.

Le plan horizontal de référence (trait continu) forme un angle de  $14^\circ$  avec le plan basal de l'appareil stéréotaxique (trait discontinu), déterminé par les barres d'oreille et la plaquette des incisives (astérisques). Les points H : 0 contenus dans le plan horizontal de référence sont reportés sur les cartes stéréotaxiques des figures 9. Le plan vertical de référence (AP : 0) servant de point de départ pour la numérotation des cartes stéréotaxiques est perpendiculaire au plan horizontal de référence.

Le plan sagittal est perpendiculaire aux deux plans précédents et sépare les deux hémisphères cérébraux. Il représente le point 0 mm des échelles latérales des cartes stéréotaxiques.

## 2) préparation des plans de référence.

L'animal anesthésié est placé dans l'appareil stéréotaxique de telle sorte que le plan basal forme un angle de  $14^\circ$  avec le plan horizontal.

Un couple d'aiguilles est enfoncé dans le cerveau d'arrière en avant dans un plan parallèle au plan horizontal de référence et situé à 4 mm au-dessus de ce dernier. Les traces symétriques laissées dans le tissu par la pénétration des aiguilles permettent lors de l'examen histologique de déterminer la position du plan horizontal de référence.

La détermination de la position des plans verticaux 9 et 14 mm est obtenue de la même manière par la pénétration verticale de deux aiguilles séparées de 3 mm, enfoncées de part et d'autre du sinus longitudinal à 9 et 14 mm en avant de l'axe inter-auriculaire.

L'animal détaché de son support est sacrifié par une perfusion intra-aortique de formol neutre à 10 %. Après décapitation, la tête subit une fixation de 1 à 8 semaines dans le liquide de perfusion avant la dissection du cerveau.

### 3) techniques histologiques.

Les coupes histologiques du cerveau, sériées et frontales, d'une épaisseur de  $100\ \mu$ , sont obtenues au microtome à congélation. La pièce est orientée sur la platine du microtome jusqu'à ce que sur une même coupe les trajets parallèles d'un des couples d'aiguilles enfoncées dans le plan vertical apparaissent. Les coupes suivantes sont recueillies dans un mélange d'alcool gélatiné, appliquées sur lames et colorées à la thionine selon NICOLLE après séchage des préparations à température ambiante. Les lamelles sont montées à l'Eukitt.

### 4) obtention de l'atlas.

Les coupes sont numérotées en dixièmes de mm. en s'aidant des repères 9 et 14 mm. Des décalages dans les coordonnées antéro-postérieures rendent nécessaire d'attribuer aux coupes sélectionnées une coordonnée moyenne. Ces coupes sont projetées sur papier calque avec un agrandissement de 12 fois. Les contours les plus apparents sont dessinés sur le papier et l'examen microscopique permet de compléter les cartes stéréotaxiques obtenues en y reportant les limites des principales structures cérébrales et des noyaux hypothalamiques et septaux.

## B. LESIONS ELECTROLYTIQUES

Les animaux sont élevés dans les mêmes conditions d'éclairage (de 7 à 20 heures) et suivis quotidiennement par la méthode des frottis vaginaux. Les frottis sont réalisés pendant les périodes d'ouverture vaginale, fixés à l'alcool-éther et colorés par la technique à l'hématoxyline de HARRIS-SHORR.

Les lésions électrolytiques, paires et symétriques, sont réalisées, sur les animaux anesthésiés et placés dans l'appareil stéréotaxique, par le passage d'un courant de 3 mA pendant 10 secondes à travers une électrode constituée d'une fine aiguille métallique vernie sauf à son extrémité.

Après le sacrifice, le cerveau, les ovaires et le tractus génital sont prélevés et immergés dans le fixateur de BOUIN - HOLLANDE - HERLANT. Après une fixation de 3 à 7 jours, une déshydratation et une inclusion dans la paraffine, les blocs sont débités au microtome en coupes sériées de  $10\mu$ . La coloration est réalisée par le glychémalum - érythrosine (ovaires), le trichrome : hématoxyline, fuschine acide - ponceau de xylydine, vert lumière (tractus génitaux) et l'hématoxyline - phloxine de Gomori (cerveaux).

## C. TECHNIQUE NEUROANATOMIQUE

### 1) injection de la peroxydase

La peroxydase (type VI, SIGMA) est diluée dans une solution saline (NaCl, 0,9%) à une concentration de 40% .

Le dispositif d'injection est adapté à l'appareil stéréotaxique et descendu verticalement dans le plan sagittal après exposition de la surface dorsale du cerveau et ligature du sinus longitudinal .  
Deux méthodes d'injection sont utilisées, selon le volume du territoire à atteindre .

a) l'injection de 0,1 à 0,3  $\mu$ l est réalisée par l'intermédiaire d'une seringue HAMILTON (contenance 10  $\mu$ l) dont le piston est relié à un système de micro-injection .

La peroxydase est injectée pendant 30 minutes par action sur le système de micro-injection .

b) l'injection de 0,05  $\mu$ l est réalisée par l'intermédiaire d'une électrode de verre étiré (diamètre à la pointe : 80 $\mu$ ) reliée à une extrémité d'un tube de polyéthylène . L'aiguille d'une seringue HAMILTON (contenance 5  $\mu$ l) est engagée dans l'extrémité libre de la tubulure .

La peroxydase est injectée pendant 30 minutes par action sur un système de micro-injection relié au piston de la seringue .

Après les injections, une période de 30 minutes précède le retrait du dispositif d'injection .

## 2) révélation de la peroxydase

Les animaux sont sacrifiés après une période qui varie de 17 à 29 heures après la fin de l'injection .

Profondément anesthésiés, ils subissent une perfusion intra-aortique du mélange suivant :

— glutaraldéhyde 2,5 %, paraformaldéhyde 0,5 % dans un tampon phosphate 0,1 M, pH 7,4 .

La perfusion d'un litre de fixateur est réalisée en 45 minutes . Après une brève période de post-fixation à 4° dans le liquide de perfusion, le cerveau est disséqué et infiltré sous agitation d'une solution de saccharose (30 % dans un tampon phosphate 0,1 M, pH 7,4) pendant une nuit à 4° . Le lendemain, des coupes sériées de 80 $\mu$  , frontales ou longitudinales, sont effectuées au microtome à congélation et rincées dans une solution de

saccharose 5 % dans un tampon phosphate 0,1 M, pH 7,4 . Cette solution peut également servir à stocker les coupes (à 4 °) dans l'attente du traitement histochimique.

Le traitement des coupes permettant la révélation de l'enzyme est basé sur la méthode décrite initialement par GRAHAM et KARNOVSKY (1966). Les différentes étapes de ce traitement sont les suivantes :

- incubation dans la di-amino-benzidine (DAB MERCK, 0,05 % dans tampon TRIS 0,1 M, pH 7,6) à 40 ° pendant 30 minutes sous agitation.

- révélation dans la même solution à laquelle est ajoutée 0,03 % d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, à la température ambiante pendant 30 minutes.

Les coupes sont rincées dans le tampon phosphate, puis dans l'eau distillée et collées sur lames par une solution d'alcool gélatiné. Après séchage des préparations, le montage s'effectue à l'Eukitt.

L'examen microscopique s'effectue en fond clair ou en fond noir et dans certains cas, les coupes subissent une coloration ultérieure au crésyl-violet (GURR : 0,05 % dans tampon acétate pH 3,5). Cette coloration n'est jamais effectuée avant une première observation microscopique car elle risque de masquer la réaction produite par la DAB + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et de rendre difficile l'identification des corps cellulaires marqués.

#### D. TECHNIQUES ELECTROPHYSIOLOGIQUES

##### 1) techniques opératoires.

Les expériences électrophysiologiques sont réalisées en aigu sur le cobaye anesthésié et dans certains cas paralysé par une injection intramusculaire de Flaxédil (dose de départ : 0,2 mg / 100 g), l'animal est alors mis sous respiration artificielle à l'aide d'un respirateur pour petits animaux de laboratoire (BRAUN - MELGUNSEN).

Le dispositif stéréotaxique est constitué par l'association de deux matériels rendus solidaires et servant l'un à la mise en place de l'électrode de stimulation, l'autre à la descente des microélectrodes :

- l'animal est fixé dans le dispositif de contention de l'appareil

stéréotaxique BALTIMORE qui permet la mise en place des microélectrodes selon le trièdre de référence de l'atlas stéréotaxique. La descente verticale de la microélectrode se fait par l'intermédiaire d'un micromanipulateur hydraulique (WELLS) manoeuvré à l'extérieur de la cage de Faraday et contrôlant son déplacement avec une précision d' $1\mu$ .

- l'électrode de stimulation est fixée au microdescendeur d'un appareil stéréotaxique LA PRECISION CINEMATOGRAPHIQUE dont la position est parfaitement ajustée par rapport à celle du dispositif de contention. L'électrode est descendue verticalement ou obliquement pour favoriser l'accès des microélectrodes multiples de fort encombrement.

La microélectrode et l'électrode de stimulation sont descendues dans les régions profondes du cerveau par approche dorsale, après incision du scalp, trépanation, excision de la dure-mère et ligature du sinus sagittal.

## 2) électrodes de stimulation.

La stimulation est assurée par une électrode concentrique bipolaire constituée d'un tube d'acier vernis (diamètre interne : 0,3 mm, externe: 0,4mm) dans lequel est introduit un fil métallique isolé (diamètre : 0,15 mm).

Sa résistance est de l'ordre de 100 k $\Omega$ .

Des électrodes de stimulation du même type, commercialisées par RHODES, sont également utilisées.

## 3) microélectrodes.

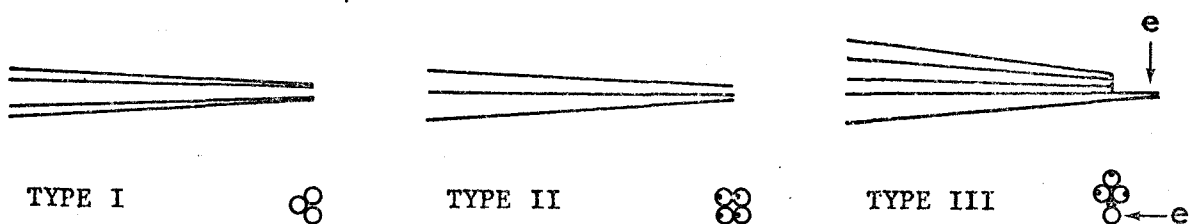
Elles comprennent les microélectrodes simples d'enregistrement et les microélectrodes (ou micropipettes) à canaux multiples pour la microiontophorèse et l'enregistrement simultanés.

### a) microélectrodes simples

Elles sont préparées à partir de tubes de verre Pyrex (diamètre interne : 1,16 mm, externe : 2 mm) contenant parfois une microfibre de verre pour le remplissage (C.E.I.), soigneusement nettoyés au mélange sulfo-chromique et étirés verticalement dans l'étireuse NARISHIGE. Le diamètre de la pointe varie entre 0,5 et 1,5  $\mu$ .

b) microélectrodes à canaux multiples

Elles sont constituées d'un faisceau de 3 à 7 tubes de verre Pyrex étiré de manière à obtenir une pointe dont le diamètre est de l'ordre d' $1\mu$ . Plusieurs types de microélectrodes multiples sont utilisés (Fig. 4)



**FIGURE 4** : Représentation schématique de l'extrémité des microélectrodes multiples utilisées pour l'étude microiontophorétique.

Vue latérale et section de l'extrémité des microélectrodes à 3 canaux (TYPE I), à 4 canaux (TYPE II) et à 4 canaux avec saillie du canal d'enregistrement (TYPE III). Chaque canal des microélectrodes de TYPE II et les canaux de microiontophorèse de celles du TYPE III contiennent une microfibre de verre apparaissant en section.

- microélectrodes multiples de TYPE I.

Ces électrodes (POULAIN, 1974 b) sont obtenues à partir de 3 tubes de verre Pyrex (diamètre interne : 2,4 mm, externe : 4 mm) assemblés par une goutte de ciment (mélange talc - silicate de soude). Après fusion des parois des tubes à la flamme propane - oxygène, un étirage à la main réduit le diamètre du faisceau à 2 mm dans sa partie moyenne. Deux électrodes sont séparées par cassure de la partie moyenne fusionnée. Leur extrémité est recourbée en crochet et l'étirage final est réalisé dans l'étireuse NARISHIGE dont le mandrin inférieur est remplacé par un anneau venant s'adapter dans le crochet.



Après cette étape, la pointe de la microélectrode est brisée sous contrôle microscopique pour obtenir un diamètre de 1 à 2  $\mu$ .

- microélectrodes multiples de TYPE II.

Elles sont obtenues à partir de faisceaux de 4 tubes de verre Pyrex de plus faible diamètre (intérieur : 0,6 mm, externe : 1 mm) commercialisés par C.E.I.. Ces tubes contiennent chacun une microfibre de verre pour le remplissage. Les faisceaux sont fixés par leurs extrémités dans les mandrins de l'étireuse NARISHIGE et étirés en deux étapes pour obtenir d'abord une partie effilée de quelques centimètres, ensuite une pointe fine d'une fraction de micron. Cette pointe est brisée sous contrôle microscopique pour obtenir un diamètre de 1 à 2  $\mu$ .

- microélectrodes multiples de TYPE III.





Elles sont obtenues par la méthode très ingénieuse mise au point dans le laboratoire et décrite par CARETTE (1978). Cette méthode permet la réalisation d'électrodes "parallèles" constituées d'un faisceau de 3 à 6 canaux (3 à 5  $\mu$  à la pointe) pour l'éjection des substances, assemblé à un canal (0,5 à 1  $\mu$  de diamètre) faisant saillie sur une distance de 10 à 20  $\mu$  et utilisé pour l'enregistrement extracellulaire.

### c) Remplissage des microélectrodes

Le remplissage des microélectrodes simples et des canaux des micropipettes multiples de TYPE I s'effectue :

- soit par centrifugation (2000 tours minute pendant 15 minutes)
- soit par remplissage préalable d'eau distillée par ébullition sous pression réduite et remplacement de cette eau par la solution appropriée qui diffuse jusqu'à la pointe en 24 heures. L'utilisation de tubes de verre contenant une microfibre de verre accolée à leur paroi interne facilite considérablement l'étape du remplissage. Celui-ci s'effectue automatiquement par capillarité lorsque les solutions sont introduites à l'intérieur des tubes à l'aide d'une seringue HAMILTON à laquelle est adaptée une longue aiguille de faible section. Les microélectrodes multiples de TYPE II, du fait de leur petite contenance, sont remplies efficacement avec de très faibles volumes de solution, ce qui est utile lors de l'utilisation de substances coûteuses ou obtenues en quantités minimes.

FIGURE 5. Solutions introduites dans les canaux des microélectrodes multiples de microiontophorèse : origine, dilution, pH ; sens des courants permettant leur éjection.

1ER CANAL		2ÈME CANAL	3ÈME CANAL		4ÈME CANAL	TYPE D'ELECTRODE
			ENREGISTREMENT (+ micromarquage)			
SUBSTANCE A ETUDIER origine, dilution, ( ): sens du courant d'éjection		COMPENSATION			GLUTAMATE	
Acétylcholine	Chlorhydrate SIGMA 1 M . pH 4,5 dans H <sub>2</sub> O (+)	NaCl 2M (-)	NaCl 2M	NaCl 2M	—	 I
Prostaglandines	Dr PIKE, UPJOHN COMPANY E <sub>2</sub> = 0,65 %    pH 7/8 F <sub>2α</sub> = 0,85 % dans H <sub>2</sub> O selon COCEANI et VITI (1972) (-)	NaCl 2M (+)	Bleu Alcian (cf. 3, d)	—	—	 I
Prolactine	humaine CALBIOCHEM 2 µg/ 50 à 100 µl . pH 7/8 dans NaCl 0,9 % selon YAMADA (1975) (-)	NaCl 2M (+)	Bleu Alcian	L- glutamate SIGMA 1M (-)	—	 II
LH-RH	BECKMANN 200 µg/100 à 300 µl . pH 7/8 dans NaCl 0,9 % selon KELLY et MOSS (1976) (+)	(compensation inutile) Bleu Alcian : - rétention - contrôle - micromar- quage	NaCl 2M	L- glutamate SIGMA 1M (-)	—	 III



#### d) Solutions utilisées

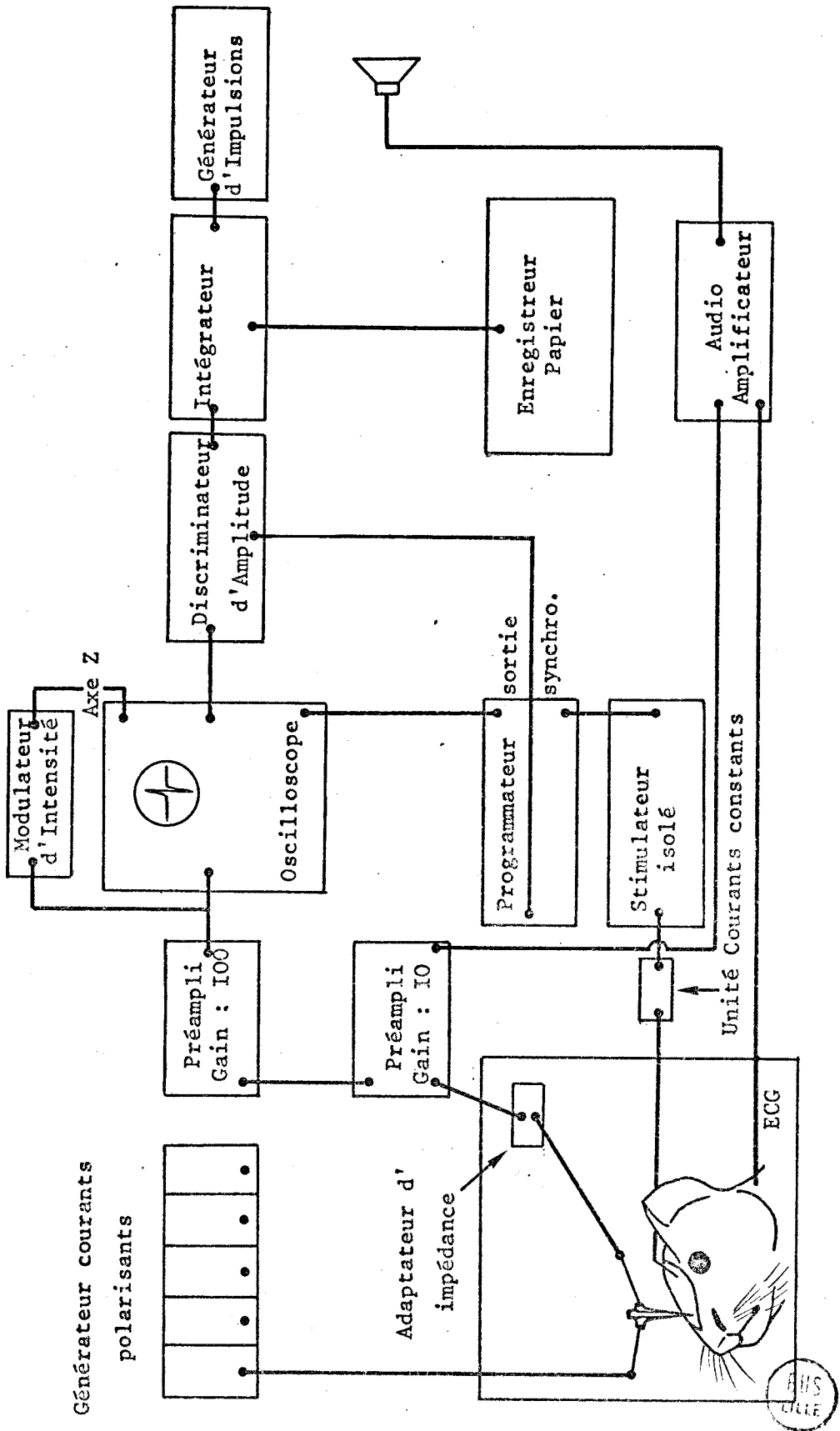
L'électrolyte utilisé pour l'enregistrement est le NaCl 2 M. La résistance des microélectrodes simples ou du canal d'enregistrement de la micropipette multiple est comprise entre 3 et 15 M $\Omega$ .

Pour réaliser le micro-marquage du site d'enregistrement permettant son repérage ultérieur sur coupes histologiques, le colorant Vert-Rapide (FCF, GURR) est additionné à l'électrolyte jusqu'à saturation (la solution est filtrée avant utilisation). Un autre colorant donne de meilleurs résultats : il s'agit du Bleu-Alcian (8 GX, GURR) dilué selon LEE et COLI. (1969) à 8 % dans un tampon acétate pH 5,8. La solution obtenue est utilisée telle- quelle, à la fois pour l'enregistrement et la coloration extracellulaires. Les autres canaux des micropipettes multiples sont remplis des solutions adaptées à chacune des études microiontophorétiques, préparées dans des conditions de concentration et de pH permettant une bonne ionisation de la molécule en solution. Les détails concernant la dissolution des substances appliquées par microiontophorèse sont donnés dans la figure 5.

#### 4) Enregistrement et stimulation

L'activité nerveuse extracellulaire est recueillie par la micro-électrode simple ou le canal d'enregistrement de la micropipette multiple. L'enregistrement unitaire et la stimulation des structures nerveuses sont réalisés grâce à un dispositif classique d'électrophysiologie (Fig. 6). Un appareil de notre fabrication (d'après CONWAY et BRADLEY, 1969) est ajouté au dispositif d'enregistrement. Il permet le contrôle automatique de l'intensité du spot du tube cathodique afin d'obtenir une brillance plus prononcée pour les pointes verticales rapides des potentiels d'action par rapport à celle de la ligne de base à déplacement lent. Ceci permet une amélioration de la qualité des photographies de l'écran de l'oscilloscope dans les cas d'utilisation d'une très faible vitesse de balayage ou de superposition d'un grand nombre de traces (une centaine pour visualiser les phénomènes d'inhibition de l'activité spontanée survenant au cours de la stimulation d'éléments très faiblement actifs).

FIGURE 6 . Schéma général du montage  
expérimental .



## 5) Microiontophorèse

### a) Principe

Le principe de la microiontophorèse repose sur la loi de l'électrolyse des substances ionisées, la migration des ions étant assurée par l'application d'un courant de polarité appropriée. Le mouvement des ions sous l'effet du champ électrique dépend de l'intensité de ce courant et le flux ionique (  $F$  ) s'exprime par la formule :

$$F = \frac{n I}{Z F} , \text{ dans laquelle}$$

$I$  est l'intensité du courant polarisant,  $n$  le nombre de transport ( facteur complexe variant pour chaque molécule, étant l'expression de sa solubilité et de son pouvoir de dissociation ionique et dépendant de la concentration de la substance et du milieu dans lequel elle est éjectée ),  $Z F$  une valeur déterminée par le produit de la valence de l'ion déplacé et de la constante de Faraday .

La connaissance de ces paramètres permettrait de connaître de manière exacte la quantité de substance éjectée ( en moles par seconde ) . Toutefois, l'extrême difficulté résidant dans la détermination du nombre de transport, la participation à l'éjection de substances faiblement solubles de phénomènes passifs d'électro-osmose (CURTIS, 1964) ainsi que les variations considérables du flux ionique pour une même substance lorsqu'elle est éjectée de micropipettes différentes (ZIEGLGANSBERGER et Coll., 1974) conduisent à renoncer dans notre étude à l'évaluation quantitative des réponses obtenues . La dose éjectée est simplement exprimée par la valeur du courant polarisant (en nano-Ampères : nA) et la durée de la séquence de micro-infusion . L'activité électrique du neurone étant enregistrée avant, pendant et après l'éjection de la substance, les paramètres qui servent à définir le type de la réponse sont les suivants : sens et importance de l'altération de la fréquence des potentiels d'action, délai d'obtention de cette altération, temps nécessaire pour retrouver le degré d'activité initial .

### b) Application des courants de microiontophorèse

Des courants polarisants de sens approprié (courant anionique =

canal négatif, éjection des ions chargés négativement ; courant cationique, canal positif, éjection des ions chargés positivement) assurent l'éjection des substances contenues dans chaque canal de la micropipette multiple (Fig. 7). Ces courants (dont l'intensité est exprimée en nA) sont débités par un générateur produisant des tensions continues réglables à travers une résistance de  $100\text{ M}\Omega$ . Le sens du courant polarisant est choisi en fonction de l'ionisation de la substance (Fig. 5). Un courant de rétenion est appliqué entre les séquences d'éjection pour freiner la diffusion de la molécule active (Fig. 7).

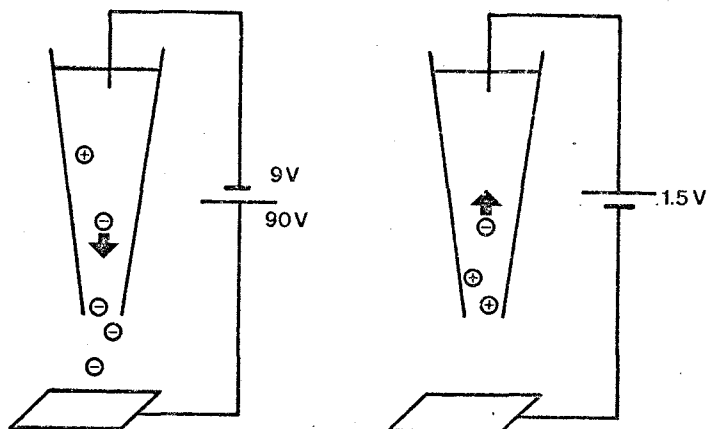


FIGURE 7 : Principe de la microiontophorèse.

Dans l'exemple illustré, une molécule en solution, chargée négativement, est expulsée du canal de la microélectrode multiple par l'application d'un courant d'éjection anionique (canal négatif). Elle y est retenue par l'application d'un courant de rétenion cationique (canal positif).

L'utilisation des microélectrodes multiples de TYPE I et II nécessite, au cours des séquences d'éjection des substances actives, l'application d'un courant de compensation égal à la somme algébrique des courants d'éjection de ces substances et de sens opposé (Fig. 8). Ce courant est appliqué par l'intermédiaire d'un canal neutre rempli d'une solution saline ( $\text{NaCl } 2\text{M}$ ) et neutralise les effets électrotoniques des courants d'éjection pouvant s'ajouter ou se substituer à ceux produits par la mise en contact des



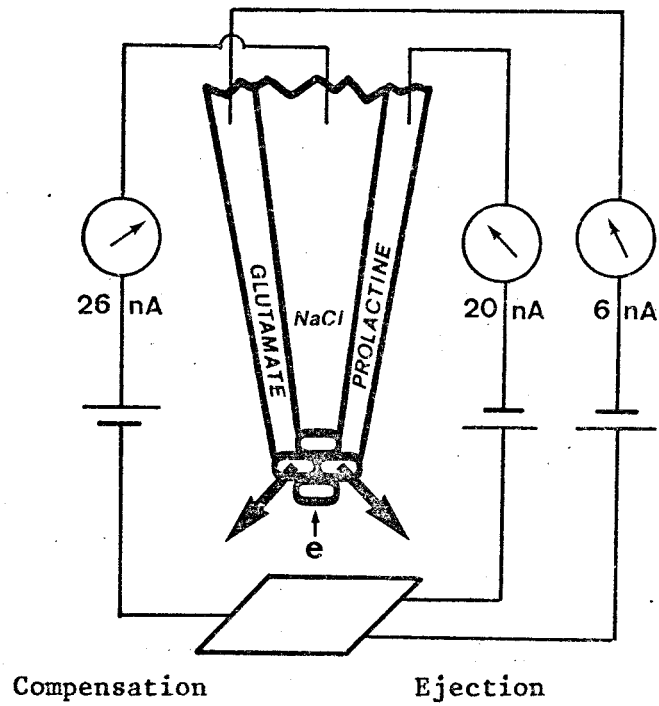


FIGURE 8. Principe de la compensation des courants d'éjection .

Un courant de compensation cationique appliqué à l'un des canaux de la micropipette multiple (NaCl 2M) neutralise les effets électrotoniques des courants d'éjection permettant l'expulsion des substances actives (prolactine et glutamate : voir la figure 44,f) .

e: canal d'enregistrement .

substances actives et du neurone étudié. Du fait de la saillie du canal d'enregistrement pour les micropipettes multiples de TYPE III, l'utilisation d'un courant de compensation est rarement nécessaire. On vérifie cependant l'absence d'effet électrotonique lors de l'éjection des substances actives par l'application préalable d'un courant de contrôle à travers le canal neutre rempli d'une solution saline, courant de même sens et de valeur égale à celui qui servira à éjecter la substance active.

#### 6) Repérage des sites d'enregistrement et de stimulation

Les sites d'enregistrement sont marqués par un dépôt du colorant contenu dans la microélectrode simple ou dans l'un des canaux de la micropipette multiple. Ce micro-marquage est réalisé par l'application d'un courant anionique de 6 à 8  $\mu$ A pendant 4 à 10 minutes pour le Vert-Rapide (tache colorée de diamètre compris entre 15 et 60  $\mu$ ) ou d'un courant cationique de 1  $\mu$ A pendant 30 secondes à 10 minutes pour le Bleu-Alcian (tache colorée de 30 à 120  $\mu$ ).

A la fin de l'expérience, le cerveau de l'animal est prélevé et fixé dans le formol neutre à 10 %, pendant 48 heures. Les coupes frontales de 80  $\mu$  sont réalisées au microtome à congélation, recueillies dans un mélange d'alcool gélatiné, collées sur lames et colorées après séchage par le crésyl-violet. L'examen histologique permet de localiser l'emplacement des taches colorées ainsi que celui des traces laissées dans le tissu nerveux par les microélectrodes et l'électrode de stimulation.

PREMIERE PARTIE

ÉTUDE DESCRIPTIVE ET FONCTIONNELLE DE L'AIRE  
SEPTOPRÉOPTIQUE.

## INTRODUCTION

La région septopréoptique contient plusieurs structures distinctes qui participent collectivement au contrôle des sécrétions gonadotropes. Il n'existe pas pour le cobaye d'étude concernant la description anatomique détaillée de ces structures. Nous consacrons le premier chapitre à cette étude et présentons les résultats sous la forme d'un atlas stéréotaxique.

Au sein de la région septopréoptique, l'aire préoptique représente chez le rat le "centre" du contrôle de la rythmicité oestrale. Dans le but de préciser si cette aire a les mêmes propriétés fonctionnelles chez le cobaye, nous étudions dans le deuxième chapitre les conséquences de sa destruction électrolytique sur l'ovulation.

## CHAPITRE I

### ATLAS STEREOTAXIQUE

La description de la région préoptique n'est pas entreprise, ayant fait l'objet de notre thèse de 3ème cycle (POULAIN, 1971).

Comme il n'existe, à notre connaissance, ni d'atlas ni de données anatomiques complètes concernant le septum du cobaye, nous donnons quelques précisions sur la nomenclature employée ici pour définir les principaux constituants de cette structure.

Le septum est classiquement divisé en deux régions principales (voir par exemple, pour le rat : MEIBACH et SIEGEL, 1977) :

- une région basse pouvant être décrite sur les coupes frontales comme occupant la partie médio-basale du quadrilatère défini par les axes fictifs rejoignant les faisceaux myélinisés de la commissure blanche antérieure, les ventricules latéraux et les corps calleux. On attribue à cette région la dénomination de "noyau septal médian" bien qu'elle renferme certains éléments du noyau vertical du tractus diagonal de Broca.

- une région dorso-latérale, occupant le reste du quadrilatère et fréquemment dénommée "septum latéral" ou subdivisée en "noyaux dorsaux et latéraux du septum".

Les investigations électrophysiologiques de DE FRANCE et Coll. (1976, 1978) chez le chat apportent le support fonctionnel d'une subdivision précise de ces deux régions en y démontrant l'existence de structures très différentes par leurs afférences, leurs efférences et leur organisation neuronique. Il s'avère que les limites de ces régions fonctionnellement distinctes se superposent assez exactement avec celles résultant de l'étude cytoarchitectonique menée chez différentes espèces par ANDY et STEPHAN (1959, 1964).

Nous optons pour cette subdivision qui distingue dans le septum

une partie moyenne et deux parties latérales :

- la partie moyenne prolonge vers le haut le noyau vertical du tractus diagonal de Broca mais se compose exclusivement de cellules plus petites qui se regroupent en un noyau septal médian.

- les parties latérales sont subdivisées en deux noyaux distincts :
  - le noyau septal latéral qui jouxte le noyau vertical du tractus diagonal de Broca et s'applique contre le ventricule cérébral latéral et
  - le noyau septal dorsal dont l'assise est constituée par les noyaux septaux médian et latéral.

Lorsque vers l'avant, le tractus diagonal de Broca disparaît et que le rudiment hippocampique (ou hippocampe antérieur) est visible, on utilise les termes de noyau septal dorsal antérieur et de noyau septal médian antérieur.

L'atlas est redessiné à partir des cartes stéréotaxiques de l'hypothalamus et du septum de cobaye de 400 g de POULAIN (1974 a). Il présente avec une bonne précision les sections transversales choisies entre les plans verticaux 12,8 mm et 15 mm et placées en coordonnées stéréotaxiques (Fig. 9). Ces coordonnées s'expriment comme suit :

1) Antérieures : en millimètres par rapport au plan vertical de référence (passant par l'axe inter-auriculaire). Cette coordonnée est indiquée au bas de chaque carte dans le coin gauche. La précision approche 0,2 mm.

2) Latérales : en millimètres par rapport au plan sagittal (séparant les deux hémisphères cérébraux). La précision est de l'ordre de 0,1 mm.

3) Verticales : en millimètres par rapport à la surface du cerveau. La précision est environ de 0,5 mm. Le point H = 0 fléché dans le prolongement de l'échelle latérale est contenu dans le plan horizontal de référence.

La figure 10 qui fait suite à l'atlas stéréotaxique replace les principales structures sur un dessin obtenu par reproduction à la chambre claire d'une coupe parasagittale du cerveau de cobaye.

FIGURE 9 .

Atlas stéréotaxique du cerveau du cobaye de  
400 grammes .

Sélection des cartes stéréotaxiques comprises entre les plans  
verticaux 12,8 et 15 mm .

## L I S T E   D E S   A B R E V I A T I O N S

✓ CA	: commissure antérieure	✓ ac	: noyau accumbens
✓ CC	: corps calleux	✓ bd	: noyau dorsal (vertical) du tractus diagonal de Broca
CL	: claustrum		
✓ CO	: chiasma optique	✓ bv	: noyau ventral (horizontal) du tractus diagonal de Broca
✓ CORT	: cortex cérébral		
CSO	: crête supra-optique	✓ cp	: noyau caudé-putamen
✓ FMT	: faisceau médian du télencéphale	lc	: noyau du lit de la commissure blanche antérieure
✓ FO	: faisceau optique	✓ lst	: noyau du lit de la strie terminale
✓ HIA	: hippocampe antérieur	pl	: noyau préoptique latéral
IC	: flots de Calleja	✓ pm	: noyau préoptique médian
RSO	: récessus supra-optique du 3ème ventricule	✓ pml	: noyau préoptique médial
TD	: tractus diagonal de Broca	✓ pp	: noyau préoptique périventriculaire (noyau parvocellulaire périventriculaire/noyau périventriculaire hypothalamique)
✓ TU	: tubercule olfactif		
✓ TO	: tractus optique	✓ psc	: noyau préoptique suprachiasmatique
3 V	: 3ème ventricule	✓ sc	: noyau suprachiasmatique
V L	: ventricule latéral	sd	: noyau septal dorsal
✓ CPF	: cortex pyriforme	sda	: noyau septal dorsal antérieur
		sl	: noyau septal latéral
		✓ sm	: noyau septal médian
		sma	: noyau septal médian antérieur
		✓ so	: noyau supraoptique



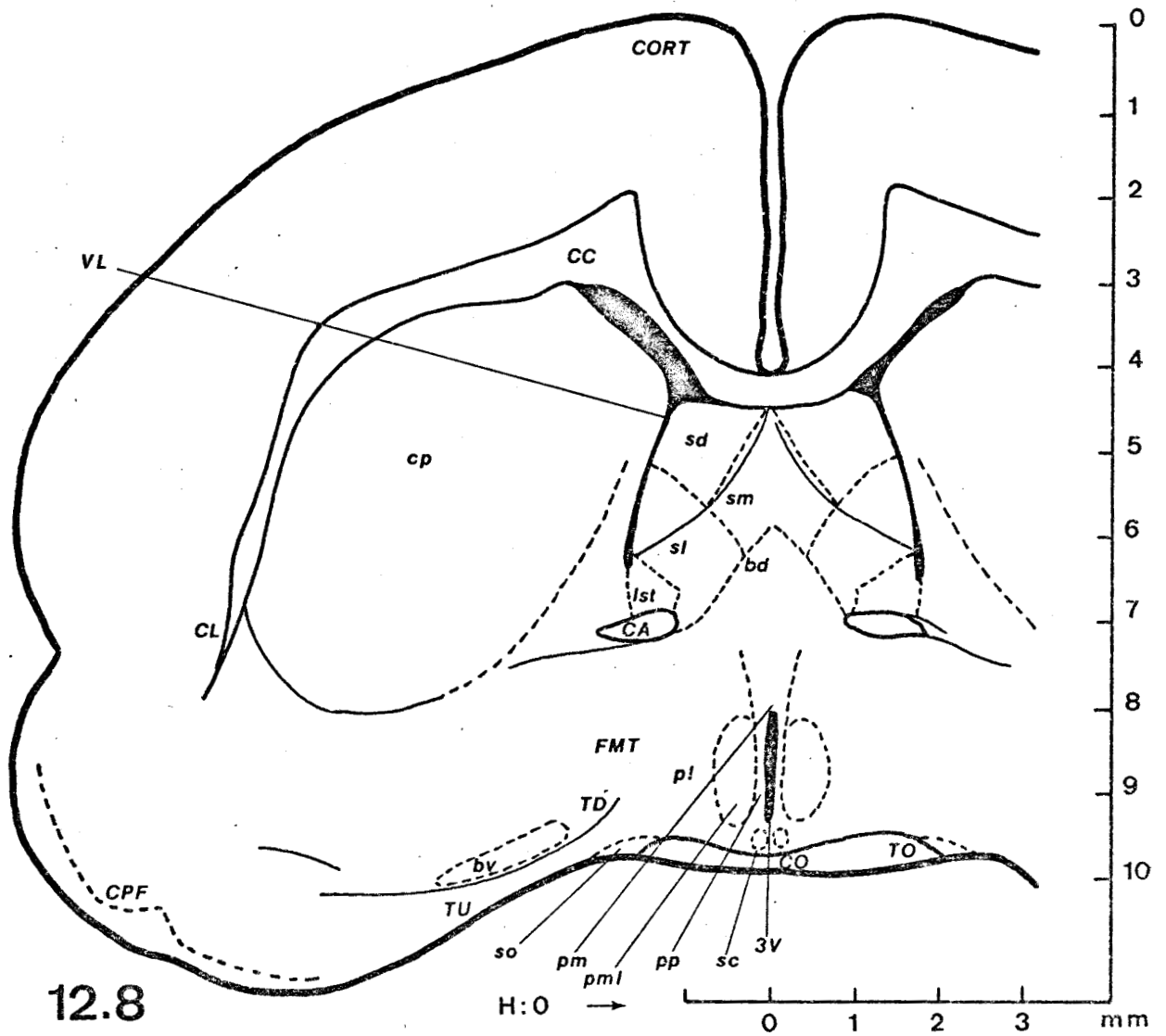


FIGURE 9,a . Coupe frontale au plan vertical 12,8 mm .



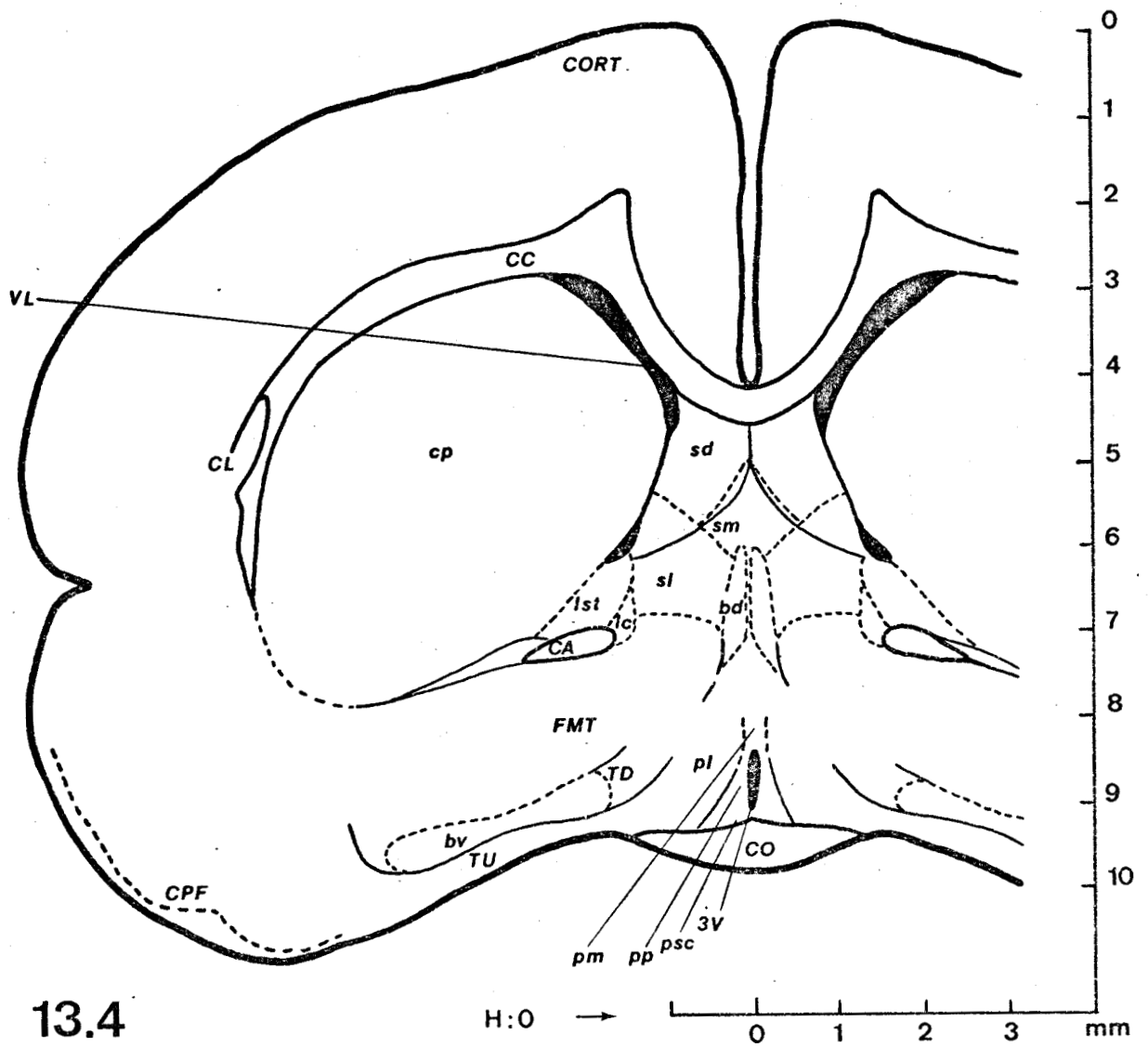


FIGURE 9,b . Coupe frontale au plan vertical 13,4 mm .



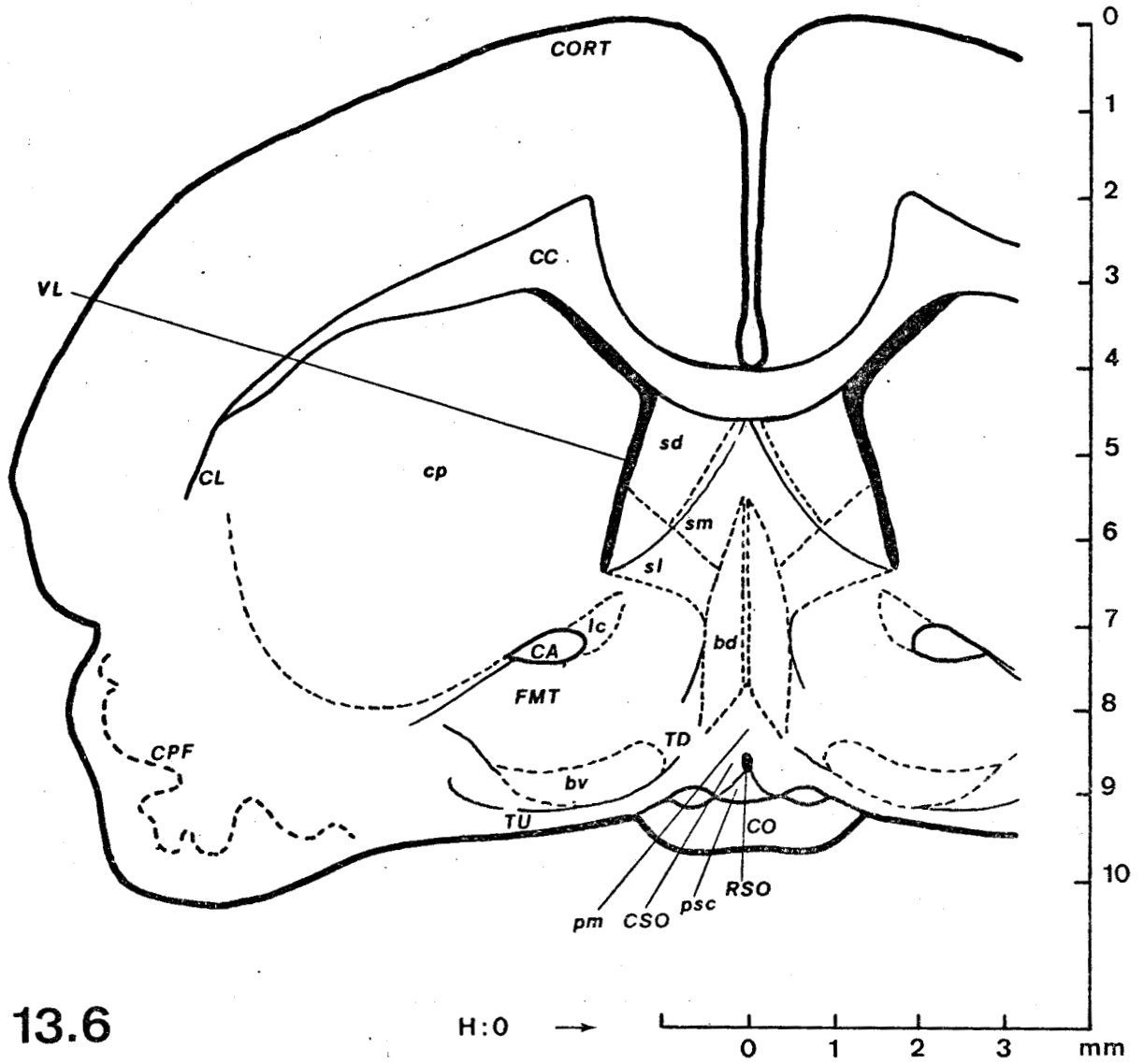


FIGURE 9,c . Coupe frontale au plan vertical 13,6 mm .



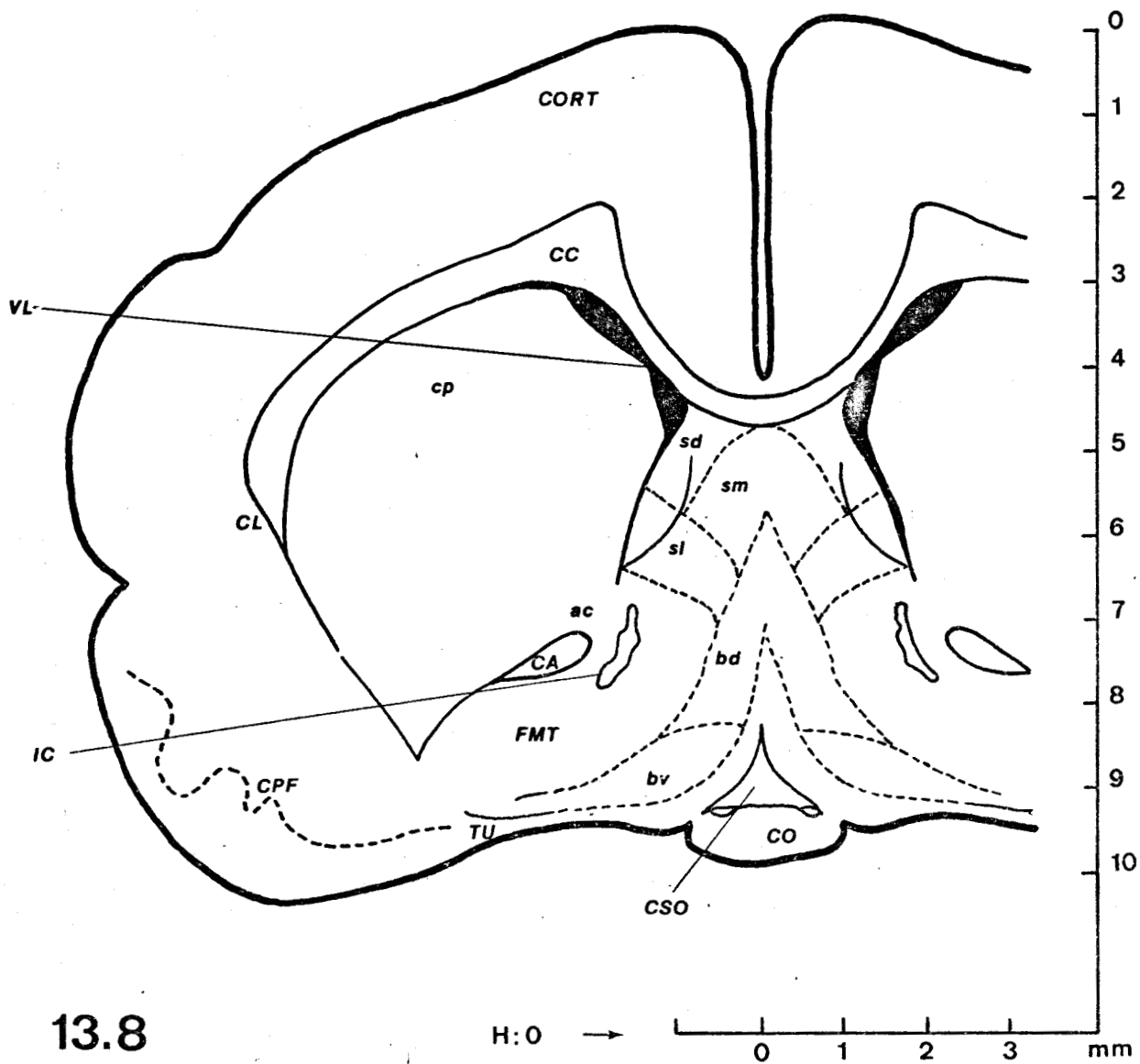
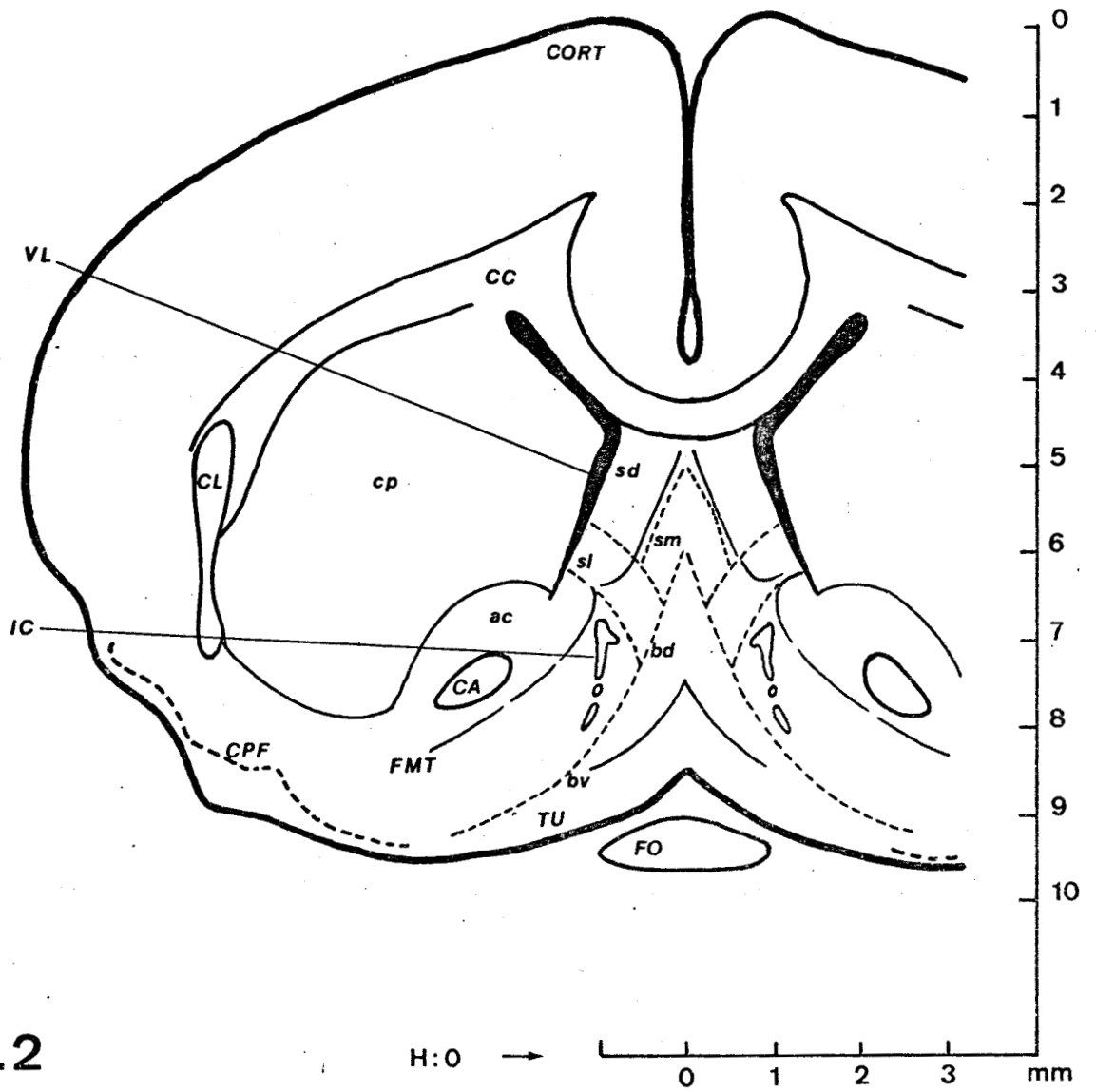


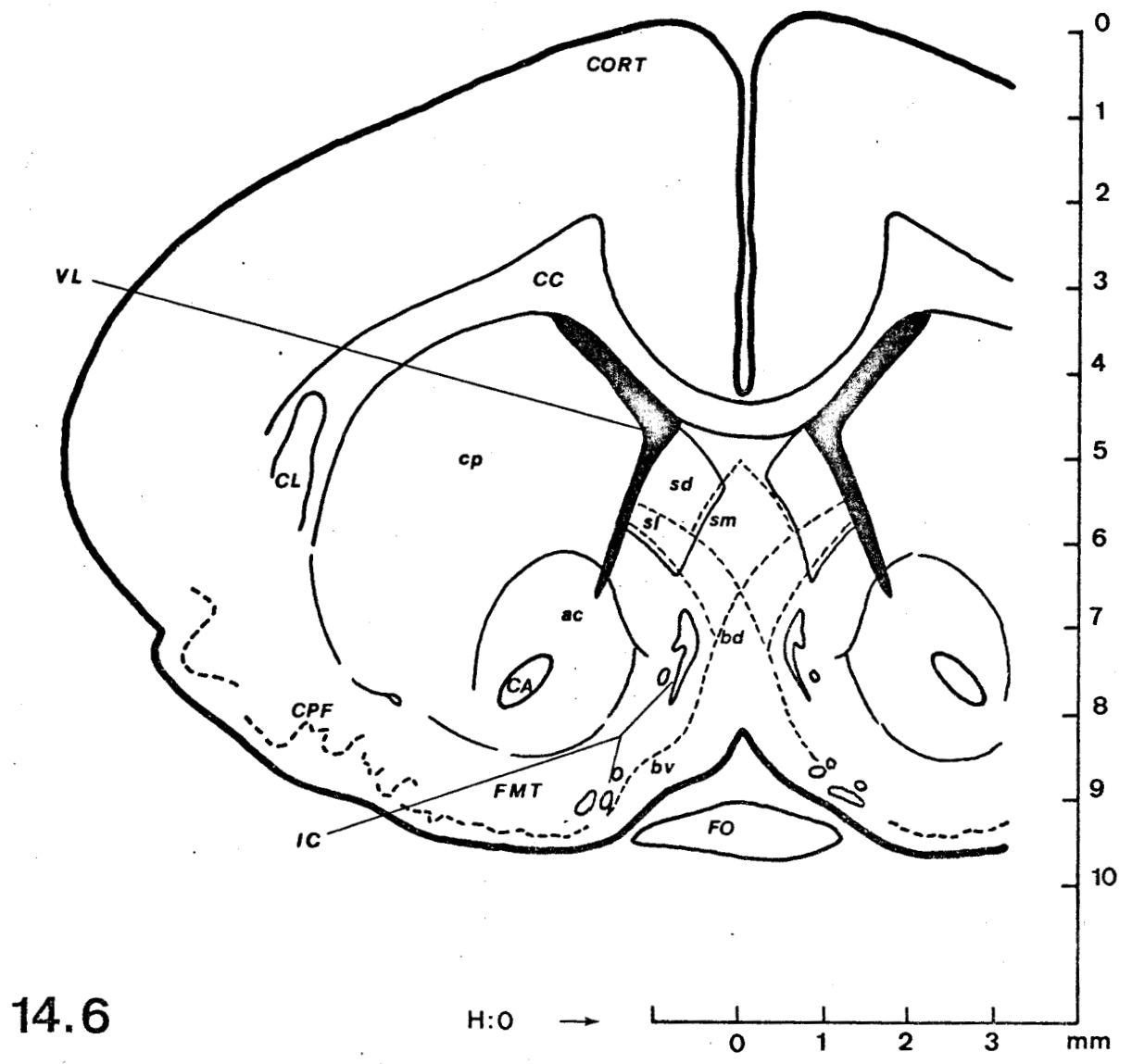
FIGURE 9,d . Coupe frontale au plan vertical 13,8 mm .



14.2

FIGURE 9,e . Coupe frontale au plan vertical 14,2 mm .

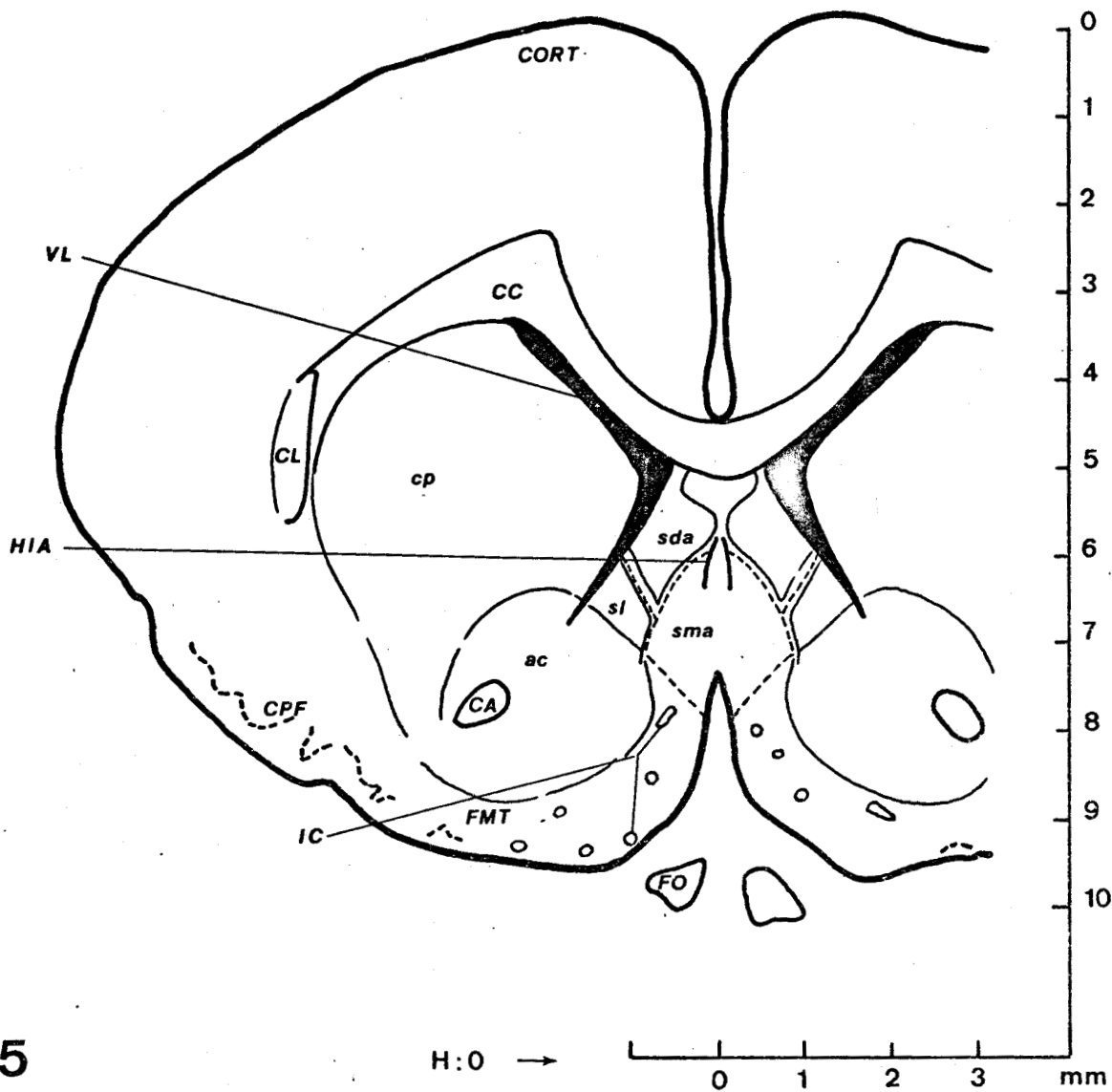




14.6

FIGURE 9,f . Coupe frontale au plan vertical 14,6 mm .





15

FIGURE 9,g . Coupe frontale au plan vertical 15 mm .



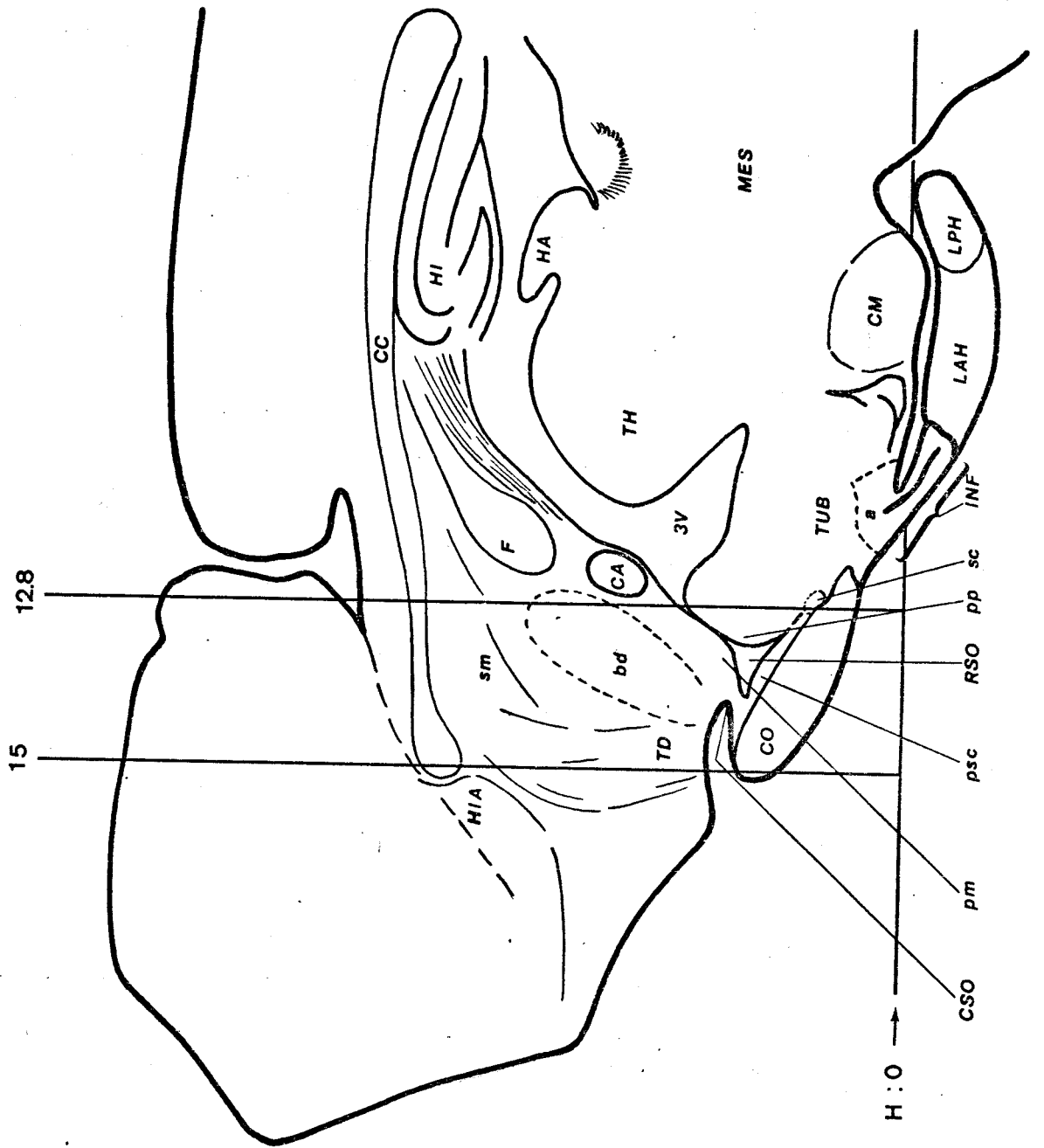
FIGURE 10 . Coupe longitudinale du cerveau du cobaye placée selon les coordonnées de l'atlas stéréotaxique .

Le plan horizontal de référence (H:0) et les plans verticaux 12,8 mm et 15 mm (ces derniers délimitant la région présentée sous la forme d'un atlas stéréotaxique) apparaissent sur ce schéma d'une coupe longitudinale parasagittale .

Abréviations (ne figurant pas sur la liste des abréviations précédant la

Figure 9 : a : noyau arqué, CM : corps mamillaires, F : fornix, HA : habenula, HI : hippocampe, INF : infundibulum, LAH : lobe antérieur de l'hypophyse, LPH : lobe postérieur de l'hypophyse, TH : thalamus, TUB : tuber .





SWS  
 LILLE

## CHAPITRE II

### ETUDE PRELIMINAIRE : LESIONS ELECTROLYTIQUES DES REGIONS PREOPTIQUE SUPRACHIASMATIQUE ET RETROCHIASMATIQUE : CONSEQUENCES SUR LE CYCLE OESTRAL ET L'OVULATION.

Ce chapitre est consacré à l'exposé des observations recueillies chez le cobaye après la destruction électrolytique de la région préoptique ventrale et de la région rétrochiasmaticque. L'emplacement des lésions est mis en corrélation avec l'aspect histologique des ovaires ( pour y déceler les signes de l'ovulation) et celui des frottis vaginaux (pour noter les altérations de la rythmicité oestrale). Avant l'exposé des résultats, il est opportun de rappeler brièvement les modifications caractéristiques subies par l'épithélium vaginal au cours du cycle oestral. Chez cet animal à ovulation spontanée, il se renouvelle pendant toute l'année et dure 16 jours en moyenne. Il se divise en 4 phases. Pendant le prooestrus (18 heures), l'oestrus (20 heures) et le post oestrus (48 heures), le vagin reste ouvert. Ces trois phases successives sont suivies d'une période de repos appelée dioestrus (10 à 12 jours) caractérisée par la fermeture du vagin. L'ovulation intervient à la fin de la période d'oestrus. La lumière du vagin est bordée par un épithélium pavimenteux stratifié de type malpighien présentant 5 couches cellulaires : couche basale, corps muqueux de Malpighi, couche transitionnelle, assise cornée (cellules kératinisées) et couche des cellules muqueuses superficielles. L'exfoliation successive de ces différentes couches se produit continuellement pendant la période d'ouverture vaginale et les éléments recueillis permettent de déterminer la phase du cycle oestral (Tableau 1).

- les éléments basophiles recueillis dès l'ouverture vaginale proviennent de l'exfoliation de la couche muqueuse superficielle se produisant pendant le prooestrus.

- l'apparition d'éléments éosinophiles anucléés et de cellules en voie de kératinisation traduisent respectivement la dissociation et la des-

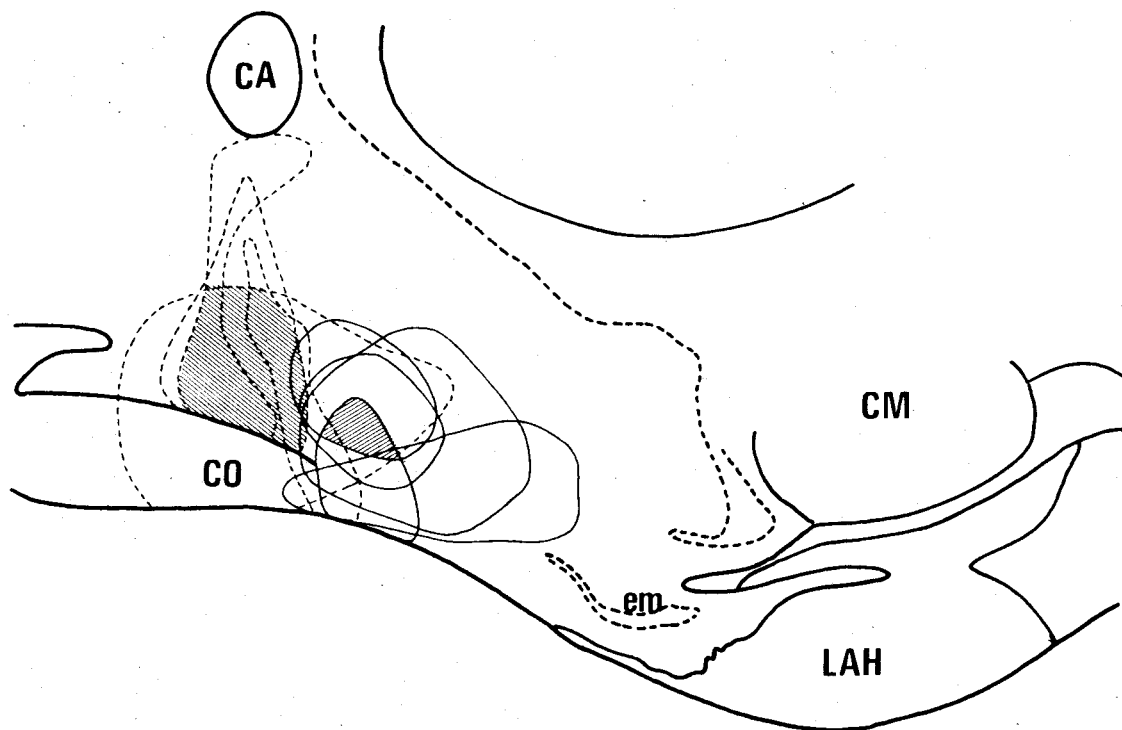


FIGURE 11 . Localisation des zones de destruction des régions préoptique et rétrochiasmatiche .

Le contour des zones de destruction électrolytique de l'aire préoptique suprachiasmatiche (traits discontinus) et de l'aire rétrochiasmatiche (traits continus) ainsi que la région commune pour ces deux groupes de lésion (hachures) sont représentés sur une coupe longitudinale parasagittale .

CA : commissure blanche antérieure, CM : corps mamillaires, CO : chiasma optique, LAH : lobe antérieur de l'hypophyse .

quamation des couches kératinisées et transitionnelles pendant l'oestrus.

- la desquamation des éléments cornés est terminée lors du post oestrus, caractérisé par un frottis présentant de très nombreux polynucléaires et des cellules basophiles nucléées provenant de la couche du corps muqueux de Malpighi.

## RESULTATS

Deux séries d'animaux possèdent des lésions présentant une situation proche ou identique. Elles provoquent une altération de la rythmicité oestrale et une modification de l'aspect histologique des ovaires particulières. Ce sont : les lésions de la région préoptique suprachiasmatique d'une part et celles de la région rétrochiasmatique d'autre part. Nous envisageons également les effets produits par les lésions incomplètes de la région préoptique suprachiasmatique et par celles situées en dehors de ces deux régions.

### 1) Destruction de la région préoptique suprachiasmatique

Les 20 animaux de cette série possèdent des lésions bilatérales de la région chevauchant le chiasma optique depuis la crête supra-optique jusqu'aux noyaux suprachiasmatiques (Fig. 11). Les lésions sont médianes et intéressent la totalité des éléments situés au voisinage du 3ème ventricule entre la commissure blanche antérieure et le récessus ventriculaire supra-optique (Fig. 12, a).

#### a) Cycle oestral

Les animaux de cette série présentent une ouverture vaginale permanente et un frottis d'"oestrus constant", pendant toute la période précédant le sacrifice (21 à 111 jours). Les lésions étant réalisées en fin de dioestrus, l'ouverture vaginale qui caractérise le prooestrus du cycle suivant est retardée de plusieurs jours. Après ce dioestrus prolongé, l'aspect du frottis pratiqué quotidiennement traduit d'abord la desquamation de la couche muqueuse superficielle puis celle des assises cornées ; il signale ainsi successivement les phases de prooestrus et d'oestrus. Le frottis d'oestrus constant est caractérisé (Tableau 1) par la présence des cellules

Phase du cycle Frottis	(18 h) PROOESTRUS	(20 h) OESTRUS	(48 h) POSTOESTRUS	(10 à 12 jours) DIOESTRUS
Eléments basophiles	+   +++	++   + -	++	Fermeture  Vaginale
Eléments éosinophiles	0	+   +++	+ -	
Polynucléaires	0	0	+++	
Exfoliation de la couche n° ..... 1 ..... 2 ..... ③ ..... 4				
Moment de la lésion		Etat d' "oestrus constant"		Ovulation

- Couche n° 1 : cellules muqueuses superficielles (basophiles)  
 " n° 2 : assise cornée (éléments éosinophiles)  
 " n° 3 : couche transitionnelle (éléments éosinophiles et basophiles)  
 " n° 4 : corps muqueux de Malpighi (éléments basophiles)

TABLEAU N° 1 : Aspect quantitatif des éléments du frottis vaginal recueilli au cours des différentes phases du cycle

oestral chez le cobaye .

L'aspect typique du frottis d'"oestrus constant" correspond à l'exfoliation de la couche transitionnelle (③) .



basophiles nucléées de la couche de Malpighi (Fig. 12, e) et surtout par l'abondance des cellules précornées (en voie de kératinisation) provenant de la zone transitionnelle. Les polynucléaires y sont parfois trouvés en grand nombre (Fig. 12, d). L'aspect du frottis indique que l'épithélium vaginal n'est plus constitué que de la couche basale et du corps muqueux de Malpighi. Ce dernier n'est pas atteint en profondeur par l'exfoliation et conserve une épaisseur constante de 100 à 170  $\mu$  (Fig. 12, c). En superficie, les cellules se forment sans cesse par prolifération du corps Malpighien n'ont pas le temps de former une assise cornée qu'elles subissent déjà l'exfoliation. Les thèques intra-épithéliales (Fig. 12, c et f) contribuent à la desquamation des couches superficielles. Dans un cas, les cellules des couches superficielles subissent une remarquable transformation muqueuse (Fig. 12, f).

#### b) Ovaires

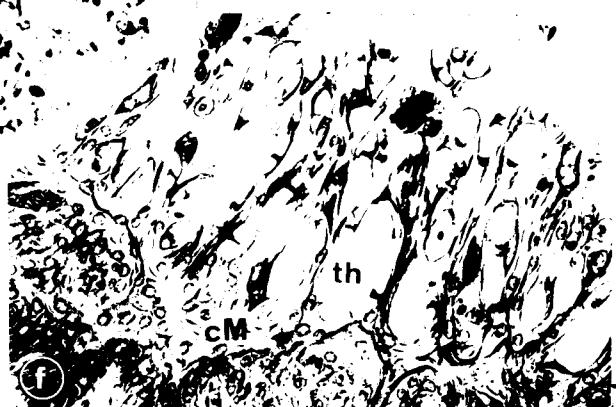
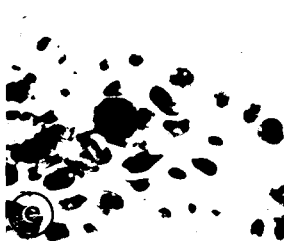
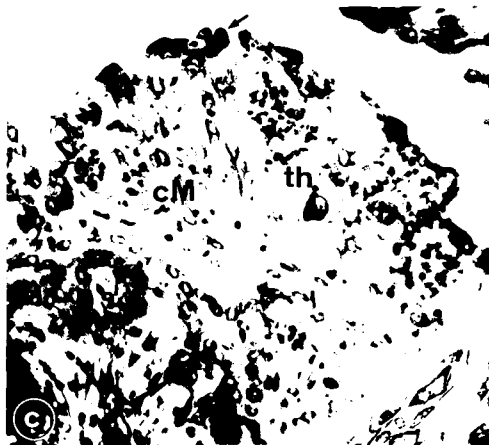
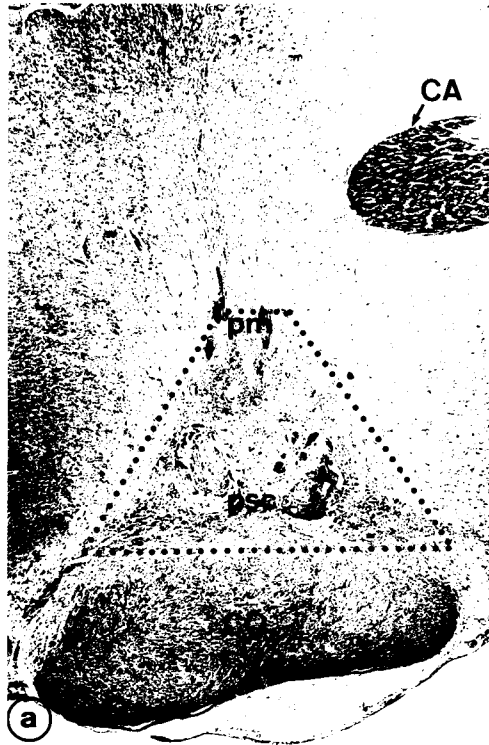
L'examen histologique des ovaires révèle l'absence totale de corps jaunes et la présence de nombreux follicules involutifs, constituant la majeure partie du stock folliculaire (Fig. 13, a).

L'involution des follicules aboutit à la formation de follicules atrétiques caractérisés par la dégénérescence totale des formations épithéliales, l'altération de l'ovocyte et l'envahissement de la cavité par un coagulum. L'atrésie définitive est marquée par la déformation des follicules qui, sous la pression d'éléments plus jeunes, prennent une forme en triangle ou en croissant mince. La thèque interne des éléments involutifs est hyperplastique et présente de nombreuses images de mitose (Fig. 13, d). Lors de l'atrésie définitive, les cellules de la thèque interne, claires et vacuolisées, se confondent avec celles du stroma ovarien et déterminent une prolifération nette de la glande interstitielle.

L'involution des follicules provoque également l'apparition de follicules kystiques très dilatés. Ils ne conservent qu'une cavité optiquement vide et une seule couche de cellules aplaties entourées par une lame conjonctive (Fig. 13, a et c). Ils atteignent des proportions considérables, déforment la surface ovarienne en faisant saillie à l'extérieur, et fusionnent entr'eux en laissant dans le stroma de volumineuses flaques d'oedème, (Fig. 13, b).

FIGURE 12 . Images microscopiques du cerveau, de l'ovaire, du vagin et du frottis vaginal des cobayes porteurs de lésions préoptiques et rétrochiasmatiques .

- a . Aspect d'une lésion complète de la région préoptique suprachiasmatique . Microphotographie d'une coupe frontale . La zone détruite est indiquée par les pointillés . CA : commissure blanche antérieure ; CO : chiasma optique ; pm : noyau préoptique médian ; psc : noyau préoptique suprachiasmatique . Coloration : Gomori . Gr : x 32 .
- b . Ovaire d'un animal possédant une lésion rétrochiasmatique . Noter la présence d'un corps jaune (cj) et d'un follicule kystique (k) très volumineux . Coloration : Glycémalum - érythrosine . Gr : x 40 .
- c . Coupe longitudinale du vagin d'un animal en "oestrus constant" . Le vagin est limité par 2 flèches indiquant l'assise basale (en bas) et les cellules précornées en voie d'exfoliation (en haut) . CM : corps muqueux de Malpighi ; th : thèque intra-épithéliale . Coloration : Trichrome . Gr : x 320 .
- d . Aspect typique d'un frottis d'"oestrus constant" . Il est caractérisé par la présence de cellules basophiles nucléées, d'éléments précornés (flèches), de cellules kératinisées anucléées et de nombreux polynucléaires . Coloration : Hématoxyline - Shorr . Gr : x 300 .
- e . Autre aspect d'un frottis d'"oestrus constant" présentant de nombreuses cellules basophiles nucléées . Coloration : Hématoxyline - Shorr . Gr : x 300 .
- f . Coupe longitudinale du vagin d'un animal en "oestrus constant" . Transformation muqueuse exceptionnelle des cellules superficielles . Coloration : Trichrome . Gr : x 250 .



U.S. GPO



## 2) Destruction de la région rétrochiasmatique

Les 8 animaux de cette série présentent des lésions basses et médianes situées entre les noyaux paraventriculaires et la base du cerveau, dans la région de la commissure post-optique. Certaines atteignent antérieurement les noyaux suprachiasmatiques, d'autres s'étendent postérieurement jusqu'au voisinage des noyaux hypothalamiques ventro-médians (Fig. 11).

### a) Cycle oestral

Les animaux de cette série présentent ou non une altération de leur rythmicité oestrale après l'intervention. 5 ont des cycles perturbés se traduisant par une ouverture vaginale permanente franche ou incomplète, ou par une succession de périodes d'ouverture franche et incomplète. 3 animaux conservent des cycles sexuels réguliers.

### b) Ovaires

Tous les animaux (présentant ou non une rythmicité oestrale normale) possèdent des ovaires présentant côte à côte des follicules involutifs atrétiques et kystiques (ces derniers parfois très dilatés), des follicules normaux, en voie d'évolution, à tous les stades et des corps jaunes signalant le maintien des ovulations et la lutéinisation (Fig. 12, b).

## 3) Destruction incomplète de la région préoptique suprachiasmatique

Pour 4 animaux, les lésions intéressent la région préoptique suprachiasmatique, dans les limites de celles illustrées par la figure 11, mais sont incomplètes : unilatérales, ou d'étendue très restreinte.

Les animaux de cette série présentent des cycles réguliers après l'intervention. A côté de corps progestatifs d'origine récente, les ovaires présentent des follicules kystiques très dilatés.

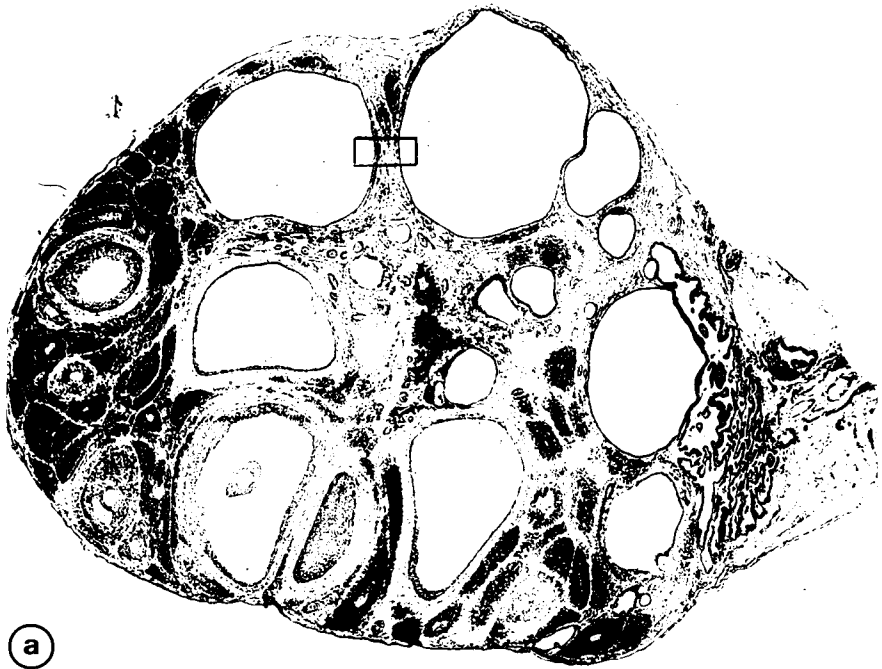
## 4) Autres lésions

Pour 13 animaux des lésions situées dans d'autres territoires hypothalamiques (noyaux paraventriculaires, ventro-médians, région de l'hypothalamus dorsal, de la commissure blanche antérieure) ne provoquent pas d'altération de la rythmicité oestrale. Des lésions hautes situées en dessous

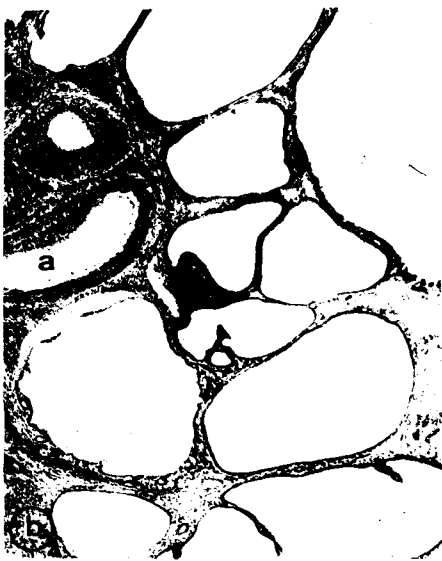
FIGURE 13 . Ovaires de cobayes en "oestrus constant" .

- a . Vue générale d'un ovaire . Observer l'absence de corps jaune et l'abondance des follicules involutifs . Gr.x33 .
- b . Follicules involutifs : follicules kystiques (optiquement vides) et atrétiques (a) . Gr.x40 .
- c . Paroi des follicules kystiques (agrandissement de la région encadrée dans la figure a) . Les flèches limitent les formations lamellaires entourant les follicules . st : stroma ovarien . Gr.x350 .
- d . Glande thécale . Noter l'abondance des mitoses . Métaphases indiquées par les flèches . Gr.x600 .

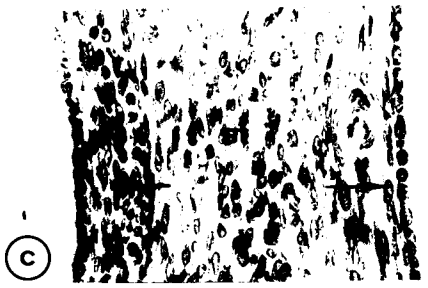
Coloration : Glychémalum-érythrosine .



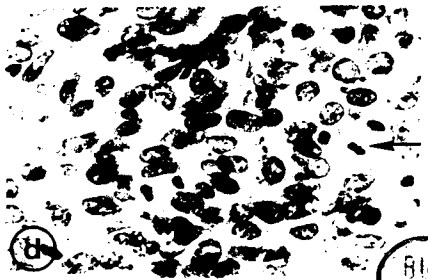
a



a



c



b

BHS  
LJAE

de la commissure blanche antérieure mais n'atteignant pas la base du cerveau, déclenchent un état d'anoestrus (ou de "dioestrus permanent") se traduisant par une fermeture vaginale continue. Les animaux porteurs de telles lésions n'ont pas fait l'objet d'une étude histologique.

## DISCUSSION

La lésion bilatérale de la région préoptique médio-basale (suprachiasmatic) provoque chez le cobaye un profond bouleversement des sécrétions gonadotropes qui se traduit par la suppression des cycles sexuels et l'apparition d'un état anovulatoire. La destruction incomplète de la même région n'a pas d'incidence sur le cycle. La destruction de la région rétrochiasmatic conduit parfois à une perturbation du cycle mais n'a pas de conséquences sur le déclenchement de l'ovulation.

Ces résultats donnent lieu à plusieurs interprétations selon qu'est considérée l'intervention de l'aire préoptique médio-basale dans :

- le contrôle de la sécrétion tonique des hormones gonadotropes,
- celui de la sécrétion cyclique de LH ou
- l'élaboration de LH-RH.

### 1) Sécrétion tonique des hormones gonadotropes

Les fonctions gonadotropes chroniques (développement de l'ovaire, accroissement et maturation folliculaires, sécrétion des stéroïdes, lutéinisation des ovaires) sont régularisées par l'action des oestrogènes. Elle s'applique au niveau de centres hypothalamiques inhibant la sécrétion tonique des gonadotropines. Chez le rat, ces centres sont imbriqués dans la région hypothalamique rostrale (CHAPPEL et BARRACLOUGH, 1976). Nos résultats démontrent que la destruction de l'aire préoptique suprachiasmatic est suivie d'une sécrétion excessive d'oestrogènes. Cette hypersécrétion s'affirme par le développement des glandes interstitielles et thécales et s'apprécie par l'ampleur des modifications histologiques observées au niveau des organes cibles (POULAIN, 1969). La première interprétation de ces résultats est que l'hypersécrétion d'oestrogène est due à la destruction d'un centre inhibant la sécrétion basale de FSH. Le bouleversement du niveau d'équilibre entre les deux hormones gonadotropes qui en résulte con-

trarie leur synergie fonctionnelle, indispensable au déclenchement de l'ovulation. L'état anovulatoire est donc une conséquence de l'augmentation du taux des oestrogènes circulants. Chez le rat, le centre inhibant la sécrétion de FSH est assimilé au "foyer de la rétroaction négative" des oestrogènes (FLERKO, 1959) par l'intermédiaire duquel les hormones ovariennes régularisent leur propre sécrétion. Ce centre est localisé par KORDON (1967) dans la région préoptique médio-basale (au voisinage des noyaux suprachiasmiques). Il est également décrit chez le même animal dans l'aire hypothalamique antérieure dorsale (au voisinage des noyaux paraventriculaires) par ILLEI - DONHOFFER et Coll. (1970), bien que cette région s'avère plutôt être le siège des mécanismes facilitant la libération tonique de FSH (CHAPPEL et BARRACLOUGH, 1976). Si la lésion de l'aire préoptique suprachiasmique atteint un des mécanismes de la régularisation de la sécrétion tonique des gonadotropines, et que l'état anovulatoire en est une conséquence, due à l'altération du rapport FSH - LH, celui-ci doit être réversible et la réactivation du cycle oestral possible après correction expérimentale de l'hyperoestrogénémie. Cette vérification n'a pas été tentée mais la lutéinisation des ovaires chez les cobayes en "oestrus constant" n'est pas obtenue par DEY (1943) malgré l'emploi de diverses drogues.

## 2) Sécrétion cyclique de LH

La seconde interprétation des résultats est que la lésion complète de l'aire préoptique suprachiasmique atteint l'intégralité du "centre cyclique" assurant la commande de la libération périodique du pic préovulatoire de LH. Il existe une bonne concordance entre la situation des lésions efficaces chez le cobaye et la localisation du "centre cyclique" produisant chez la rate, le jour du prooestrus, un signal nerveux destiné à l'hypothalamus médio-basal. Comme chez la rate, la stimulation de l'aire préoptique médiane du cobaye déclenche l'ovulation (QUINN, 1969), provoque la cession des gonadotropines (BOOTH et DONOVAN, 1974) et fait augmenter le taux de LH (DONOVAN et Coll., 1977). La destruction de régions très étendues du diencéphale (dont l'aire préoptique médiane) est suivie chez le cobaye d'importants dérèglements des cycles sexuels (DEY et Coll., 1940 ; DEY, 1941). Des résultats récents obtenus chez le rat précisent les modalités de l'intervention du "centre cyclique" dans le déclenchement de l'ovulation. Le signal

nerveux qui en est originaire résulte de la synchronisation de deux événements différents :

- l'activation périodique de structures hypothalamiques et extrahypothalamiques au cours de la rétroaction positive des oestrogènes
- l'activation intrinsèque (suivant un rythme circadien) du "centre cyclique".

#### a) Rétroaction positive des oestrogènes

Pendant le cycle oestral, l'élévation du taux des oestrogènes circulants (accompagnant la maturation folliculaire) précède la libération du pic préovulatoire de LH (voir SCHWARTZ et Mc CORMACK, 1972). Au cours de leur rétroaction centrale, ces hormones stimulent l'activité des structures nerveuses et glandulaires de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Les mécanismes déclenchés par cette rétroaction (rétroaction positive) ne sont pas connus avec exactitude. Cependant, comme cette action provoque le jour du prooestrus une augmentation de LH-RH dans le système porte hypophysaire (SAKAR et Coll., 1976), deux hypothèses sont envisagées. La rétroaction positive des oestrogènes s'adresse soit aux neurones élaborant LH-RH, soit aux structures hypothalamiques et extrahypothalamiques participant collectivement au contrôle de la sécrétion de LH-RH : "centre cyclique" préoptique, "système diffus" septopréoptique, structures limbiques. Pour KAWAKAMI et Coll. (1977), la région préoptique chez le rat n'est pas le siège de la rétroaction positive, mais exerce un rôle d'intégration et d'amplification des influx en provenance de structures extrahypothalamiques sensibilisées périodiquement par les oestrogènes. Par des implantations intracérébrales d'oestradiol, GOODMAN (1978) prouve au contraire que l'aire préoptique est chez le même animal le site effecteur de la rétroaction positive. Des destructions focalisées de cette région, laissant subsister une quantité suffisante d'éléments sensibles aux oestrogènes, n'ont qu'une efficacité partielle dans la suppression de la rétroaction (GRAY et Coll., 1978). 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. Elle doit être rapprochée des résultats obtenus chez le cobaye pour le groupe d'animaux chez lequel la destruction incomplète de la région n'altère pas la rythmicité oestrale.

A la vue de ces données, il est possible d'émettre l'hypothèse suivante : comme chez le rat, la région préoptique médio-basale est le site de la rétroaction positive des oestrogènes : sa destruction complète abolit l'ovulation, sa destruction incomplète laisse subsister un nombre suffisant d'éléments sensibles aux hormones pour que les mécanismes qui résultent de la rétroaction soient préservés.

b) Activation intrinsèque du centre cyclique

L'aire préoptique sert les influx provenant des éléments sensibles à la rétroaction positive des oestrogènes avec la limitation du moment de la journée : elle les rend fonctionnels uniquement pendant la "période critique". Les noyaux suprachiasmatiques constituent la structure clé (horloge biologique) de la fluctuation diurne de divers événements endocriniens et comportementaux (ZUCKER et Coll., 1975 ; PHELPS et Coll., 1978). L'intervention de ces noyaux détermine au cours de la journée (lorsque les conditions hormonales sont remplies) le moment propice ("période critique") de la transmission du signal nerveux précurseur de l'ovulation (RAISMAN et BROWN-GRANT, 1977). La destruction ponctuelle des noyaux suprachiasmatiques déclenche invariablement l'état anovulatoire chez le rat en désynchronisant l'activité des structures activées périodiquement par les oestrogènes de celle des éléments du centre cyclique qui répondent au rythme circadien. Cette intervention supprime la "période critique" (GRAY et Coll., 1978) ou la déplace de manière aléatoire dans le temps (BROWN-GRANT et RAISMAN, 1977). L'importance des noyaux suprachiasmatiques dans les mécanismes nerveux de l'ovulation est d'autant plus grande que d'après GRAY et Coll., (1978) ils représentent l'épicentre de la rétroaction positive des oestrogènes. Selon CLEMENS et Coll., (1976) et BROWN-GRANT et Coll. (1977), la destruction de la région préoptique n'est efficace chez le rat que si elle touche ces noyaux. Cette affirmation n'est pas vérifiée par nos résultats puisque les lésions de la région rétrochiasmatique, atteignant plus particulièrement les noyaux suprachiasmatiques, ne provoquent jamais la suppression de l'ovulation. Notons toutefois que ces noyaux ne sont que partiellement détruits et que d'après BROWN-GRANT et Coll. (1977) la destruction d'au moins les deux tiers de ceux-ci est nécessaire pour induire l'état anovulatoire. Notons enfin que

l'aire préoptique périventriculaire suprachiasmatique, totalement détruite chez les cobayes en "oestrus constant" peut également être, comme chez le rat (KAWAKAMI et Coll., 1977) le prolongement vers l'avant du centre opérationnel de la rythmicité circadienne.

### 3) Elaboration de LH-RH

Une dernière interprétation des résultats obtenus découle de la présence dans la région détruite des neurones élaborant LH-RH. D'après BARRY et Coll. (1973 a), la région préoptique est le lieu d'origine d'une voie neurosécrétrice destinée à l'éminence médiane. Elle constitue également le lieu de transit d'une autre voie à LH-RH, destinée à l'organe vasculaire de la lame terminale (tractus préoptico-terminal : BARRY et DUBOIS, 1973). Cet organe, situé à la partie rostrale du 3ème ventricule, fait partie d'un groupe de structures épendymaires spécialisées qui se caractérisent par leur vascularisation et leur architecture cellulaire particulières (semblables à celles de l'éminence médiane). Il concentre électivement la LH-RH chez le rat (KIZER et Coll., 1976). Chez le cobaye, des terminaisons axoniques immunoréactives vis-à-vis de la neurohormone sont observées en grand nombre dans la région de la crête supra-optique (BARRY et Coll., 1973 a). Les rôles respectifs de ces deux voies à LH-RH ne sont pas encore précisés. Si l'hypothèse de la destruction d'une de ces voies est retenue pour expliquer le syndrome d'"oestrus constant" observé chez nos animaux, il est possible d'envisager que ce sont les éléments du tractus préoptico-terminal qui jouent un rôle essentiel dans la libération cyclique de LH-RH. En effet, les lésions rétrochiasmiques, qui interrompent vraisemblablement le tractus préoptico-infundibulaire, n'ont pas de retentissement sur l'ovulation.

En conclusion, l'aire préoptique médio-basale (suprachiasmatique) est située au point nodal d'un réseau complexe de mécanismes, si bien qu'aucune explication simple ou définitive ne peut être fournie pour définir le syndrome d'"oestrus constant" qu'entraîne sa destruction. Trois possibilités sont invoquées :

- déplacement du niveau d'équilibre basal des sécrétions gonadotropes, compromettant secondairement le déclenchement de l'ovulation



- atteinte du centre de la rétroaction positive des oestrogènes et/ou perturbation du rythme (diurnal) de la fluctuation des mécanismes engendrés par cette rétroaction

- destruction d'une voie neurosécrétoire à LH-RH impliquée dans la libération cyclique des gonadotropines.

Les deux premières possibilités sont directement liées à l'action des oestrogènes. L'emplacement des lésions provoquant l'"oestrus constant" et l'hypersécrétion d'oestrogènes est parfaitement superposable à la région fixant l'H<sup>3</sup> oestradiol chez le même animal et décrite par WAREMBOURG (1977) comme occupant "le noyau préoptique suprachiasmatique, l'aire de la crête supra-optique et le noyau périventriculaire bordant le 3ème ventricule". Cette région est également impliquée dans l'élaboration de LH-RH. Il est suggéré que le syndrome observé après sa destruction totale résulte de la perturbation des mécanismes engendrés par la rétro-action des oestrogènes. Il demeure incertain que cette action s'adresse indirectement à un centre influençant l'activité des neurones à LH-RH ou directement à un pool de neurones à LH-RH impliqué dans la libération cyclique des gonadotropines.

## CONCLUSION

### DE LA PREMIERE PARTIE

A l'aide d'une technique permettant une approche globale des mécanismes originaires de l'aire préoptique, nous démontrons dans une étude préliminaire l'importance de la région préoptique médio-basale (suprachiasmatic) dans le contrôle de l'ovulation chez le cobaye. Chez le rat, pris comme "modèle" pour l'interprétation des résultats, l'influence exercée par cette région sur la sécrétion des hormones gonadotropes est relayée par la région tubérale médio-basale. Cela implique que ces deux structures entretiennent des relations privilégiées. Nos résultats peuvent difficilement suggérer l'existence d'une projection préoptico-tubérale ayant la même signification fonctionnelle que chez le rat. En effet, l'interruption de cette projection par une lésion rétrochiasmatic n'a qu'un faible retentissement sur le cycle et l'ovulation.

Une étude plus précise, ponctuelle, doit être entreprise pour définir l'identité anatomique et fonctionnelle des relations préoptico-tubérales.

L'atlas stéréotaxique est présenté en annexe de cette étude. Il récapitule l'ensemble de la nomenclature employée et constitue un système commode de référence topographique auquel il est fait référence tout au long de l'exposé des résultats.

## DEUXIEME PARTIE

IDENTIFICATION À L'ÉCHELON UNITAIRE DES RELATIONS  
ENTRE L'AIRE SEPTOPRÉOPTIQUE ET LA RÉGION INFUNDI-  
BULAIRE.

ÉTUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE ET NEUROANATOMIQUE.

## INTRODUCTION

L'attribution d'un rôle spécifique, dans les mécanismes du contrôle des sécrétions préhypophysaires, à chacun des constituants de l'aire septopréoptique, ne peut être envisagée que sur la base de la connaissance précise de leurs connexions efférentes. L'identification à l'échelon unitaire des relations entre l'aire septopréoptique et la région infundibulaire chez le cobaye répond à un double but :

- vérifier chez cet animal l'existence d'une projection directe préoptico-tubérale, impliquée chez le rat dans le contrôle du déclenchement de l'ovulation,

- démontrer plus précisément :

- l'existence d'un tractus préoptico-infundibulaire, pouvant représenter le support anatomique d'une voie neurosécrétoire à LH-RH,
  - l'existence d'un tractus septo-arqué, dont la fonction reste hypothétique.
- Nous tentons de dissocier, au sein de l'aire septopréoptique, les structures directement connectées à l'un ou l'autre des constituants de la région infundibulaire : l'éminence médiane et le noyau arqué.

Cette étude est réalisée à l'échelon unitaire, à l'aide de deux méthodes d'identification permettant chacune la localisation précise de l'origine des fibres septopréoptiques afférentes à la région infundibulaire. L'une de ces méthodes repose sur la technique électrophysiologique d'identification antidromique, l'autre sur la technique neuroanatomique basée sur les propriétés de transport rétrograde de la peroxydase.

Nous examinons dans les deux chapitres suivants les résultats obtenus à l'aide de ces techniques et tentons de les superposer dans la conclusion de cette DEUXIEME PARTIE.

## CHAPITRE I

### ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE DES RELATIONS ENTRE L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE ET LA REGION INFUNDIBULAIRE

L'excitation antidromique des neurones situés à une certaine distance du site d'implantation de l'électrode de stimulation représente un moyen efficace pour l'identification de leurs projections. Cette méthode repose sur le fait que l'application d'un choc stimulant au niveau d'une portion d'axone provoque la naissance d'un influx qui atteint le corps cellulaire par propagation rétrograde et y déclenche la naissance d'un potentiel d'action qui est détecté par la microélectrode d'enregistrement. Il est ainsi possible de prouver la relation directe (asynaptique) existant entre les sites de stimulation et d'enregistrement.

Nous nous attachons tout d'abord à décrire les propriétés particulières des excitations enregistrées dans l'aire septopréoptique, après stimulation de la région infundibulaire, qui définissent les critères de l'identification antidromique.

Nous présentons ensuite les particularités des réponses non antidromiques obtenues dans la même région et dans les mêmes conditions de stimulation. Nous détaillons enfin la topographie des neurones qui présentent ces divers types de réponse.

#### A. PROPRIETES DES REponses DE NATURE ANTIDROMIQUE OBTENUES DANS L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE AU COURS DE LA STIMULATION DE LA REGION INFUNDIBULAIRE

#### RESULTATS

Des chocs stimulants (impulsions carrées d'intensité comprise entre 0,1 et 2,5 mA ; largeur entre 0,15 et 1 ms) sont délivrés à la région tubérale médio-basale par une électrode implantée selon les coordon-

FIGURE 14 . Histogrammes montrant la répartition des valeurs de la latence et de la période réfractaire des neurones excités antidromiquement .

Répartition des latences (l) d'excitation pour deux séries d'expériences, l'une contenant 179 et l'autre 87 neurones .

Axe des ordonnées : nombre de cellules .

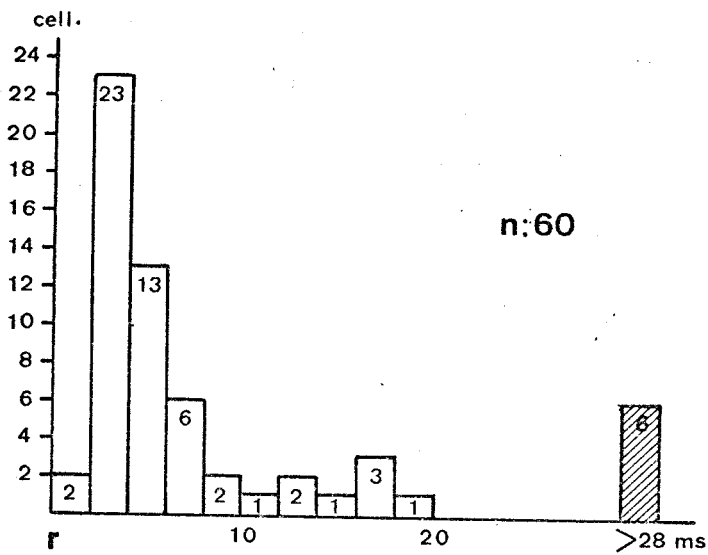
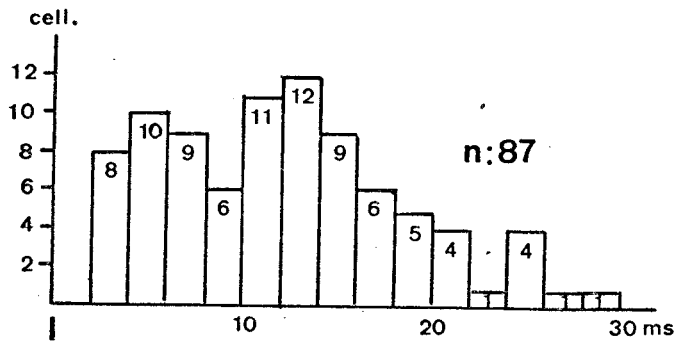
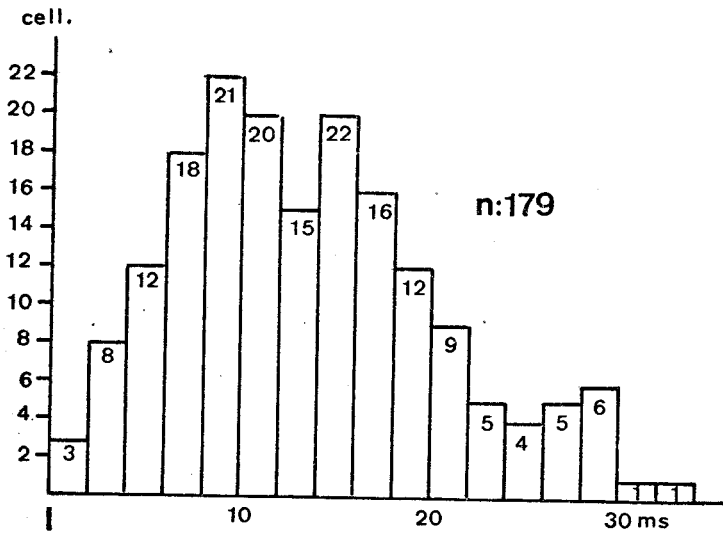
Axe des abscisses : valeur de la latence (intervalle de classe : 2 ms) .

Répartition des périodes réfractaires (r) pour un groupe de 60 neurones .

Axe des ordonnées : nombre de cellules .

Axe des abscisses : valeur de la période réfractaire (intervalle de classe : 2 ms) .

6 neurones présentent une valeur de r anormalement élevée (supérieure à 28 ms) .



nées (AP = 10, L = 0, profondeur = 10,5) de notre atlas stéréotaxique (POULAIN, 1974 a). L'activité de 821 neurones est détectée dans la région septopréoptique. 42 % répondent à la stimulation par un potentiel d'action antidromique.

### 1) Latence d'excitation

L'excitation antidromique se manifeste par l'apparition d'un potentiel d'action unique, de latence fixe. La fixité de la latence est démontrée par la superposition de plusieurs balayages filmés sur l'écran de l'oscilloscope. Les valeurs des latences d'excitation antidromiques varient dans une gamme très étendue comprise entre 1,5 et 33 ms. La figure 15 (a et b) illustre la différence considérable existant entre les latences d'excitation de deux neurones enregistrés au cours de la même descente. Dans une série d'expériences ayant révélé la présence de 179 cellules excitées de manière antidromique, 76,5 % des réponses sont obtenues avec une latence comprise entre 5 et 19 ms, la moyenne étant de 13,60 ms (Sm : 1,79). Dans une autre série comportant 87 neurones, la moyenne des valeurs des latences est de 12,22 ms (Sm : 2). Les histogrammes illustrant la dispersion des valeurs des latences d'excitation pour ces deux séries sont représentés dans la figure 14.

### a) Vitesse de conduction

La distance séparant les sites de stimulation et d'enregistrement pour les deux groupes de neurones dont la valeur moyenne de la latence d'excitation est de 13,60 ms et 12,22 ms est évaluée à 3,5 mm et 3 mm respectivement; l'estimation de la vitesse de conduction est de 0,25 mètre par seconde.

### b) Ajustement de la latence

Lorsque le neurone est soumis à des stimulus d'intensité différente, le potentiel d'action antidromique apparaît avec une latence identique. Cependant, parmi les 191 neurones excités de manière antidromique dans une des séries d'expériences, 4 montrent une réduction de leur latence survenant lors de l'application d'un stimulus d'intensité supérieure. Dans chaque cas, l'augmentation graduelle de l'intensité de stimulation provoque un



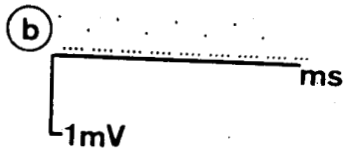
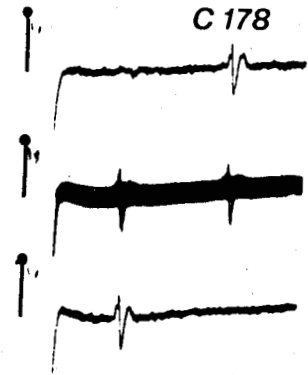
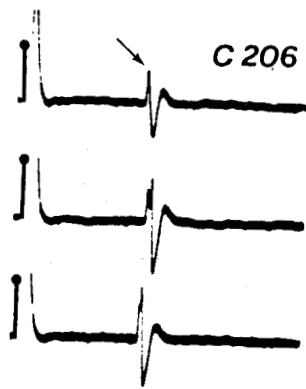
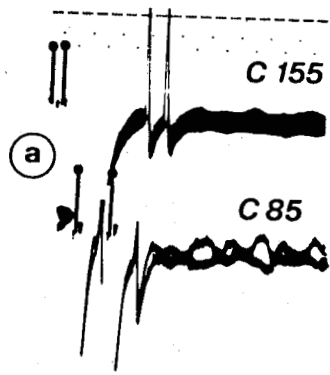
FIGURE 15 . Réponses antidromiques .

- a et b . Latences d'excitation très différentes (33 ms en a et 4 ms en b) pour deux neurones proches . Fixité absolue de la latence (tracés superposés) .
- c . Inflexion dans la partie montante du potentiel d'action (flèche) . Le premier composant apparaît seul (en haut) . Latence variable du second composant .
- d et e . Réduction de la latence pour une stimulation d'intensité plus élevée . Voir en d (tracés superposés, au milieu) que l'ajustement de la latence à une valeur inférieure survient brutalement .
- f . Séparation des spikes A (flèche) et B . Le spike A peut apparaître seul; la latence du spike B est variable .
- g . Mesure de  $r$  par un double choc, le second provoquant l'apparition d'une réponse une fois sur deux (tracés superposés du bas) .
- h . Réduction de  $r$  .  
 $r$  est égal à 8,5 ms (tracé du haut) lorsqu'il est mesuré au seuil (1 mA) . la seconde réponse réapparaît pour un intervalle entre les deux chocs de 6 ms, lorsque l'intensité de la stimulation est portée à 1,5 mA (tracé du bas) .
- i . Seuil du spike B : le spike A en réponse à un simple choc apparaît souvent seul (flèche); une intensité de stimulation supérieure (seuil) est nécessaire pour l'obtention d'une réponse complète (tracés du haut) .
- Réduction de  $r$  : au seuil,  $r = 5$  ms; une seconde réponse est obtenue pour un intervalle entre les chocs de 2 ms lorsque l'intensité de la stimulation est augmentée . Observer la dissociation de la seconde réponse pour un intervalle de 21 ms .
- Test de la collision :  $c = 13$  ms . L'astérisque signale le potentiel d'action spontané (tracé du bas, à droite) .

Calibration en b .

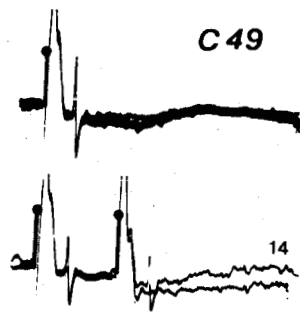
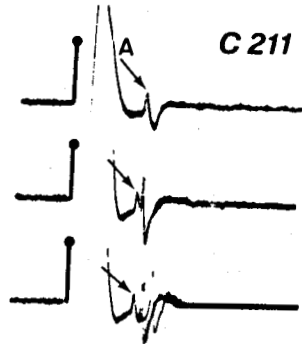
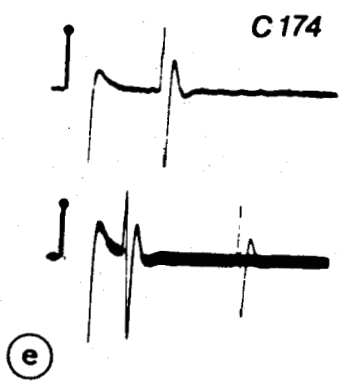
↑ : artéfact de stimulation .

Les chiffres à l'extrémité droite des tracés indiquent la valeur de l'intervalle entre les chocs .



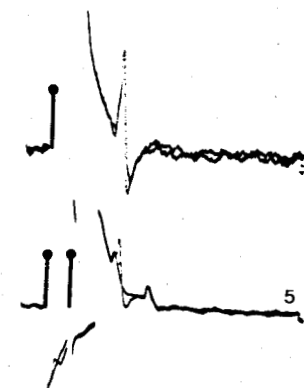
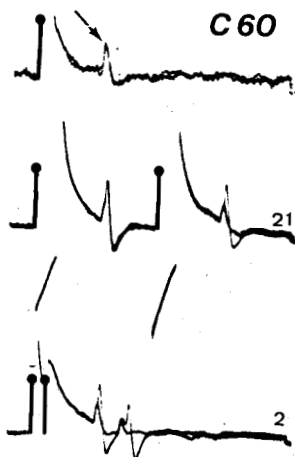
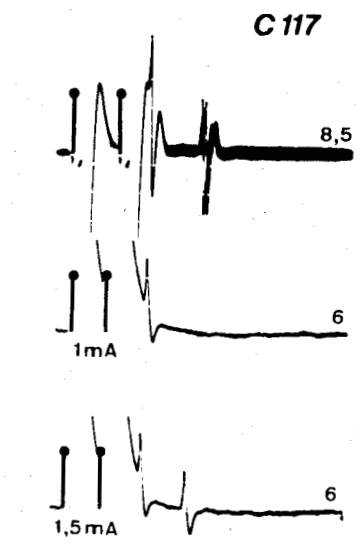
**(c)**

**(d)**



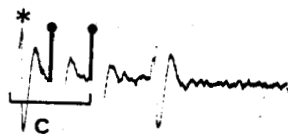
**(f)**

**(g)**



**(h)**

**(i)**



ajustement brutal de la latence d'excitation à une valeur inférieure. Parvenue à cette valeur, la latence est ensuite insensible à toute nouvelle augmentation de l'intensité ~~du~~ choc stimulant. Pour une augmentation de l'intensité de stimulation de 0,5 mA, on constate une réduction de 18 ms de la latence de la réponse de la cellule 178 (Fig. 15, d) et de 4,5 ms pour celle de la cellule 174 (Fig. 15, e) (Autres exemples : Fig. 16, a et Fig. 40).

## 2) Composants de la réponse - Spikes A et B

Le potentiel d'action évoqué présente fréquemment dans sa partie ascendante un épaulement plus ou moins marqué qui le divise en deux composants, nommés spikes A et B. Si le spike A apparaît avec une latence parfaitement fixe, celle du spike B est au contraire fluctuante (Fig. 15, c). La séparation des deux spikes est parfois totale, le premier précédant le suivant de plusieurs millisecondes (Fig. 15, f). Occasionnellement, la naissance du composant tardif est bloquée, ce qui réduit le potentiel d'action à son seul composant initial (Fig. 15, c et f). Celui-ci a un seuil plus bas ; une intensité de stimulation supérieure est nécessaire pour que la réponse complète réapparaisse (Fig. 15, i).

## 3) Stimulation par double choc

L'emploi d'une stimulation composée de deux chocs séparés par un intervalle variable rend possible l'estimation de la période réfractaire et fait apparaître certaines particularités de la réponse antidromique.

### a) Période réfractaire absolue

#### α) Mesure de la période réfractaire absolue

La valeur de la période réfractaire absolue est estimée en mesurant l'intervalle  $r$  entre deux chocs (d'intensité liminaire) pour lequel chacun d'eux produit une réponse antidromique, celle du second n'apparaissant qu'une fois sur deux. La figure 15, g illustre la manière de mesurer l'intervalle  $r$  (égal ici à 14 ms) par la superposition de deux balayages successifs photographiés sur l'écran de l'oscilloscope. Les valeurs de  $r$  calculées pour 60 neurones sont présentées dans l'histogramme de la figure 14. Pour 54 d'entr'eux, ces valeurs sont comprises entre 2 et 20 ms (moyenne : 5,90 ms,  $S_m$  : 3,73). 23 neurones présentent des valeurs de  $r$  comprises entre 2,5 et

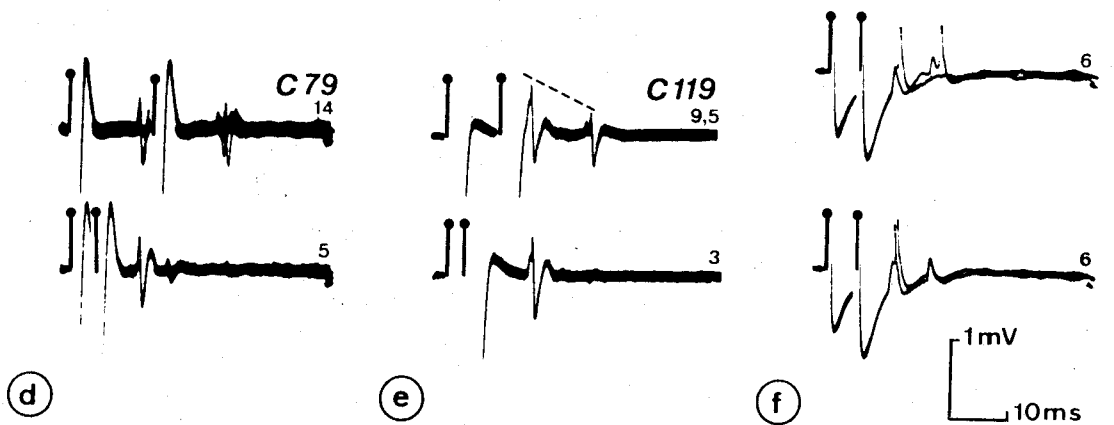
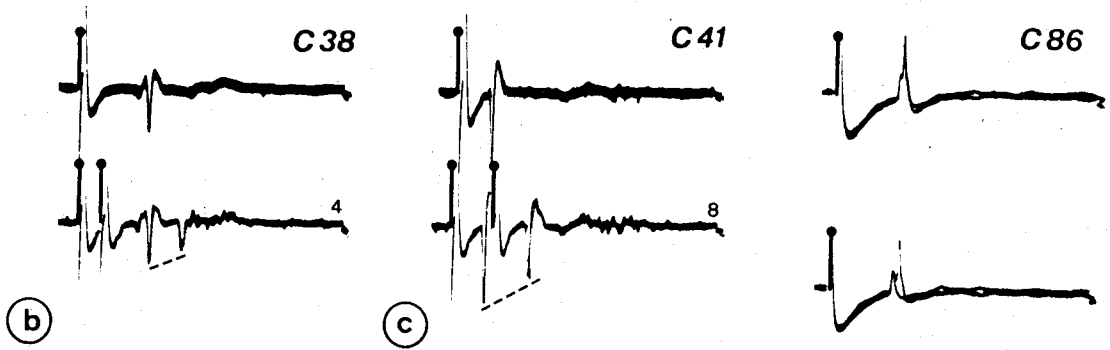
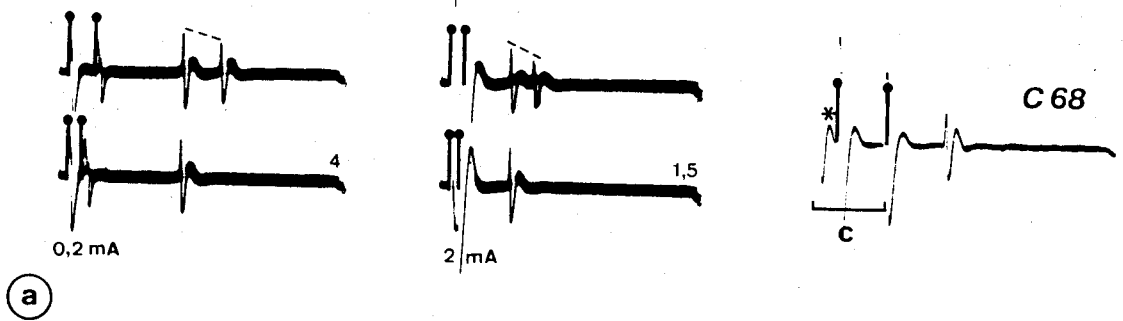
FIGURE 16 : Réponses antidromiques : stimulation par double choc .

- a . Réduction de  $r$  et de la latence .  
Lorsque l'intensité de la stimulation est portée de 0,2 à 2 mA, la valeur de  $r$  passe de 4 à 1,5 ms et celle de la latence de 19 à 11 ms .  
Observer la diminution de la taille de la seconde réponse .
- b et c . Réduction de la taille de la réponse au second choc .  
Observer la variation de sa latence en c (tracés superposés) .
- d . Lorsque l'intervalle entre les deux chocs décroît, les spikes A et B de la seconde réponse sont séparés et la latence du dernier est fluctuante (en haut) puis celui-ci disparaît (en bas) .
- e . Lorsque l'intervalle entre les chocs décroît, la taille de la seconde réponse diminue et les spikes A et B sont séparés (en haut) .  
La valeur de  $r$  est dépassée pour un intervalle de 3 ms ( $r = 4$  ms) .
- f . Accentuation du délai entre les spikes A et B et probabilité moindre d'apparition du spike B lors de l'utilisation d'une stimulation par double choc .

Calibration en f .

↑ : artéfact de stimulation .

Les chiffres à l'extrémité droite des tracés indiquent la valeur de l'intervalle entre les chocs .



4 ms. Pour 6 neurones, cette valeur est anormalement élevée et comprise entre 28 et 30 ms. La valeur de  $r$  est considérée comme étant proche, bien que supérieure, à la période réfractaire absolue du neurone.

### $\beta$ ) $r$ réductible

Les valeurs de  $r$  sont déterminées à l'aide de chocs stimulants d'intensité identique et équivalente au seuil nécessaire pour la production d'un potentiel d'action. En augmentant l'intensité de la stimulation, la valeur de  $r$  peut être réduite. Ce phénomène est illustré par la figure 15, h où deux chocs d'intensité liminaire (1 mA) séparés par 8,5 ms permettent chacun l'obtention d'une réponse antidromique, la seconde apparaissant une fois sur deux ( $r = 8,5$  ms). En réduisant l'intervalle entre les deux chocs de 2,5 ms, la seconde réponse est normalement annulée. Elle est cependant restaurée si l'intensité des deux chocs stimulants est portée à 1,5 mA. La figure 15, i est un exemple identique mais compliqué par le fait que le potentiel d'action déclenché par le second choc est scindé en ses deux composants dès que l'intervalle entre les chocs atteint 21 ms, le spike B apparaissant rarement. Au seuil, l'intervalle critique pour l'obtention d'un second potentiel d'action est de 5 ms (spike A seul). En augmentant l'intensité de stimulation, il est possible, pour un intervalle entre les deux chocs égal à 2 ms, d'obtenir à nouveau la seconde réponse, parfois complète.

La réduction de la valeur de  $r$  à des intensités de stimulation supraliminaires s'associe parfois au phénomène d'ajustement de la latence décrit précédemment. Ce fait est illustré par la figure 16, a : au seuil (0,2 mA), la latence de la réponse est de 19 ms,  $r$  est égal à 4 ms ; en décuplant l'intensité de la stimulation, la valeur de  $r$  est réduite de 2,5 ms et celle de la latence de 8 ms.

### b) Période réfractaire relative

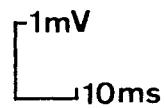
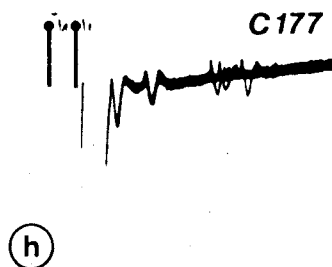
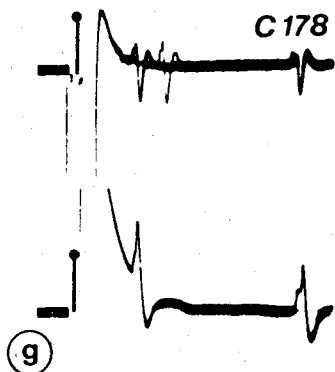
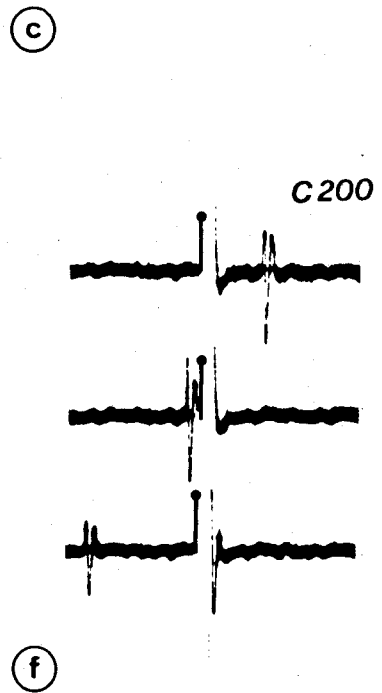
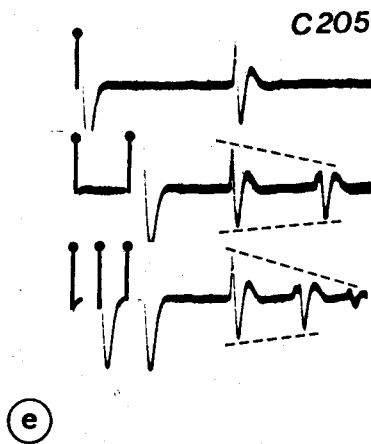
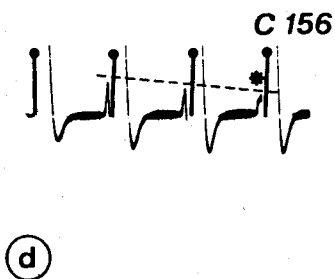
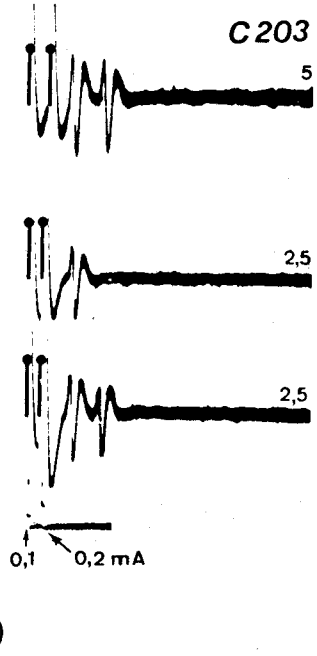
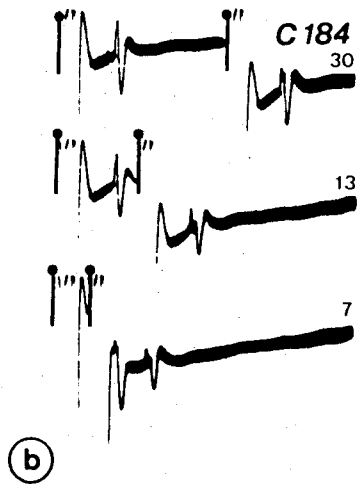
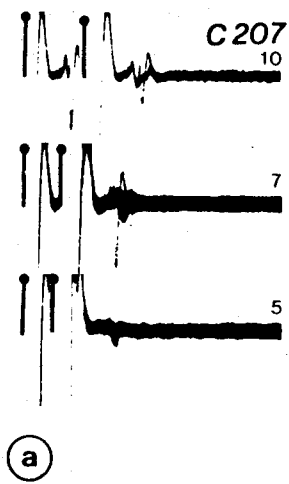
Lorsque l'intervalle entre deux chocs d'intensité liminaire est progressivement réduit jusqu'à atteindre la valeur de  $r$ , une série de modifications apparaissent dans la forme et les propriétés de la réponse au second choc. Ces modifications se traduisent dans la forme du potentiel d'action :

FIGURE 17 . Réponses antidromiques et propriétés .  
particulières des réponses .

- a et b . Comportement de deux neurones soumis à une stimulation composée de deux chocs séparés par un intervalle progressivement réduit .  
L'augmentation de la latence de la seconde réponse (spike A seul pour la cellule 207, spikes A et B pour la cellule 184), lorsque l'intervalle passe de 7 à 5 ms, est représentée pour les deux cellules dans la figure 18 .
- c . Augmentation du seuil de la réponse à un choc test .  
2 chocs au seuil (0,1 mA) sont appliqués avec un intervalle (2,5 ms) inférieur à la valeur de  $r$  ( $r = 3$  ms) ; la réponse au choc test est retrouvée lorsque l'intensité de celui-ci est portée à 0,2 mA (tracé du bas) .
- d . Réponse à haute fréquence (84 Hz) . Observer la réduction progressive de la taille des potentiels d'action et la dissociation des spikes A et B (astérisque) .
- e . Réponse à haute fréquence (167 Hz) : réduction de taille, dissociation, perte du spike B et augmentation progressive de la latence des réponses .
- f . Collision : le potentiel d'action naissant spontanément avant (tracé du milieu) ou après (tracé du bas) l'application du choc stimulant annule la réponse antidromique (tracé du haut) .
- g . Deux réponses de latence différente (15 et 45 ms) et fixe (tracés superposés) succèdent à l'application du choc stimulant . Ces deux réponses, d'amplitude différente, correspondent à l'excitation antidromique de deux neurones proches .
- h . Deux réponses de latence différente (10 et 30 ms) succèdent à la stimulation (par double choc) ; la première, de latence fixe (tracés superposés), correspond à l'excitation antidromique du neurone, la seconde, de latence variable (tracés superposés), à l'excitation transsynaptique du même neurone .

↑ : artéfact de stimulation .

Les chiffres à l'extrémité droite des tracés indiquent la valeur de l'intervalle entre les chocs .





- par une réduction de son amplitude (Fig. 16, b et c ; autres exemples répertoriés dans le tableau 2)

- par une séparation nette des spikes A et B (Fig. 16, d, e et f). L'apparition couplée de ces deux phénomènes reflète la période réfractaire relative de la membrane somato-dendritique. Elle se manifeste pour des intervalles entre les chocs présentant une valeur très éloignée de celle de  $r$  ; la valeur maximale est de 28 ms (Fig. 18, c). Elle s'accompagne d'une fluctuation de la latence du spike B (Fig. 16, d) ; la probabilité d'apparition de celui-ci décroît au fur et à mesure que la valeur de l'intervalle entre les chocs se rapproche de celle de  $r$  (Fig. 16, d et f).

### c) Latence et seuil de la réponse au second choc

Lorsque l'intervalle entre les chocs atteint une valeur très proche de celle de  $r$ , les propriétés de la réponse au second sont modifiées. La latence du spike A (Fig. 17, a ; Fig. 18, a et b) et celle du spike B (Fig. 17, b ; Fig. 18, b) augmentent brutalement. Ce phénomène est couramment observé (Tableau 2). Lorsque l'intervalle entre les chocs est égal à ~~celle de~~ la valeur de  $r$ , il est possible de restituer la réponse au second choc en augmentant son intensité (Fig. 17, c). Cette remarque est rapprochée des observations concernant la possibilité de réduire la valeur de  $r$  en utilisant des chocs d'intensité supraliminaire. En conséquence, en réponse à un choc test, à la fois la latence et le seuil du potentiel d'action sont plus élevés que ceux du potentiel d'action produit par un choc préalable (choc conditionnant) lorsque les deux chocs sont séparés d'un intervalle proche de la valeur de la période réfractaire absolue du neurone.

### d) Résumé des observations recueillies lors d'une stimulation par double choc

En réponse à un choc test rapproché progressivement d'un choc conditionnant (ces chocs étant d'intensité liminaire), le potentiel d'action présente une série d'altérations dont l'ordre apparaît dans la figure 18 (cellule 184) :

- diminution de la taille et variation de la latence du spike B
- augmentation du délai séparant les spikes A et B
- augmentation subite de la latence des spikes A et B.

FIGURE 18 . Augmentation de la latence et diminution de l'amplitude du potentiel d'action antidromique évoqué par l'application d'un choc test .

L'augmentation de la latence de la réponse (spikes A et B) du potentiel d'action évoqué par l'application d'un choc test succédant à un choc conditionnant avec un intervalle proche de la valeur de  $r$  (égale à 5 ms pour les deux neurones 184 et 207) est mise en évidence (diagrammes a et b) :

- en reportant en ordonnées la valeur du rapport des latences  $l_2$  (réponse au choc test) et  $l_1$  (réponse au choc conditionnant) ou la valeur de  $l_2$ ,

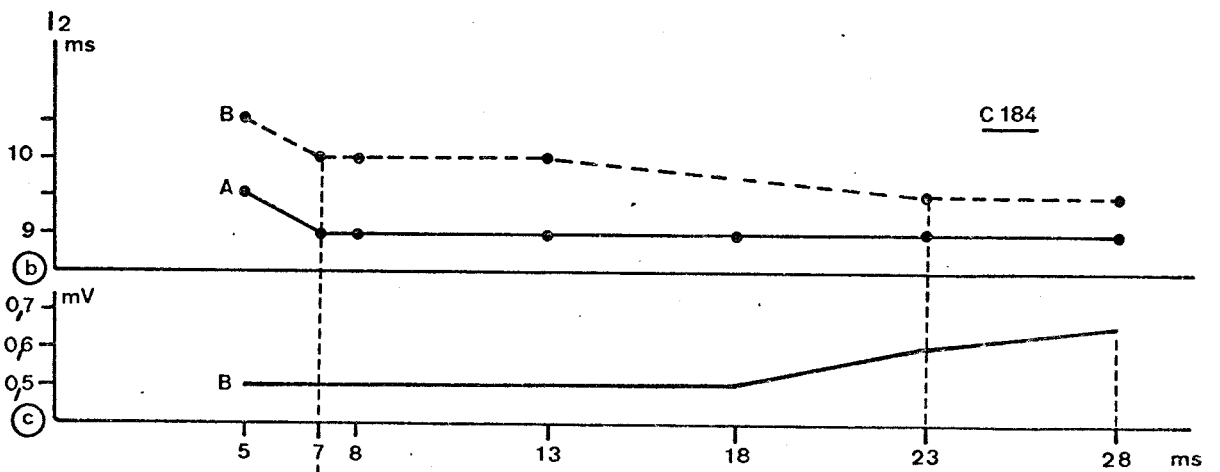
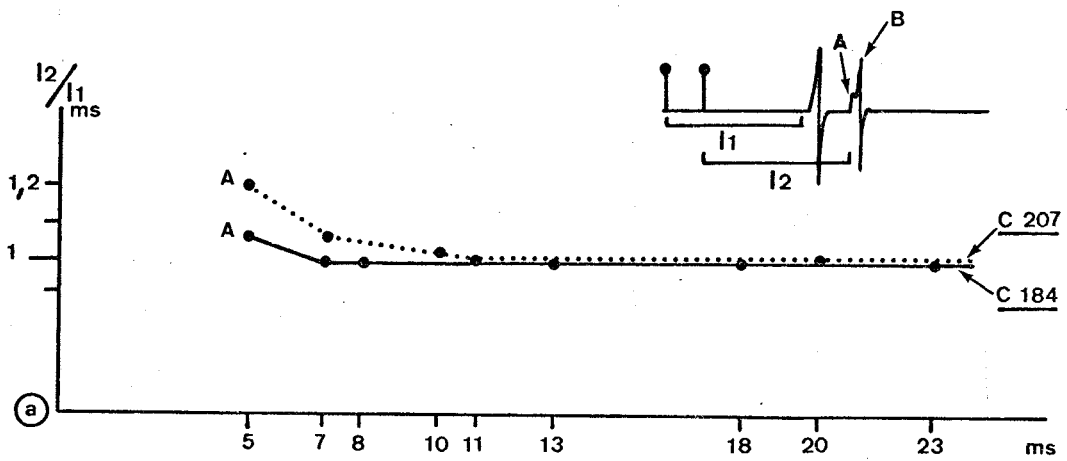
- en inscrivant en abscisse la valeur de l'intervalle entre les deux chocs .

La diminution de l'amplitude du potentiel d'action (spike B) évoqué par le choc test est représentée par le diagramme c :

- axe des ordonnées : amplitude du potentiel d'action (en mV)
- axe des abscisses : intervalle entre les deux chocs .

Les diagrammes b et c illustrent les propriétés de la réponse au choc test pour différentes valeurs de l'intervalle entre les chocs : diminution de la taille du spike B (à partir de 28 ms), séparation des spikes A et B (à partir de 23 ms), augmentation de la valeur de  $l_2$  (à partir de 7 ms) .

Cellules 184 et 207 : voir la figure 17, a et b .



augmentation  
valeur de  $I_2$

augmentation délai A-B

diminution taille B



S'ajoute la possibilité de réduire la valeur de  $r$  en ajustant l'intensité soit des deux chocs, soit du choc test seulement.

Pour les 12 neurones qui servent à illustrer ce paragraphe, ces différentes propriétés sont résumées dans le Tableau 2.

#### 4) Stimulation à haute fréquence

Les neurones excités antidromiquement répondent à chaque choc d'un train d'impulsions, avec la limitation de la période réfractaire absolue. Lorsque la fréquence du train d'impulsions atteint une valeur critique, la période réfractaire relative conduit à la :

- réduction progressive de la taille des potentiels d'action
- dissociation de ces potentiels en spikes A et B, qui s'accompagne de la perte du spike B et de l'augmentation progressive de la latence de la réponse.

Ces particularités sont illustrées par les exemples des figures 17, d et e, présentant le comportement de 2 neurones soumis à des trains d'impulsions de fréquence égale à 84 et 167 Hz respectivement. On note dans le second exemple une augmentation d'environ 30 % de la valeur de la latence pour la réponse au troisième choc de la salve par rapport à la valeur obtenue au cours de l'application d'un choc unique.

#### 5) Propriétés particulières des réponses

Occasionnellement, l'application d'un choc stimulant unique peut provoquer l'apparition d'une double réponse constituée de deux potentiels d'action successifs.

- lorsque ces deux potentiels sont d'amplitude différente et présentent une latence parfaitement fixe, on peut supposer qu'ils proviennent de deux neurones voisins, présentant la même projection mais possédant des vitesses de conduction différentes (Fig. 17, g ; Fig. 40).

- lorsque ces deux potentiels sont d'amplitude identique et que le second, contrairement au premier, présente une latence variable, on peut supposer que la première réponse indique l'excitation antidromique du neurone tandis que la seconde traduit l'excitation transsynaptique du même élément (Fig. 17, h).

TABLEAU N° 2 . Propriétés des neurones excités antidromiquement .

Ce tableau résume les propriétés (latence, période réfractaire r, réponse au choc test) de 12 neurones soumis à la stimulation par double choc et dont le comportement est illustré par les figures :

- : 15, g, h et i ;
- : 16, a, b, c, d, e et f ;
- : 17, a, b et c .

Réponse au choc TEST

spike B

cellule N°	latence (ms)	r (ms)	r réductible	diminution taille	latence variable	délai A-B* (ms)	augmentation** latence (ms)
38	11	4		OUI	NON	NON	2
41	6	8		OUI	OUI	NON	NON
49	5	14		OUI	NON	NON	NON
60	11	5	5 → 2	OUI	NON	21	NON
68	0,2mA --- 19		4				
	2 mA --- 11		1,5	OUI	NON	NON	3
79	12	4		OUI	OUI	14	NON
86	11	5		NON	OUI	OUI	1,5
117	1 mA --- 12		8,5				
	1,5mA --- 12		6	OUI	OUI	NON	1,5
119	14	4		OUI	NON	9,5	4
184	9,5	5		OUI	NON	23	0,5
203	6	3	OUI	OUI	OUI	NON	2
207	9	5		OUI	OUI	10	2

\* valeur de l'intervalle entre les deux chocs  
 \*\* valeur de l'augmentation de la latence



## 6) Collision

Dans le cas où le neurone présente une forte activité spontanée, sa réponse antidromique est annulée lorsque le choc stimulant est appliqué juste avant ou après la naissance d'un potentiel d'action spontané (Fig. 17, f). Ce phénomène d'occlusion résulte de la collision dans l'axone de l'influx déclenché par le choc stimulant et du potentiel d'action se propageant en sens inverse. Au moment de la collision, les potentiels parcourant l'axone s'annulent respectivement.

### a) Définition de l'intervalle de collision

L'intervalle de collision est le délai le plus long entre le moment de l'apparition d'un potentiel d'action spontané et celui de l'application d'un choc stimulant pour que la collision puisse se produire dans l'axone. Lorsqu'il est dépassé, la réponse antidromique réapparaît. Sa valeur est théoriquement égale à la somme de la période réfractaire absolue du neurone et du temps mis par le potentiel d'action spontané pour parcourir l'axone sur toute sa longueur. Au cours de l'application du test de la collision :

- la période réfractaire absolue du neurone est estimée en mesurant la valeur de  $r$ ,

- le temps mis par l'influx orthodromique pour parcourir l'axone est considéré comme étant égal à la latence d'excitation antidromique  $l$

- l'intervalle de collision est mesuré grâce à un choc stimulant dont l'application est déclenchée par un potentiel d'action spontané, avec un délai progressivement croissant. La valeur  $c$  est notée lorsque ce choc est suivi d'une réponse antidromique, donc lorsque l'intervalle de collision est juste dépassé (Fig. 19, c).

Une variante couramment pratiquée pour évaluer la valeur de l'intervalle de collision consiste à provoquer le déclenchement de deux chocs successifs par le potentiel d'action spontané. Appliqué immédiatement après la naissance de ce dernier, le premier choc permet de démontrer la collision et l'annulation de la réponse antidromique, tandis que le second, s'en écartant progressivement, permet de mesurer la valeur de  $c$  lorsque la réponse réapparaît (Fig. 15, i ; 16, a ; 19, d, e et f) .

FIGURE 19 . Excitations antidromiques (test de la collision) et orthodromiques .

a,b et c . Application du test de la collision à la cellule 67 .

a : cette cellule est située dans le noyau préoptique périventriculaire (pp) comme le révèle le dépôt de Bleu-Alcian (cercle) ; 3V : 3ème ventricule .

b : elle est excitée par la stimulation de l'éminence médiane (em) : flèche ; noyau arqué : a .

c : test de la collision . Mesure de r par un double choc (r = 5 ms) .

Mesure de l'intervalle de collision (c) : c est mesuré entre le moment de l'apparition d'un potentiel d'action spontané (astérisque) et le moment de l'application d'un choc stimulant produisant une réponse . c est donc mesuré lorsque l'intervalle de collision est juste dépassé (c = 22 ms) .

d,e et f . Application du test de la collision.

- tracés du haut: mesure de r par un double choc

- tracés du bas : mesure de c : le premier choc, appliqué juste après la naissance d'un potentiel d'action spontané (astérisque) ne permet pas l'obtention d'une réponse (collision) ; le second, au contraire, appliqué lorsque l'intervalle de collision est dépassé, est suivi d'une réponse .

g . Excitation orthodromique . La latence de la réponse est variable (tracés superposés du bas) .

h . Deux potentiels d'action orthodromiques succèdent à l'application d'un choc unique ; leur latence varie entre 20 et 32 ms (tracés superposés) .

i . Deux potentiels d'action orthodromiques évoqués par un choc unique : la gamme de variation de la latence du premier est de 2 ms, celle du second de 11 ms (tracés superposés) .

j . Excitation orthodromique : noter la gamme étendue de variation de la latence (tracés superposés) .

k . L'augmentation de l'intensité de la stimulation transforme la réponse unique (tracé du haut) en un train de potentiels d'action apparaissant avec une latence plus faible (tracé du bas) .

l . L'augmentation progressive de l'intensité de la stimulation permet le recrutement de potentiels d'action de plus en plus nombreux .

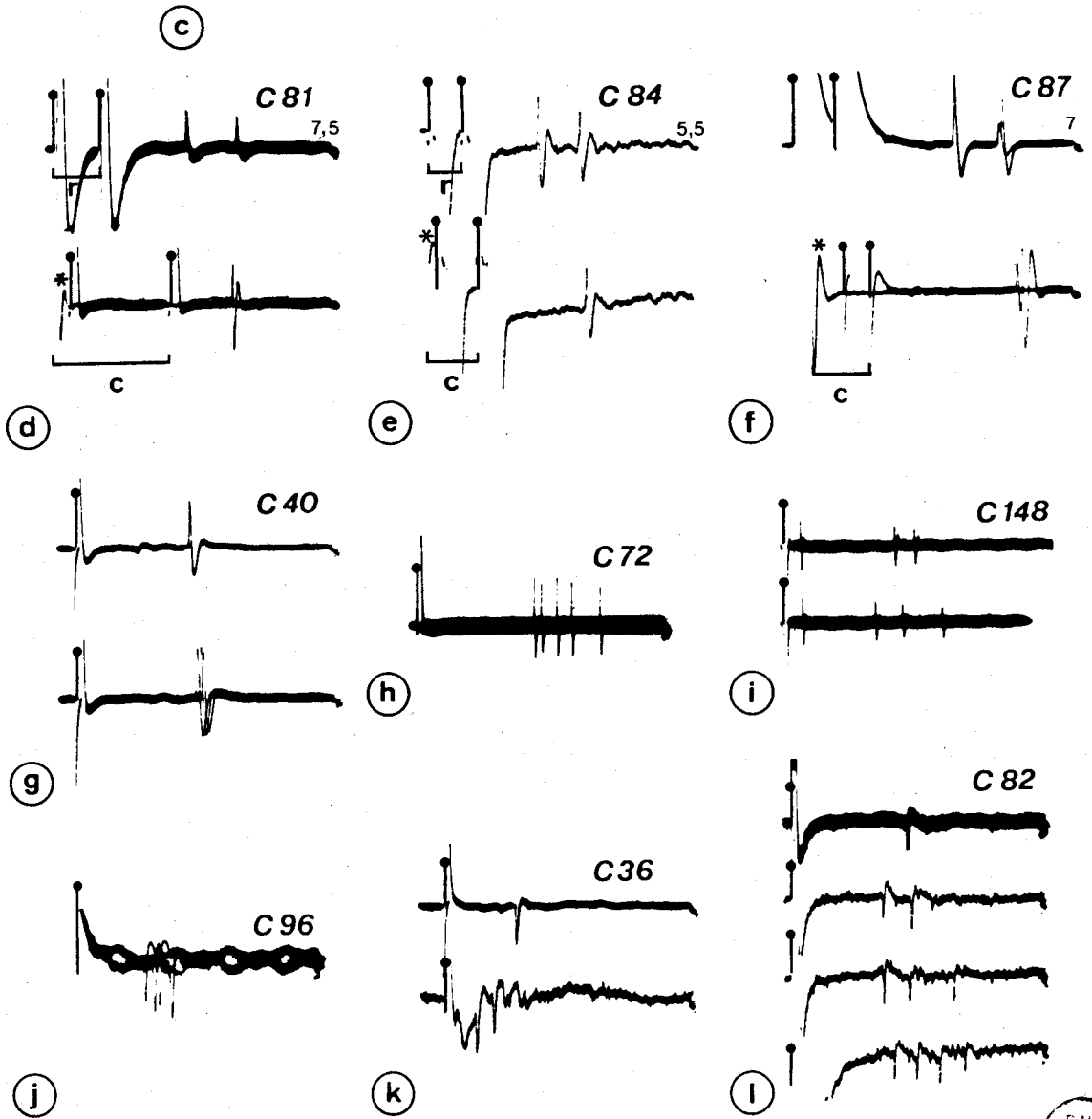
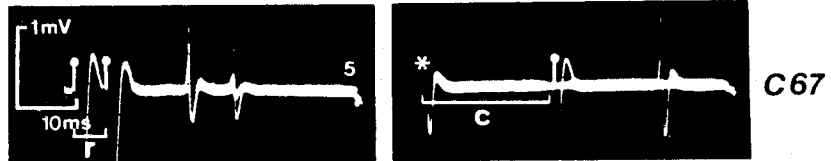
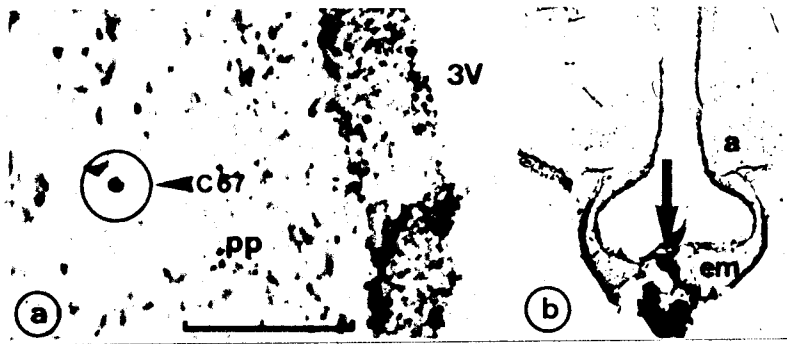
Calibration en c .

↑ : artéfact de stimulation .

Les chiffres à l'extrémité droite des tracés indiquent la valeur de l'intervalle entre les chocs .

Barre horizontale en a : 110 $\mu$  pour a ; 1800 $\mu$  pour b .





b) Résultats de l'application du test de la collision

L'examen des résultats obtenus lors de l'application du test de la collision amène les deux constatations suivantes :

- une différence existe généralement entre la somme  $r + 1$  et la valeur de  $c$ .

- lorsqu'elle existe,  $c$  est toujours inférieur à  $r + 1$ .

Cette différence s'exprime par :

$$E_c = (r + 1) - c$$

ou par :

$$\frac{(r + 1) - c}{r + 1} \quad \text{soit} \quad \frac{E_c}{r + 1}$$

Dans le tableau 3 sont reportés les résultats obtenus pour 10 neurones; l'erreur  $E_c$  et le rapport  $\frac{E_c}{r + 1}$  sont calculés pour chacun d'entr'eux.

Figure	Cellule N°	l	r	c	$E_c$	$\frac{E_c}{r+1}$	
15 i .....	60*	11	2	13	0	0	GROUPE I
19 c .....	67	18,5	5	22	1,5	0,06	
40 .....	93	13,5	8	19,5	2	0,09	
16 a .....	68*	11	1,5	11	1,5	0,12	
19 d .....	81	23	7,5	20,5	10	0,32	
--	61	17,5	?	25	?	0,50	
--	58	17	3	9	11	0,55	GROUPE II
19 e .....	84	19	5,5	10	14,5	0,59	
39 a .....	92	17	4,5	7	14,5	0,67	
19 f .....	87	30	2,5	10	22,5	0,69	

\* mesures effectuées pour les plus fortes valeurs de stimulation

TABLEAU 3 : Résultats de l'application du test de collision pour 10 neurones de la région septopréoptique soumis à une stimulation de la région infundibulaire. La localisation des 9 premiers neurones est indiquée dans les figures 25, a, b, c et d.

La figure 20 représentée de manière graphique l'erreur  $E_c$  pour 5 neurones. Le caractère antidromique de l'excitation est incontestablement prouvé lorsque l'application du test de la collision conduit à des valeurs du

rapport  $\frac{Ec}{r + 1}$  inférieures ou égales à 0,5 (Groupe I dans le tableau 3).

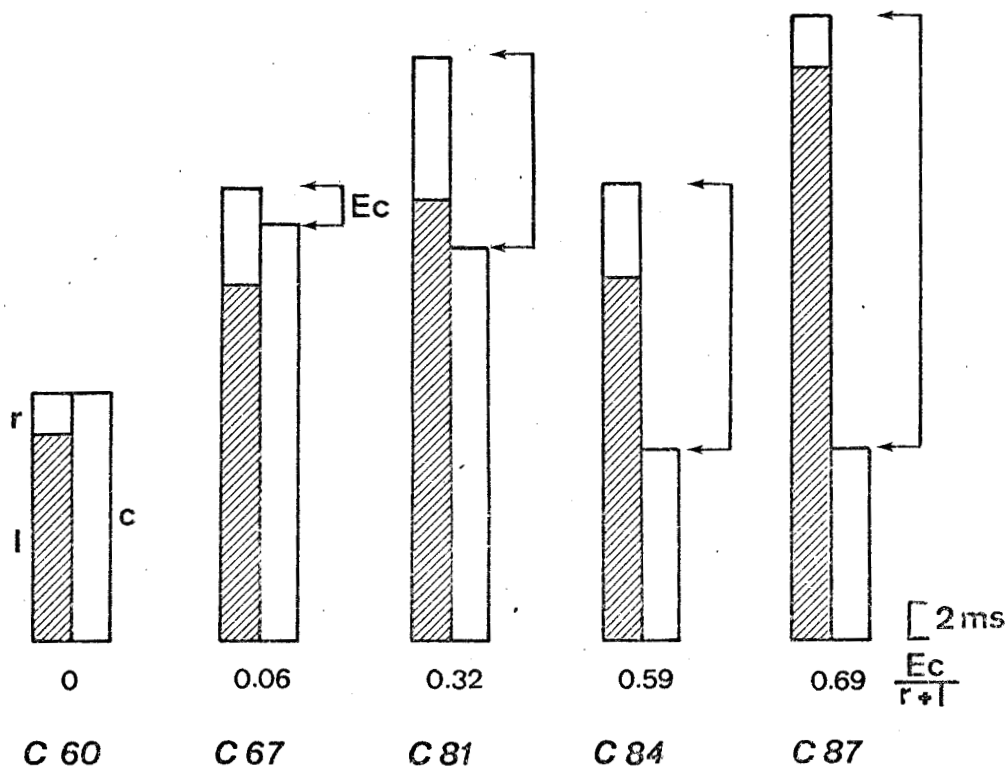


FIGURE 20 : Représentation graphique de l'erreur  $E_c$  obtenue lors de l'application du test de la collision.

L'erreur  $E_c$  existant entre les valeurs théoriques  $(r + 1)$  et mesurée  $(c)$  de l'intervalle de collision, ainsi que le rapport  $\frac{Ec}{r + 1}$  sont représentés pour 5 cellules.

#### DISCUSSION

L'examen des réponses recueillies auprès de 42 % des neurones de la région septopréoptique excités par la stimulation de la région infundibulaire met en évidence certaines propriétés qui sont dues au caractère antidromique de l'excitation.

##### 1) Latence d'excitation

Les deux premières propriétés de la réponse antidromique sont :

la fixité de la latence du potentiel d'action évoqué par la stimulation et la constance de cette latence lors des variations de l'intensité de la stimulation. Dans quelques cas, il est cependant noté une diminution brutale de la valeur de la latence faisant suite à une augmentation de l'intensité du choc stimulant. Ce phénomène est explicable en invoquant la possibilité d'atteindre, avec des intensités de stimulation supérieures, des segments proximaux de l'axone ayant une vitesse de conduction plus importante. Il est prouvé que dans le système neurosécréteur du poisson (BENNETT et FOX, 1974), l'extrémité de l'axone a une vitesse de conduction progressivement réduite au niveau de l'organe neurohémal. Toutefois nous observons un ajustement brusque de la valeur de la latence et non graduel, comme cela est noté dans le cas des éléments neurosécréteurs magnocellulaires chez le rat (BARKER et Coll., 1971 b). Nous supposons plutôt que l'axone présente dans la région stimulée un très grand nombre de ramifications ou de collatérales possédant des seuils d'activation différents, ou qu'il y pénètre à différents niveaux au cours d'un trajet tortueux (CROSS, 1974 ; RENAUD et Coll., 1978). La diversité des latences recueillies au cours de notre étude implique des vitesses de conduction très différentes pour des neurones voisins. Cette remarque rejoint celle formulée par BRAYER et SONNENSCHNEIN (1975) concernant la grande variabilité des diamètres axonaux mesurés dans l'hypothalamus médio-basal. La valeur moyenne des latences mesurées au cours de plusieurs séries d'expériences indique une vitesse de conduction voisine de 0,25 mètre par seconde (m/s). Cette vitesse caractérise la conduction dans les fibres non myélinisées ; elle est comparable à celles obtenues chez diverses espèces dans le système magnocellulaire neurohypophysaire et comprises entre 0,3 et 1,3 m/s (DYBALL et KOIZUMI, 1969 ; SUNDSTEN et Coll., 1970 ; YAMASHITA et Coll., 1970 ; NEGORO et HOLLAND, 1972), à celles des neurones tubéro-infundibulaires du rat, toujours inférieures à 1 m/s (YAGI et SAWAKI, 1970 b ; MAKARA et Coll., 1972 ; RENAUD, 1976b) et à celles recueillies chez le rat par DYER (1973) et MOSS (1976) au niveau de neurones préoptiques excités antidromiquement à partir de l'hypothalamus médio-basal, évaluées respectivement à 0,32 et 0,25 m/s.

## 2) Spikes A et B

L'apparition des spikes A et B au cours de la génèse du potentiel d'action antidromique s'explique par la diminution du "facteur de sécurité" due à la géométrie particulière des surfaces membranaires que rencontre l'influx axonal atteignant le corps cellulaire. Le spike A (ou IS = "initial segment") prend naissance dans le segment initial du neurone, alors que l'excitabilité du reste du corps cellulaire n'est pas modifiée sensiblement ; le spike B (ou SD : "somato-dendritic") caractérise la dépolarisation de l'ensemble somato-dendritique (ECCLES, 1957 ; FUORTES et Coll., 1957 ; ARAKAI et TERZUOLO, 1962).

Le délai existant entre les spikes A et B n'est jamais aussi marqué dans le cas de l'excitation transsynaptique d'une cellule non endommagée (BISHOP et Coll., 1962, a, b et c). Ce délai atteint ici plusieurs millisecondes. Des observations semblables sont réalisées lors de l'excitation antidromique des éléments magnocellulaires   destinée post-hypophysaire (KANDEL, 1964 ; YAMASHITA et Coll., 1970 ; SUNDSTEN et Coll., 1970 ; NOVIN et Coll., 1970 ; BARKER et Coll., 1971 a ; DREIFUSS et KELLY, 1972, a et b ; NEGORO et HOLLAND, 1972 ; NOVIN et DURHAM, 1973 ; HAYWARD, 1974). Le délai entre les spikes A et B atteint parfois dans ce système 10 ms ou plus (KOIZUMI et YAMASHITA, 1972 ; ISHIKAWA et KOIZUMI, 1975) ce qui est considéré par certains (YAGI et IWASAKI, 1977), comme étant une propriété caractéristique des cellules neurosécrétrices, due à l'accumulation de grains de sécrétion dans le cône d'émergence (KOIZUMI et YAMASHITA, 1972) ou à une hyperpolarisation réalisée par un système de collatérales axoniques récurrentes (DREIFUSS et KELLY, 1972, a). Selon cette dernière hypothèse, l'activation par le choc stimulant de collatérales récurrentes peut faire décroître le "facteur de sécurité" jusqu'à une valeur proche de l'unité, ce qui augmente le délai apparition du spike B (HAYWARD, 1974). Des observations similaires sont réalisées également dans le système tubéro-infundibulaire (SAWAKI et YAGI, 1973 ; KAWAKAMI et SAKUMA, 1974 ; SAWAKI et YAGI, 1976 ; RENAUD, 1976, a) et dans le système préoptico-tubéral (DYER, 1973 ; KAWAKAMI et SAKUMA, 1974, 1976). Dans ces systèmes, le phénomène de dissociation se manifeste toutefois avec beaucoup moins d'ampleur que dans le système neurosécréteur magnocellulaire. En résumé, la décomposition du potentiel d'action en ses deux composants est une propriété commune à la plupart des neurones excités par la voie antidro-

mique, ce phénomène étant plus accentué, semble-t-il dans le cas de cellules neurosécrétrices. Lorsqu'il est observé, il permet d'affirmer que le potentiel d'action est bien recueilli à proximité d'un corps cellulaire et constitue un autre argument en faveur du caractère antidromique de l'excitation produite.

### 3) Stimulation par double choc, réponses à haute fréquence

La différence d'excitabilité existant entre le cône d'émergence et l'ensemble somato-dendritique se traduit par la disparition occasionnelle du spike B lors de l'application d'un choc unique. Elle rend celui-ci particulièrement vulnérable aux conditions expérimentales auxquelles le neurone est soumis. Elle se traduit lors de l'utilisation d'une stimulation répétitive (double choc ou salve) par un comportement indépendant des deux composants de la réponse antidromique. Lorsque l'intervalle entre les chocs décroît, la latence du spike B devient fluctuante, augmente (ce qui accentue la dissociation du potentiel d'action), son amplitude diminue (il ne répond pas en tout-ou-rien). Cette dernière constatation prouve que l'excitabilité réapparaît beaucoup plus lentement pour la membrane somato-dendritique et que son invasion antidromique se traduit par une réponse graduable (COOMBS et Coll., 1957). L'apparition de ces différents phénomènes reflète la période réfractaire relative de la membrane somato-dendritique (RENAUD, 1976, b).

### 4) Latence et seuil de la réponse au choc test

La technique du double choc permet de définir un critère supplémentaire de l'excitation antidromique en prouvant l'absence de facilitation (ECCLES, 1964) qui interviendrait s'il existait des synapses excitatrices interposées entre les sites de stimulation et d'enregistrement. L'analyse des réponses à la stimulation par double choc démontre en effet que lorsque l'intervalle entre les deux chocs se rapproche très près de la valeur de  $r$ , une augmentation subite de la latence de la réponse au choc test devient apparente. Des observations semblables sont rapportées à propos des neurones tubéro-infundibulaires chez le rat (SAWAKI et YAGI, 1973 ; RENAUD, 1976, a). Lorsque le choc test tombe pendant la période réfractaire absolue consécutive à la naissance du premier potentiel d'action, il est possible de res-

taurer la seconde réponse soit par une augmentation simultanée de l'intensité des deux stimulus ( $r$  est donc réductible) soit par l'augmentation de l'intensité du choc test. Cette propriété est également notée dans le cas des neurones tubéro-infundibulaires chez le rat (YAGI et Coll., 1971 ; SAWAKI et YAGI, 1973 ; RENAUD, 1976, b et c). En rapprochant ces deux observations: augmentation de la latence et du seuil de la réponse à un choc test succédant à un choc conditionnant avec un délai proche de la valeur de  $r$ , on obtient une preuve indiscutable de l'excitation antidromique (YAGI et IWASAKI, 1977) étant entendu que s'il existait une synapse interposée (et une facilitation temporelle à ce niveau) la latence serait plus courte et le seuil plus bas pour la réponse au choc test que pour la réponse au choc conditionnant.

#### 5) Collision

L'application du test de la collision permet théoriquement d'affirmer de manière définitive le caractère de l'excitation recueillie. Elle demande de grandes précautions dans l'évaluation des paramètres  $r$ ,  $l$  et  $c$  car des anomalies apparaissent au moment de la vérification de l'équation  $c = r + l$ . L'erreur  $E_c$  peut s'expliquer par l'inexactitude de l'évaluation des valeurs de la période réfractaire absolue et du temps mis par le potentiel d'action orthodromique pour parcourir l'axone. Ces valeurs sont notées au cours de la propagation rétrograde de l'influx et sont surestimées. La mesure de la période réfractaire absolue s'effectue dans le cas de deux potentiels d'action qui se suivent, le second traversant un axone qui n'a pas totalement retrouvé son état de repos. La durée  $r$  est de plus par définition supérieure à celle de la période réfractaire absolue. La durée  $l$  est également plus importante que le temps réel mis par le potentiel pour parcourir l'axone. La latence mesurée inclut le temps nécessaire à la portion d'axone stimulé pour transformer la perturbation initiale en un potentiel propagé (TASAKI, 1949). De ces mesures indirectes peuvent résulter les erreurs  $E_c$  obtenues pour les neurones du groupe I (Tableau 3,  $\frac{E_c}{r + l} < 0,5$ ). Pour les autres neurones (groupe II) l'erreur est trop élevée ( $\frac{E_c}{r + l} > 0,5$ ) pour qu'il soit possible de déterminer avec exactitude la nature de l'excitation. Par convention, l'excitation antidromique n'est prouvée que lorsque l'application du test de la collision conduit à des valeurs de  $\frac{E_c}{r + l}$

inférieures ou égales à 0,5 (FULLER et SCHLAG, 1976).

En conclusion, les propriétés des excitations résumées ci-dessous plaident en faveur d'une relation asynaptique entre le corps cellulaire où est observée la réponse et la portion d'axone stimulé :

- latence fixe du potentiel d'action unique, pour une intensité de stimulation donnée
- fractionnement fréquent du potentiel d'action en ses deux composants
- variation de la taille et de la latence du composant tardif de la réponse au second choc dans le cas de l'application d'une paire de stimulus
- période réfractaire absolue réductible
- latence et seuil plus élevés de la réponse au second choc lorsque celui-ci est séparé du premier par un intervalle égal à une valeur proche de celle de  $r$
- réponse à haute fréquence.

Ces propriétés, lorsqu'elles sont prises individuellement, ne peuvent toutefois mener à une conclusion indubitable sur le mode d'excitation réel du neurone. Seul le test de la collision permet d'y aboutir, avec les réserves dues aux difficultés rencontrées occasionnellement dans son interprétation.

#### B. PROPRIETES DES REponses DE NATURE TRANSSYNAPTIQUE OBTENUES DANS L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE AU COURS DE LA STIMULATION DE LA REGION INFUNDIBULAIRE

Au cours de la stimulation apparaissent des réponses ne présentant pas les caractéristiques de l'excitation antidromique. Ces réponses transsynaptiques, de plusieurs types, sont obtenues avec des intensités de stimulation semblables à celles utilisées pour l'identification antidromique. Elles sont détaillées et discutées.

#### RESULTATS

9,8 % des éléments constituant la population totale des neurones dont l'activité est enregistrée (821) répondent à la stimulation par une excitation brève (8,6 %) ou une augmentation de longue durée de leur fréquence



de décharge (1,2 %). D'autres, actifs spontanément, réagissent par une diminution de leur excitabilité (14,2 %). Une période d'inhibition de l'activité spontanée succède parfois à une réponse excitatrice initiale, qu'elle soit de nature antidromique ou orthodromique.

### 1) Excitations orthodromiques

Des excitations brèves et des activations de longue durée sont observées lors de l'application d'un choc unique ou d'une salve.

#### a) Excitation brève

Les caractéristiques des excitations brèves sont les suivantes :

- le choc stimulant déclenche l'apparition d'un potentiel d'action survenant avec une latence variable comprise entre 2 et 40 ms. L'examen de tracés superposés révèle que l'étendue de la gamme dans laquelle la latence varie se situe entre 1,5 et 5 ms (Fig. 19, g et j). Le potentiel d'action n'est jamais scindé en ses deux composants ou spikes A et B.

- avec des intensités de stimulation largement supraliminaire, deux potentiels d'action de latence proche apparaissent fréquemment en réponse à un choc unique, la double réponse n'étant pas observée à tous les coups. L'examen de tracés superposés révèle que l'étendue de la gamme dans laquelle la latence des deux potentiels d'action varie est très étendue (12 ms dans l'exemple de la figure 19, h). Un choc unique fait naître occasionnellement deux réponses de latence très différente, la gamme de variation de la latence de chaque réponse étant elle-même différente. Dans l'exemple de la figure 19, i, le premier potentiel d'action apparaît avec une latence comprise entre 2,8 et 4 ms, le second avec une latence comprise entre 16 et 27 ms.

- il est parfois possible de recruter les potentiels d'action sous la forme d'une salve dont le nombre d'éléments croît au fur et à mesure de l'augmentation de l'intensité de stimulation (Fig. 19, l). L'apparition d'un barrage de potentiels d'actions lors de l'ajustement de l'intensité de stimulation à une valeur largement supraliminaire (Fig. 19, k) s'accompagne d'une réduction sensible de la latence initiale.

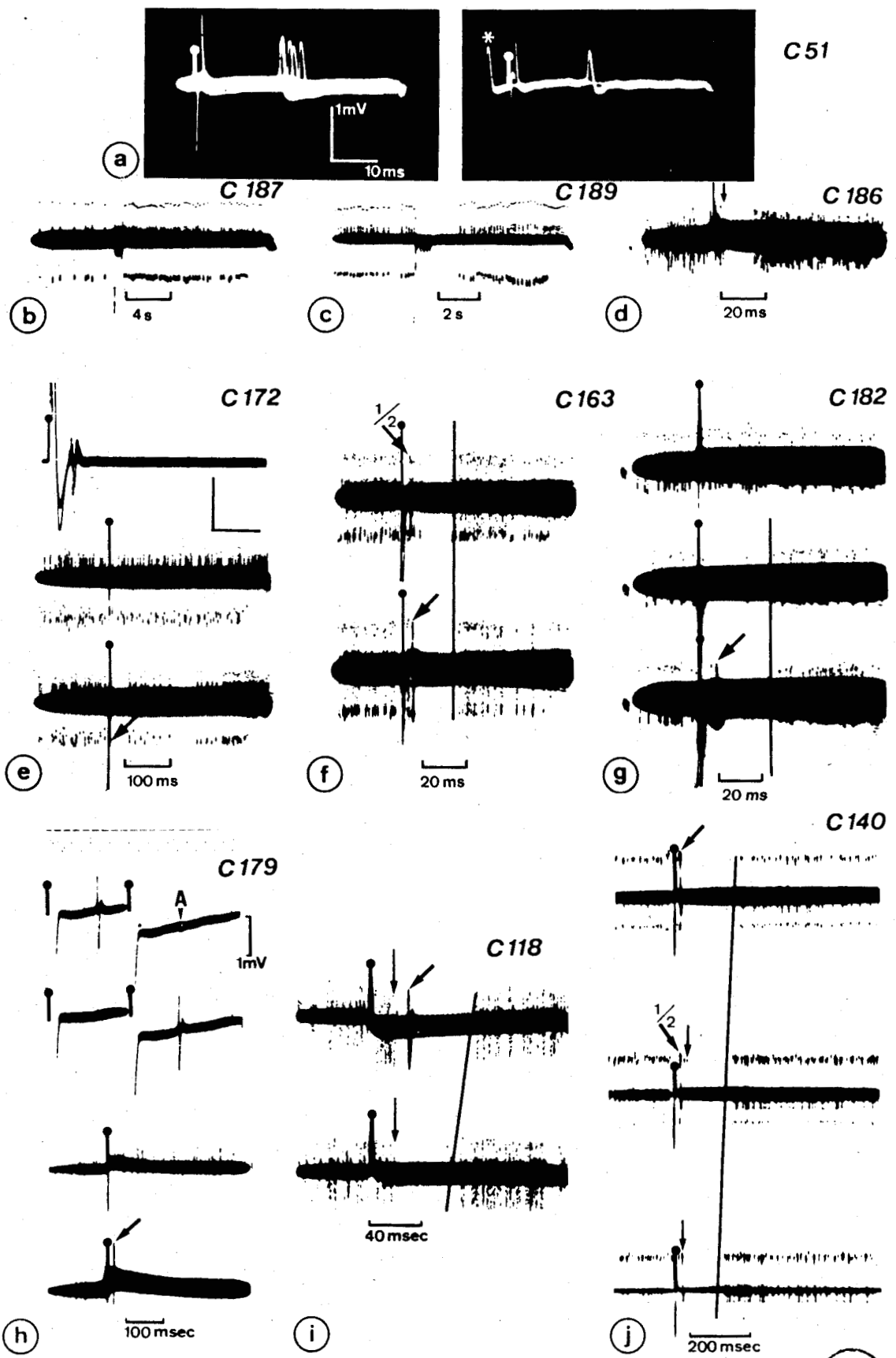
- l'application du test de la collision ne provoque jamais l'annulation de la réponse évoquée par la stimulation, (Fig. 21, a).

FIGURE 21 . Excitation et inhibition orthodromiques .  
Inhibition de l'activité spontanée de neurones excités  
antidromiquement .

- a . Application du test de la collision à un neurone excité orthodromiquement (latence variable de la réponse : tracés superposés à gauche) : pas d'annulation de la réponse lorsque le choc est appliqué après la naissance d'un potentiel d'action spontané (astérisque) .
- b . Augmentation de longue durée de l'excitabilité après une salve .
- c . Inhibition complète de longue durée de l'activité spontanée après une salve .
- d . Inhibition complète de l'activité spontanée après un choc. Noter la latence de la pause (flèche) . 80 balayages superposés .
- e . Inhibition complète de l'activité spontanée dépendante de l'obtention préalable d'une réponse antidromique . La cellule 172 est excitée antidromiquement (tracés superposés du haut ; calibration : 10 ms, 1 mV) : en dessous du seuil pour l'apparition de la réponse antidromique, la stimulation n'altère pas son excitabilité (tracé du milieu) ; au seuil, la réponse antidromique apparaît (flèche oblique) accompagnée d'une période d'inhibition incomplète de l'activité spontanée (tracés du bas : 80 balayages superposés) .
- f . Inhibition complète de l'activité spontanée : la pause conserve la même durée lorsque la réponse antidromique apparaît à chaque fois ou une fois sur deux (flèches obliques) . 80 balayages superposés .
- g . Inhibition complète de l'activité spontanée : la pause conserve la même durée lorsque la réponse antidromique apparaît à chaque fois (flèche oblique) ou n'apparaît pas (tracé du milieu) . En haut, l'inversion de la polarité de la stimulation ne permet plus d'observer ni la réponse antidromique ni le phénomène suppressif (100 balayages superposés) .
- h . Inhibition complète de l'activité spontanée dépendante de l'obtention préalable d'une réponse antidromique . La période réfractaire du spike B est anormalement élevée (2 tracés du haut ; échelle en ms) . Le potentiel d'action antidromique (flèche oblique dans le tracé du bas ; 80 superpositions) est suivi d'une longue période d'inhibition de l'activité spontanée .
- i . Inhibition complète de l'activité spontanée . La pause subsiste lorsque le potentiel d'action antidromique (flèche oblique) n'apparaît pas, sa durée est proportionnelle à l'intensité du choc stimulant, sa latence (flèche verticale) est inférieure à celle de la réponse antidromique . 50 balayages superposés .
- j . Autre exemple : la pause subsiste lorsque le potentiel d'action antidromique (flèche oblique) apparaît une fois sur deux, ou n'apparaît pas, sa durée est proportionnelle à l'intensité du choc stimulant, sa latence (flèche verticale) est supérieure à celle de la réponse antidromique . 80 balayages superposés .

Modulation d'intensité pour les tracés superposés .

↑ : artéfact de stimulation .



### b) Activation de longue durée

En réponse à une salve de chocs stimulants (100 Hz, 1 s), certains neurones manifestent une excitation de longue durée, comprise entre 1,5 et 20 s (Fig. 21, b). Cette activation, qui débute aussitôt après l'application de la salve, caractérise les neurones présentant une forte activité spontanée.

### 2) Inhibition initiale de la fréquence de décharge

L'application d'un choc stimulant ou d'une salve de chocs stimulants détermine une période d'arrêt (ou pause) de l'activité spontanée. Lorsque celle-ci est faible, la période d'inhibition est visualisée par la superposition d'une centaine de balayages comportant chacun un choc unique délivré de telle sorte que l'ensemble de ces chocs soient parfaitement confondus. Lorsqu'elle est suffisamment élevée, une salve de chocs stimulants (100 Hz, 1 s) est utilisée. La durée de la pause est comprise entre 10 et 150 ms après un choc et entre 1 et 6 s après une salve. Sa latence est comprise entre 6 et 15 ms après un choc (Fig. 21, d) ; elle n'est pas mesurée dans le cas d'une salve, le phénomène suppressif débutant au cours de la séquence de stimulation (Fig. 21, c).

### 3) Inhibition succédant à une excitation antidromique

En réponse à l'application d'un choc stimulant, une période d'inhibition de l'activité spontanée, d'une durée comprise entre 20 et 40 ms, est notée chez certains neurones pour lesquels l'invasion antidromique à partir du même site de stimulation est préalablement démontrée. Cette pause est soit liée à l'apparition du potentiel d'action antidromique, soit indépendante de celle-ci. La proportion d'obtention de ce phénomène ne peut être chiffrée étant donné que les neurones excités de manière antidromique sont souvent silencieux ou présentent une activité spontanée si faible que la séquence suppressive ne peut être mise en évidence. Les observations réalisées sur 18 neurones excités de manière antidromique sont décrites.

### a) Inhibition dépendante de l'apparition du potentiel d'action antidromique

Ce type d'inhibition est observé pour 4 neurones. Un stimulus d'intensité inférieure au seuil nécessaire pour faire naître une réponse anti-

dromique ne provoque aucune altération de l'activité spontanée du neurone préalablement identifié (Fig. 21, e et h). Lorsque l'intensité de la stimulation est portée à une valeur suffisante pour faire naître le potentiel d'action antidromique, une pause intervient avec une latence identique à celle de la réponse antidromique. La période d'inhibition de l'activité spontanée est complète (Fig. 21, h) ou incomplète (Fig. 21, e) ; dans ce dernier cas, des potentiels d'action apparaissent au cours de la période d'inhibition, au hasard ou selon un rythme déterminant un type d'activité multiphasique. Dans le cas de la cellule 179 (Fig. 21, h) l'application d'un choc conditionnant d'intensité supraliminaire provoque l'inhibition du spike B de la réponse à un choc test de même intensité, pendant une période anormalement longue évaluée ici à 249 ms. L'inhibition du spike B de la seconde réponse n'est plus observée si l'intensité du choc conditionnant est portée à une valeur subliminaire.

b) Inhibition indépendante de l'apparition du potentiel d'action antidromique

Pour 14 neurones, la période de pause subsiste lorsque l'intensité du choc stimulant est réduite à une valeur inférieure à celle du seuil nécessaire pour provoquer l'apparition du potentiel d'action antidromique. Cette particularité permet de détailler les caractéristiques de la durée et de la latence du phénomène suppressif.

a) Durée de la pause

Dans deux cas (Fig. 21, f et g), lorsque l'intensité de la stimulation est progressivement réduite jusqu'à ce que la réponse antidromique n'apparaisse qu'une fois sur deux (cellule 163) ou soit totalement éliminée (cellule 182), la période d'inhibition conserve la même durée.

Dans les autres cas, la durée de la pause est proportionnelle à l'intensité de la stimulation. Lorsque cette intensité est progressivement réduite, la durée de la période d'inhibition décroît à chaque palier mais n'est pas éliminée lorsque le potentiel d'action antidromique apparaît une fois sur deux, (Fig. 21, j) ou n'apparaît plus (Fig. 21, i). Dans tous les cas la période d'inhibition est complète.

Reprenons l'examen du comportement de la cellule 182 (Fig. 21, g) soumise à une stimulation par une électrode coaxiale. L'application du choc stimulant

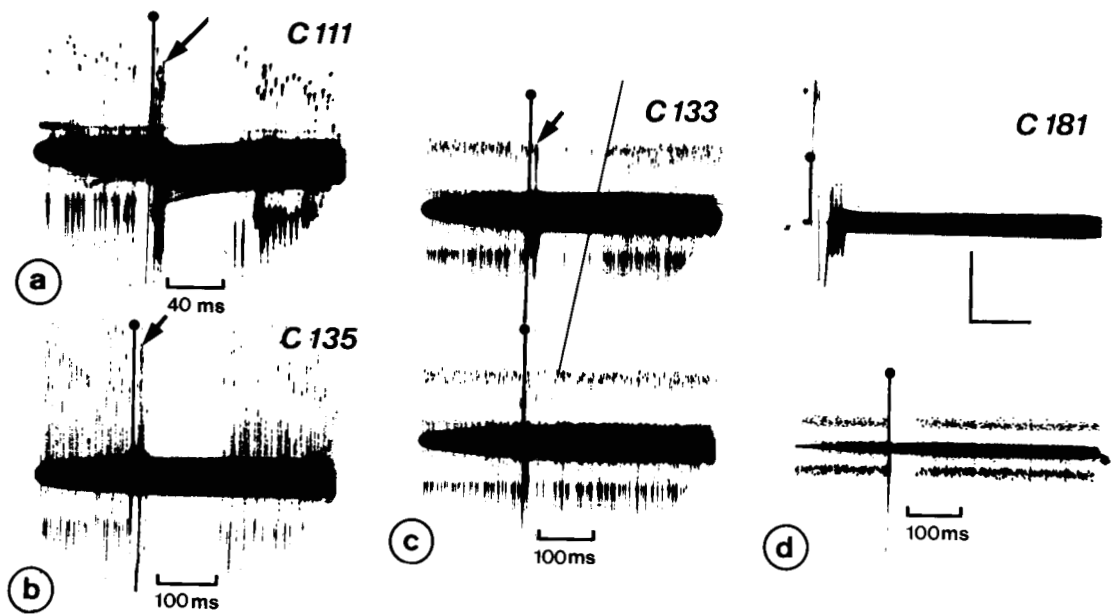


FIGURE 22 . Inhibition de l'activité spontanée de neurones excités orthodromiquement .

- a . Inhibition complète de l'activité spontanée succédant à une réponse orthodromique (flèche) .
- b . Autre exemple : la durée de la pause est plus importante qu'en a .
- c . La pause (incomplète) subsiste lorsque la réponse orthodromique (flèche dans le tracé du haut) n'apparaît pas . Sa durée dépend de l'intensité du choc stimulant .
- d . Inhibition complète de l'activité spontanée obtenue lorsque la réponse orthodromique (tracé du haut : calibration : 1 mV, 10 ms) n'apparaît pas .

60 à 80 tracés superposés (modulateur d'intensité) sauf pour le tracé du haut en d .

↑ : artéfact de stimulation .

à diverses intensités est tout d'abord inefficace. Lorsque la polarité de la stimulation est inversée, l'inhibition de l'activité spontanée est obtenue et se manifeste pendant 35 ms. A une intensité de stimulation légèrement supérieure, le seuil pour l'invasion antidromique du neurone est atteint et un potentiel d'action (de latence égale à 8 ms) se greffe dans la phase d'inhibition. Cette observation met en valeur la grande proximité des sources excitatrices et inhibitrices atteintes par le champ de la stimulation.

#### β) Latence de la pause

L'indépendance de la réponse antidromique et du phénomène suppressif rend possible la comparaison des latences de ces deux événements. La période d'inhibition de l'activité spontanée apparaît généralement avec une latence identique à celle de la réponse antidromique. L'examen attentif des clichés permet de constater que les latences des deux phénomènes ne coïncident pas toujours exactement mais que celle de la pause est parfois légèrement supérieure (Fig. 21, f et j) ou inférieure (Fig. 21, i) à celle du potentiel d'action antidromique.

#### 4) Inhibition succédant à une excitation orthodromique

En réponse à l'application d'un choc stimulant, une période d'inhibition de l'activité spontanée, d'une durée comprise entre 30 et 200 ms, est notée chez 11 neurones pour lesquels l'excitation transsynaptique à partir du même site de stimulation est préalablement observée. La réponse orthodromique initiale est constituée d'un potentiel d'action de latence courte et fluctuante (Fig. 22a, b et d). La pause est encore observée lorsque l'intensité de la stimulation est réduite à une valeur inférieure au seuil de la réponse excitatrice orthodromique (Fig. 22, c et d). Lorsque l'intensité de la stimulation est graduellement réduite, la durée de la pause décroît progressivement (Fig. 22, c). La latence de la période d'inhibition coïncide avec celle de la réponse excitatrice (Fig. 22, a, b et c).

### DISCUSSION

L'examen des réponses recueillies dans la région septopréoptique au cours de la stimulation de la région infundibulaire révèle la présence de neurones (24 %) dont l'excitabilité est augmentée ou réduite par un pro-

cessus d'origine transsynaptique. Les propriétés des réponses excitatrices brèves (réponse multiple, latence variable, sensibilité à l'intensité de la stimulation, absence de collision) traduisent la mise en jeu de circuits oligo ou polysynaptiques.

Une propriété commune aux neurones ayant une projection directe (descendante) vers la région soumise à la stimulation et à ceux recevant de cette région des influx excitateurs de faible latence (ascendants) est l'annulation de leur activité spontanée en réponse à l'application d'un choc stimulant. Deux hypothèses sont envisagées pour expliquer la nature de ce phénomène suppressif :

- il traduit un retour très lent de l'excitabilité du neurone après la production du potentiel d'action évoqué

- il est mis en jeu de manière transsynaptique après activation par le choc stimulant de fibres ascendantes responsables d'une inhibition directe (s'appliquant au niveau de la membrane post-synaptique du neurone enregistré) ou indirecte (s'appliquant au niveau des terminaisons excitatrices innervant ce neurone). Des interneurons inhibiteurs peuvent aussi s'interposer entre ces fibres ascendantes et le neurone enregistré. L'étude de ces phénomènes étant menée par dérivation extracellulaire, il est difficile de trancher en faveur de l'une ou l'autre de ces deux hypothèses. Examinons successivement les arguments qui viennent cependant à l'appui de la seconde, dans le cas des neurones excités antidromiquement et orthodromiquement.

#### 1) Inhibition succédant à une excitation antidromique

##### a) Nature transsynaptique de la pause

La période d'inhibition de l'activité spontanée des neurones excités antidromiquement présente les caractéristiques d'un processus de nature post-synaptique :

- elle subsiste dans le cas où le potentiel d'action antidromique n'apparaît pas,

- sa durée est proportionnelle à l'intensité de la stimulation.

Le premier argument indique que la pause n'est pas le reflet d'une dépression de l'activité spontanée consécutive à la naissance du potentiel d'action



antidromique. Il permet d'affirmer qu'elle résulte d'un processus mettant en jeu une projection synaptique activée indépendamment de l'excitation du propre axone de l'élément étudié.

Le second argument suggère qu'il existe une sommation des phénomènes inhibiteurs élémentaires, due au recrutement des fibres inhibitrices atteintes en nombre croissant au cours de la propagation du champ de stimulation. Toutefois, lorsque la pause n'est observée que si le neurone est préalablement excité de manière antidromique, elle peut traduire une phase d'inhibition post-activatrice. L'excitation antidromique déprime profondément la réponse à un choc appliqué pendant la période de retour à l'état de repos de la membrane somato-dendritique. Cela se traduit par la diminution de l'amplitude et l'annulation du spike B qui sont observées pendant quelques dizaines de millisecondes. Nous démontrons que lorsque la pause est liée à l'apparition préalable du potentiel d'action antidromique, la période d'inhibition du spike B de la réponse à un choc test succédant à un choc conditionnant est anormalement longue (plusieurs centaines de millisecondes). Elle n'est pas due dans ce cas à la période réfractaire relative mais à un processus inhibiteur indépendant du cycle d'excitabilité intrinsèque du neurone (KOIZUMI et Coll., 1973 ; ISHIKAWA et KOIZUMI, 1975). Les valeurs anormalement longues obtenues lors de l'évaluation de  $r$  (Fig. 14) peuvent de même être mises sur le compte d'un phénomène indépendant des propriétés de la membrane excitable.

#### b) Support anatomique du processus inhibiteur

Deux hypothèses sont envisagées concernant la définition de la projection synaptique ascendante responsable des phénomènes **suppressifs**.

- la stimulation atteint à la fois les axones des neurones excités antidromiquement (projection descendante) et ceux qui déclenchent le processus inhibiteur post-synaptique (projection ascendante).

A l'appui de cette première hypothèse vient le fait qu'il existe, au site de stimulation, une étroite proximité entre les sources antidromiques et orthodromiques (Fig. 21, g).

- la stimulation n'atteint que les seuls axones des neurones excités antidromiquement (projection descendante). La pause s'explique alors en invoquant la présence de collatérales axoniques récurrentes qui exercent

leur action inhibitrice au niveau du corps cellulaire, directement ou par l'intermédiaire d'interneurones inhibiteurs. Le fait que la latence de l'inhibition soit proche de celle du potentiel d'action antidromique constitue le principal argument en faveur de cette seconde hypothèse. Au contraire, la possibilité de déclencher le phénomène inhibiteur sans mettre en jeu le propre axone du neurone étudié ainsi que l'apparition d'une latence d'inhibition bien inférieure à celle du potentiel d'action évoqué vont à première vue à l'encontre de celle-ci. Il faut alors supposer qu'il existe des actions réciproques entre les divers éléments constituant la projection descendante, relations s'établissant par l'intermédiaire des collatérales récurrentes, agissant peut-être par l'intermédiaire d'interneurones inhibiteurs. Dans ce cas, la stimulation d'un site autre que celui permettant l'obtention de la réponse antidromique du neurone placé sous l'électrode d'enregistrement active les fibres de neurones voisins dont les collatérales récurrentes provoquent l'inhibition de l'activité spontanée du neurone étudié. Ce phénomène de convergence permet d'expliquer l'augmentation graduelle de la durée de la pause, obtenue lors de l'utilisation d'intensités de stimulation croissantes, par un processus de recrutement de collatérales additionnelles : des intensités de stimulation plus élevées provoquent l'activation d'axones plus nombreux (en les atteignant en plus grand nombre et/ou en mettant en jeu ceux qui ont un seuil d'activation plus élevé) et permettent ainsi le recrutement de collatérales récurrentes inhibitrices plus nombreuses (Fig. 23, a).

Rien ne permet actuellement de trancher définitivement en faveur de l'une ou de l'autre de ces deux hypothèses.

## 2) Inhibition succédant à une excitation orthodromique

Les arguments qui viennent d'être invoqués dans le cas d'une inhibition de l'activité spontanée observée pour les neurones activés antidromiquement, peuvent être repris pour ceux qui présentent une excitation orthodromique préalable.

- lorsque l'intervalle silencieux succède à l'apparition de la réponse excitatrice initiale, celui-ci peut être mis sur le compte d'une phase de dépression post-activatrice.

Cependant des séquences inhibitrices sont constatées lorsque l'intensité de la stimulation est portée en dessous du seuil nécessaire à l'apparition de la réponse excitatrice. Cette observation démontre le caractère trans-synaptique du phénomène inhibiteur observé.

- si le neurone enregistré est soumis à des influences excitatrices et inhibitrices propagées par des fibres ascendantes, il faut supposer que ces fibres ont des vitesses de conduction semblables, étant donné que les latences d'apparition de l'excitation et de la pause sont comparables. Il faut supposer en outre que les fibres responsables de la pause sont plus nombreuses, ont un seuil plus bas, ou sont plus proches de l'électrode de stimulation que les fibres responsables de l'excitation initiale : la pause est en effet observée avec une intensité de stimulation inférieure à celle nécessaire pour l'excitation orthodromique du neurone.

- la présence de collatérales récurrentes (activées après l'excitation orthodromique du neurone et influençant en retour son activité spontanée), agissant ou non par l'intermédiaire d'interneurones inhibiteurs (Fig.23,b), peut également être invoquée.

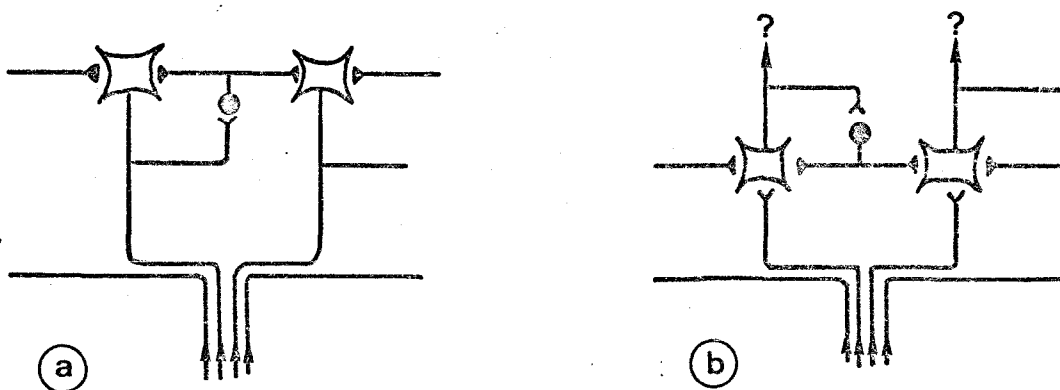


FIGURE 23 : Mécanismes hypothétiques de l' inhibition récurrente. La présence d'interneurones (représentés en noir) inhibant l'activité spontanée des neurones activés antidromiquement (a) ou orthodromiquement (b) permet d'expliquer les phénomènes de convergence et de recrutement observés au cours de la stimulation (flèches).

C. TOPOGRAPHIE DES NEURONES SEPTOPREOPTIQUES REpondant A LA STIMULATION DE LA REGION INFUNDIBULAIRE

La localisation des corps cellulaires des neurones répondant à la stimulation de la région infundibulaire est réalisée au cours de l'examen histologique des coupes des cerveaux des animaux expérimentés. Elle est établie soit grâce aux colorations extracellulaires effectuées aux sites d'enregistrement, soit par le report des valeurs indiquées par le dispositif micrométrique de descente de la microélectrode sur les traces laissées par celle-ci dans le tissu nerveux.

La nature de la réponse excitatrice est prouvée par l'application du test de la collision.

L'emplacement du territoire stimulé est déterminé en examinant sur les coupes histologiques le point d'impact de l'extrémité de l'électrode de stimulation.

Les neurones répondant à la stimulation des structures de l'aire tubérale médio-basale (région infundibulaire) sont dispersés dans la région délimitée par les coordonnées stéréotaxiques suivantes :

- plans antéro-postérieurs compris entre 12,8 et 14, 8 mm
- profondeur comprise entre 4,5 et 10 mm
- extension latérale maximale égale à 1,5 mm.

Lorsque l'emplacement du territoire stimulé peut être déterminé avec exactitude, les résultats obtenus sont classés dans l'un ou l'autre des deux groupes suivants :

- le premier concerne les animaux présentant un site de stimulation localisé très exactement à l'éminence médiane
- le second concerne ceux présentant un site de stimulation plus antérieur, médian, localisé au noyau arqué. Examinons la topographie des neurones répondant à la stimulation dans chacun de ces deux groupes.

1) Topographie des neurones répondant à la stimulation par un potentiel d'action évoqué de manière antidromique ou orthodromique

FIGURE 24 . Localisation histologique des sites d'enregistrement des neurones excités par une stimulation appliquée à l'éminence médiane . Coupes frontales .

a . Site de stimulation (flèche) : lèvres ventrale de l'éminence médiane (em)  
a : noyau arqué .

b . Potentiel complexé d'où se détachent des réponses antidromiques, enregistré dans la partie périventriculaire de l'aire préoptique .

↑ : artéfact de stimulation .

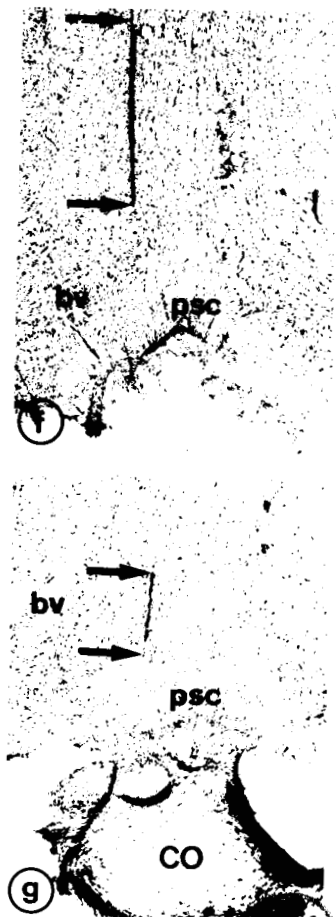
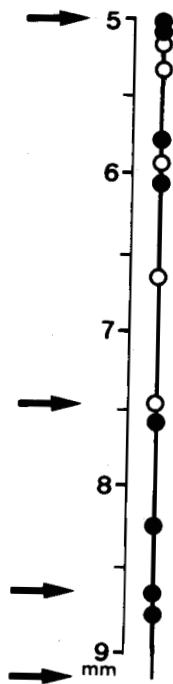
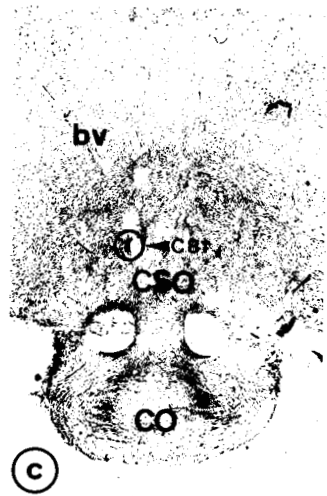
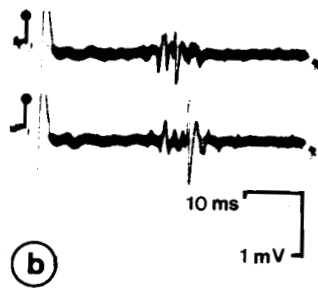
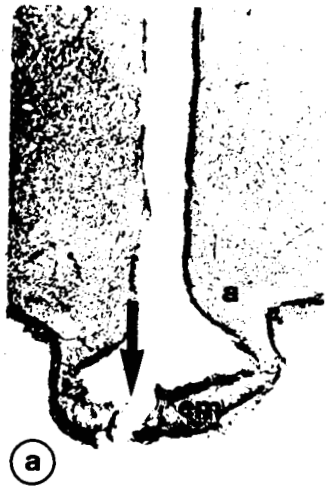
c . Dépôt de Bleu-Alcian (cercle) précisant la localisation de la cellule 81 dans la crête supra-optique (CSO) . bv : noyau ventral du tractus diagonal de Broca, CO : chiasma optique .

d . e . f . g . Une même descente est localisée par la trace laissée dans le tissu nerveux par la microélectrode sur trois coupes frontales adjacentes . Les trois portions de la trace sont limitées par les flèches en e, f et g . Les excitations antidromiques (●) et orthodromiques (○) enregistrées au cours de cette descente sont reportées en d .

Cette descente matérialise l'axe le long duquel le plus grand nombre de réponses sont obtenues .

bd : noyau dorsal du tractus diagonal de Broca, bv : noyau ventral du tractus diagonal de Broca, CO : chiasma optique, CSO : crête supra-optique, psc : noyau préoptique suprachiasmatique, sd : noyau septal dorsal, sl : noyau septal latéral, sm : noyau septal médian .

Coloration : crésyl violet . Gr.x22 .



1975  
LILLE

FIGURE 25 . Localisation des neurones activés de manière antidromique et orthodromique par une stimulation appliquée à l'éminence médiane ou au noyau arqué .

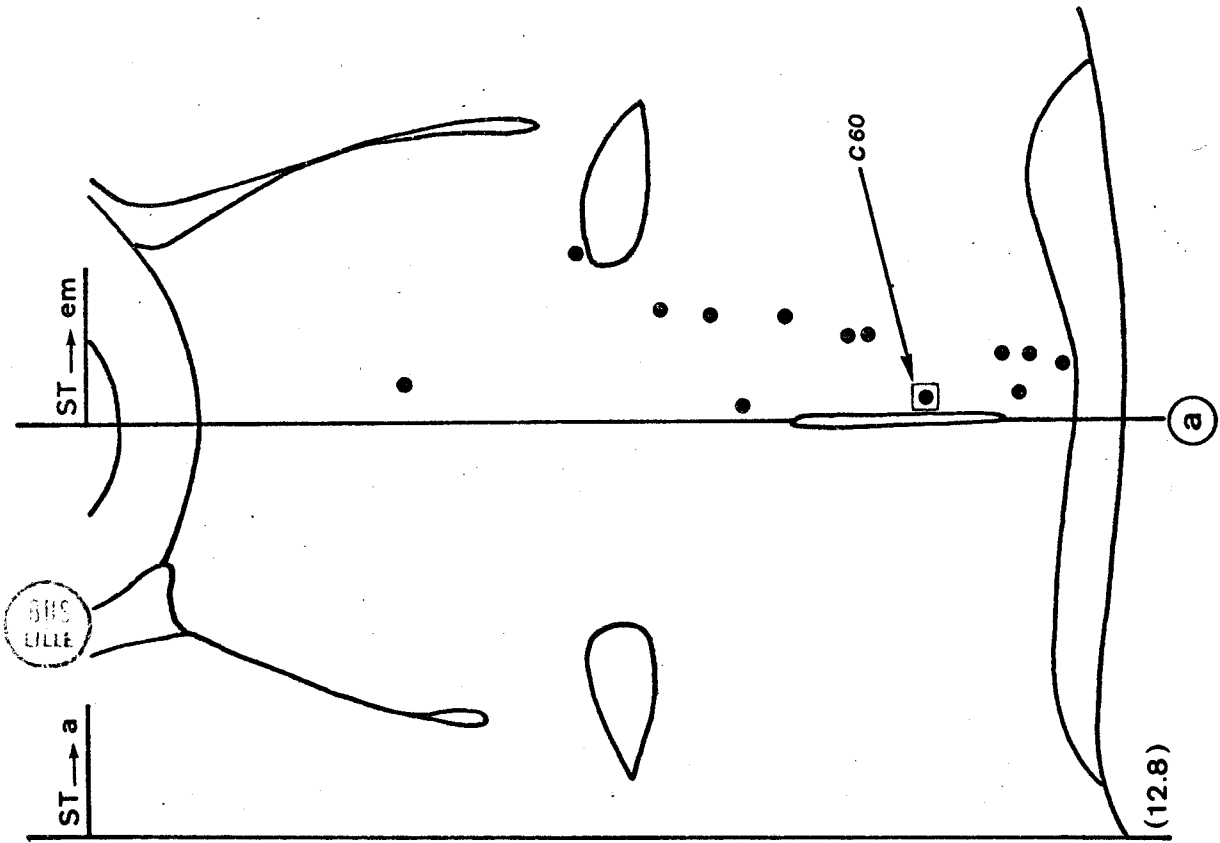
La localisation des neurones activés antidromiquement (●) et orthodromiquement (○) par une stimulation touchant l'éminence médiane (ST→em) ou le noyau arqué (ST→a) est reportée dans des plans frontaux reproduits à partir des cartes de l'atlas stéréotaxique de la figure 9 (la coordonnée antéro-postérieure des cartes correspondantes est indiquée entre parenthèses).

a,b,c et d : la position des 9 neurones reportés dans le tableau n° 3 est indiquée par les flèches (se reporter aux oscillogrammes correspondants à l'aide de ce tableau) . La localisation histologique des neurones encadrés apparaît sur les microphotographies des figures 19,a,24,c,26,e,h et i .

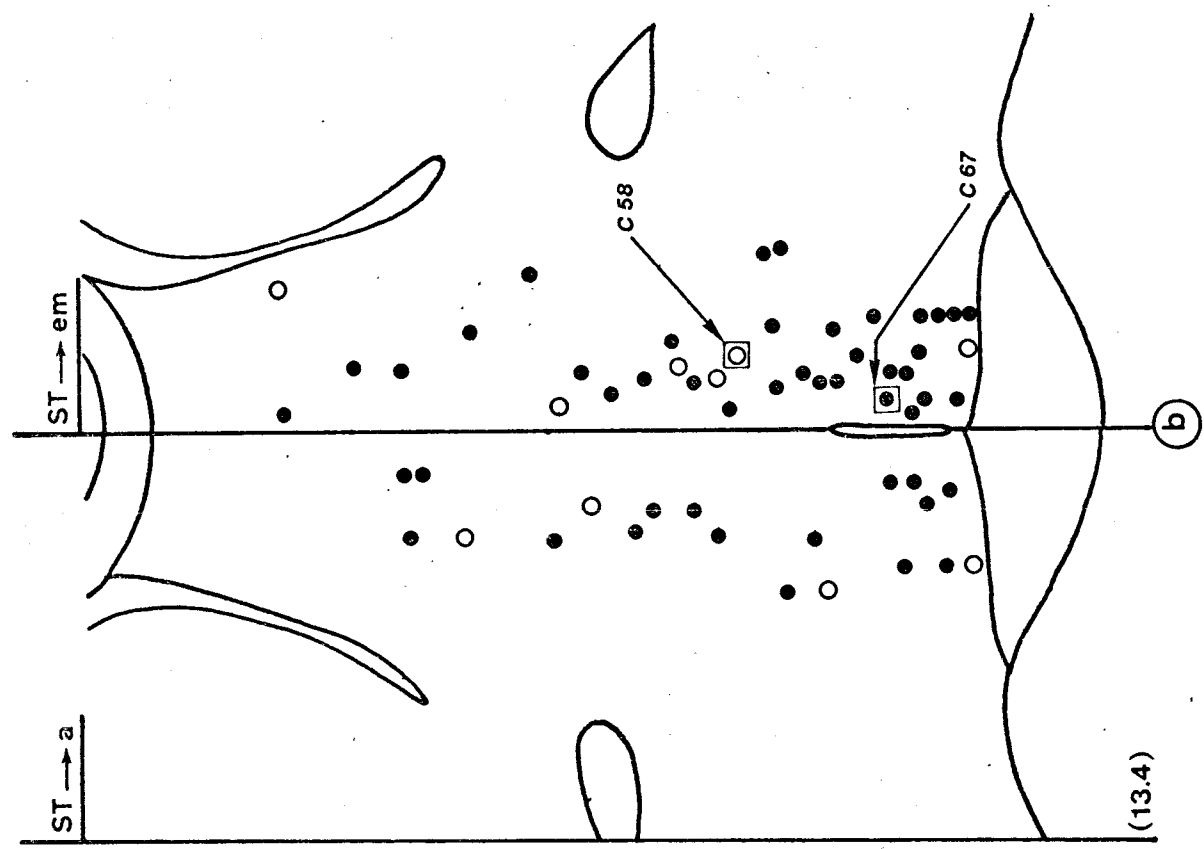
e : localisation des neurones répondant à l'application d'un choc ou d'une salve par :

- une activation de longue durée de leur activité spontanée (☑)
- une inhibition de longue durée de leur activité spontanée (☐)
- une inhibition de longue durée de leur activité spontanée liée à une réponse initiale antidromique ou orthodromique (flèches) .

Pour les cellules numérotées, se reporter aux oscillogrammes des figures 21 et 22 .

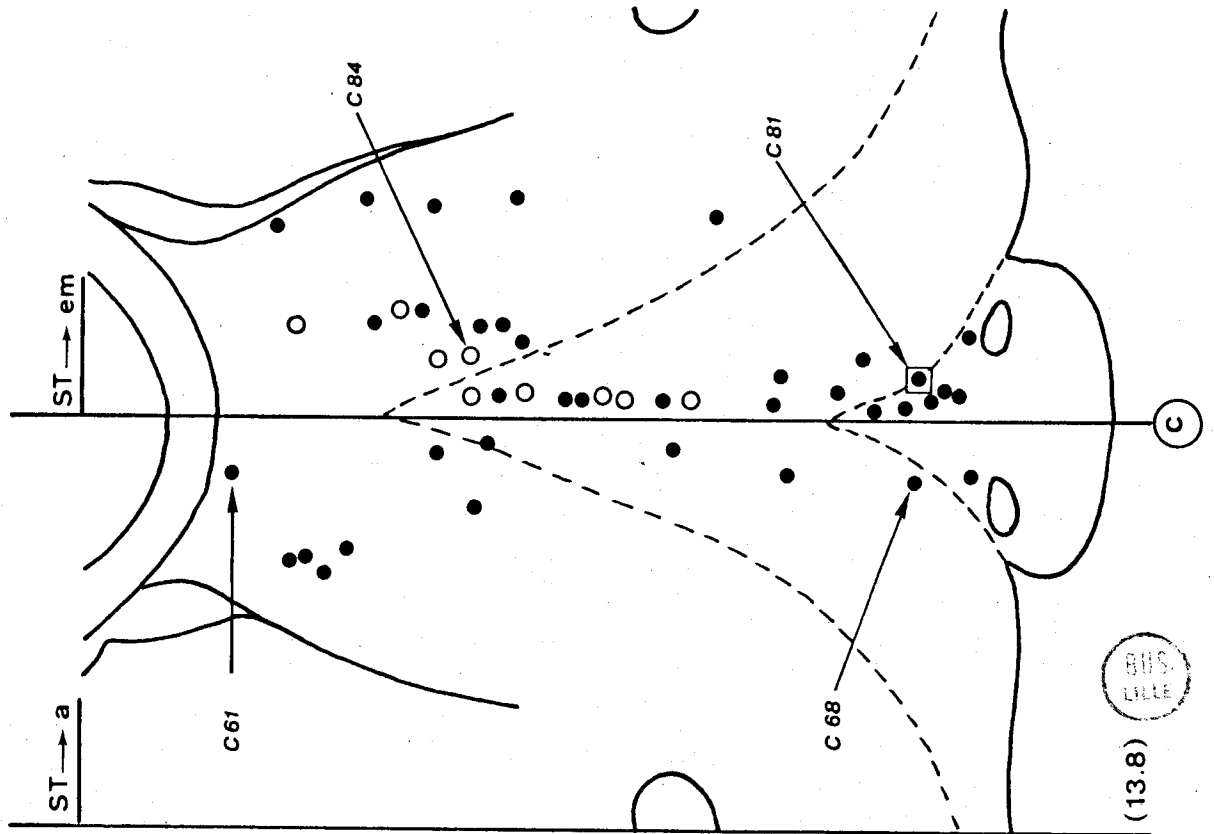


(12.8)

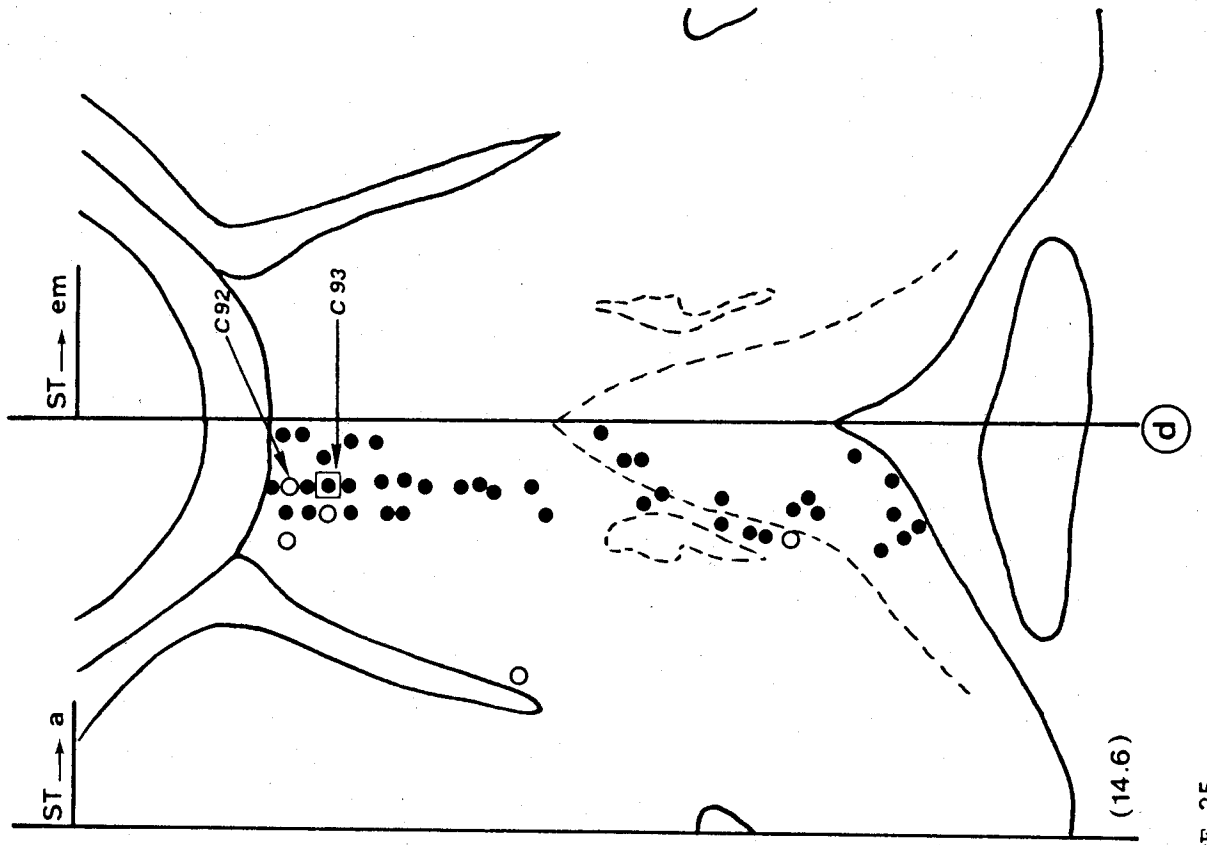


(13.4)





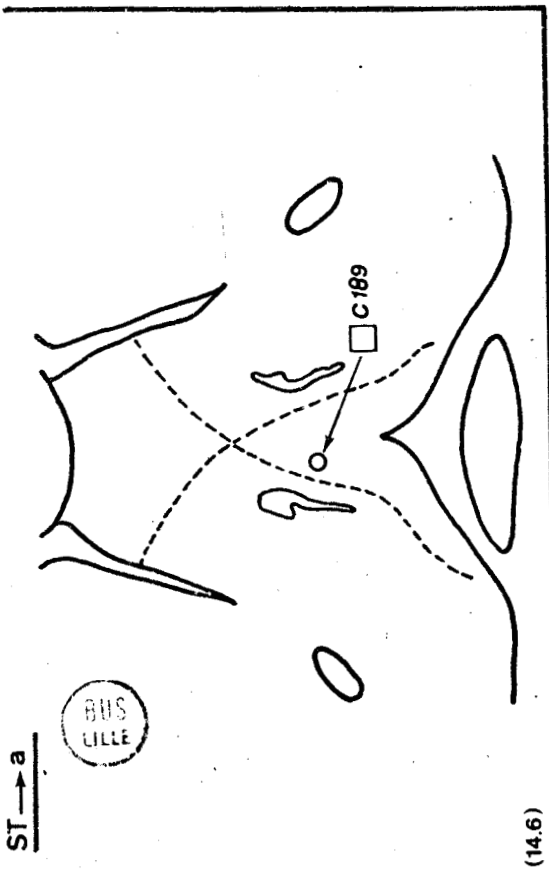
(13.8)



(14.6)

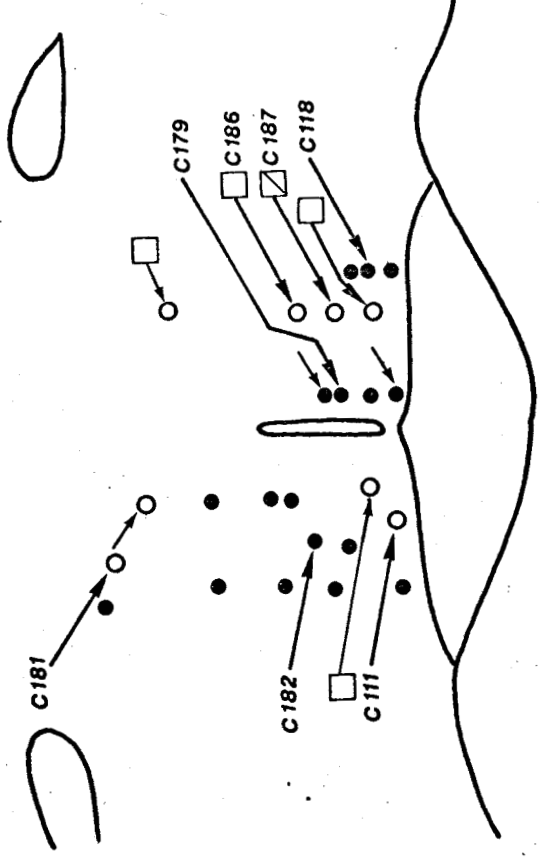
FIGURE 25 .

ST → a



(14.6)

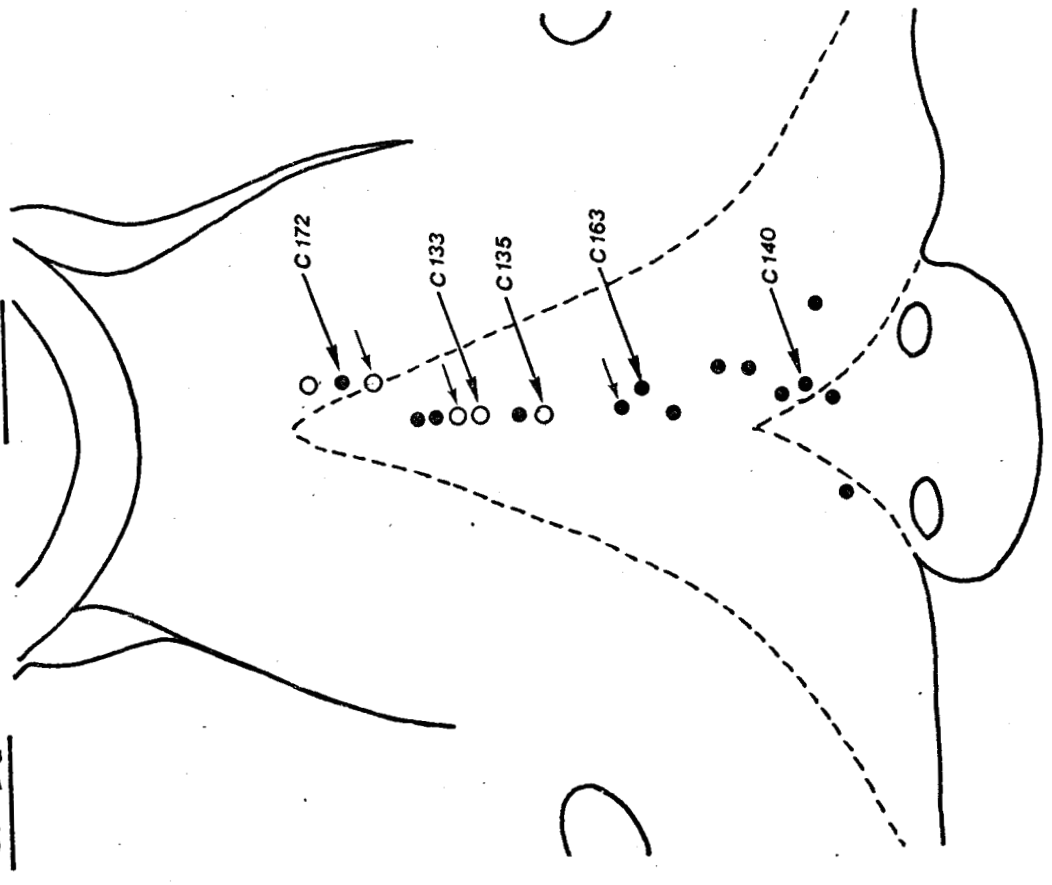
ST → em



(13.4)

ST → a

ST → em



(13.8)

FIGURE 25 e

a) Stimulation de l'émittance médiane

Dans ce groupe, la stimulation atteint la lèvre ventrale de l'émittance médiane à l'exclusion des structures surplombant celle-ci (Fig. 19, b et 24, a). La topographie des éléments excités de manière antidromique ou orthodromique est représentée dans les figures 25 a, b, c et d. Seuls y sont reportés les éléments dont la position est connue avec exactitude et pour lesquels la nature de l'excitation est démontrée. Les réponses antidromiques se dégagent pour certaines descentes de potentiels complexes de latence comprise entre 0 et 30 ms (Fig. 24, b). Ces potentiels, traduisant l'excitation d'une population dense de fibres et de corps cellulaires, sont recueillis dans la région de l'aire préoptique périventriculaire. Les réponses antidromiques proviennent de neurones situés dans les noyaux préoptiques médian, médiaux et périventriculaires (Fig. 19, a et 25, a) ainsi que dans les noyaux préoptiques suprachiasmatiques et à la limite interne des noyaux préoptiques latéraux (Fig. 25, b). Plus en avant, les réponses sont nombreuses le long d'un axe passant par le noyau septal médian, le noyau dorsal du tractus diagonal de Broca et l'extrémité rostrale de l'aire préoptique (crête supra-optique). Ce sont les enregistrements le long de cet axe qui fournissent le plus grand nombre de réponses orthodromiques et antidromiques par descente (Fig. 24, d) ; les réponses orthodromiques sont nombreuses dans les noyaux septaux médians et les noyaux dorsaux du tractus diagonal de Broca, où elles atteignent la proportion des réponses antidromiques (Fig. 24, e et f ; 25, c). Ces dernières restent majoritaires dans la région basale proche de la crête supra-optique (Fig. 24, c et g ; 25, c). Des réponses des deux types sont également recueillies à partir d'éléments disséminés dans les noyaux septaux dorsaux et latéraux.

b) Stimulation du noyau arqué

Dans ce groupe, la stimulation atteint la partie antérieure du noyau arqué (Fig. 26, a). La topographie des éléments excités est également représentée dans les figures 25 a, b, c et d.

Des potentiels complexes sont enregistrés dans les noyaux septaux médians (Fig. 26, b). C'est dans le septum (Fig. 25, d ; 26, e) et en particulier dans les noyaux septaux médians (Fig. 26, c et d) que la plus forte

proportion d'éléments excités de manière antidromique est découverte. Il est fréquent dans ces régions de déclencher l'excitation antidromique de neurones voisins dont l'activité est enregistrée simultanément (exemple de la cellule 93 : Fig. 25, d ; 26, e et 40). D'autres éléments excités antidromiquement sont également regroupés dans les noyaux dorsaux et ventraux du tractus diagonal de Broca (Fig. 25, d) entre les flots de Calleja et la base du cerveau (Fig. 26, f). Des réponses antidromiques et orthodromiques sont également recueillies dans toute la région septopréoptique (Fig. 25, b et c), sans que l'on puisse noter de regroupements topographiques particuliers pour les éléments qui leur ont donné naissance.

## 2) Topographie des neurones répondant à la stimulation par une excitation ou une inhibition de longue durée

C'est (sauf de rares exceptions) la stimulation de la lèvre ventrale de l'éminence médiane qui déclenche l'apparition des réponses transsynaptiques de longue durée (activation et inhibition initiales, inhibition liée à une réponse antidromique ou orthodromique). Elles sont observées dans les régions qui fournissent le plus grand nombre de réponses antidromiques à la stimulation de l'éminence médiane : axe septum-médian - crête supra-optique et région basale proche de la crête supra-optique (Fig. 25, e). Dans cette dernière, la densité des réponses (de tous les types) est la plus forte.

Une remarque vient compléter cette description topographique : une électrode de stimulation placée en arrière de l'éminence médiane, au voisinage du récessus prémamillaire (Fig. 26, g) ne permet dans la région préoptique que l'obtention de très rares réponses orthodromiques (Fig. 26, h) ou antidromiques (Fig. 26, i). Aucune réponse n'est dans ce cas obtenue dans l'aire correspondant aux noyaux du tractus diagonal de Broca et aux noyaux septaux.

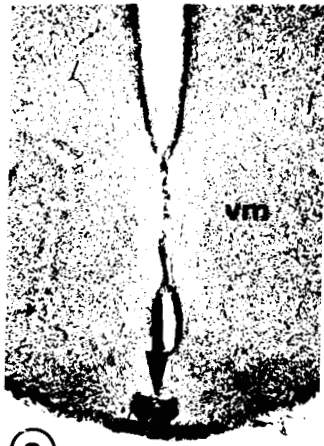
FIGURE 26 . Localisation histologique des sites d'enregistrement des neurones excités par une stimulation appliquée au noyau arqué (a à f) et en arrière de l'éminence médiane (g à i) . Coupes frontales .

- a . Site de stimulation (flèche) : portion antérieure du noyau arqué (a) .  
vm : noyau ventro-médian .
- b . Potentiel complexe, enregistré dans les noyaux septaux médians, signalant la présence d'un grand nombre d'éléments mis en jeu par la stimulation .  
! : artéfact de stimulation .
- c . Dépôt de Bleu-Alcian (dans la région encadrée) précisant la localisation d'un neurone excité antidromiquement dans le noyau septal médian (sm) .
- d . Détail de la région encadrée en c . La marque colorée est encerclée.
- e . Localisation de la cellule 93 (cercle) dans le noyau septal dorsal (sd), au niveau des flots de Calleja (IC) .
- f . Dépôt de Bleu-Alcian (cercle dans la cartouche présentant un agrandissement de la région encadrée) signalant la localisation à la base du cerveau (noyau ventral du tractus diagonal de Broca : bv) d'un neurone excité antidromiquement .
- g . Site de stimulation (flèches) : en arrière de l'éminence médiane .
- h . Dépôt de Bleu-Alcian dans le noyau ventral du tractus diagonal de Broca (bv) au contact d'un neurone excité orthodromiquement (cellule 58) .
- i . Dépôt de Bleu-Alcian (cercle) précisant la localisation d'un neurone excité antidromiquement dans le noyau préoptique périventriculaire (pp) (cellule 60) .

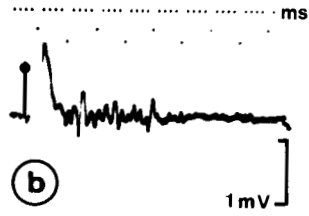
CB : commissure blanche antérieure, CO : chiasma optique, bd : noyau dorsal du tractus diagonal de Broca, LAH : lobe antérieur de l'hypophyse, pm : noyau préoptique médian, pml : noyau préoptique médial, sl : noyau septal latéral, TO : tractus optique .

Coloration : crésyl violet . Gr.x22 .

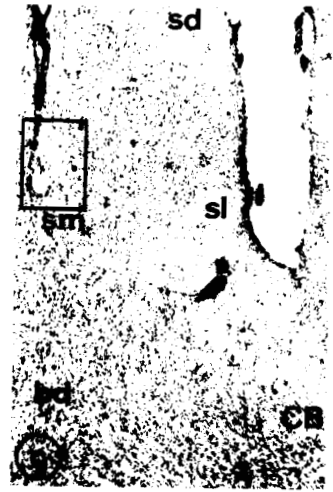




(a)



(b)



(d)



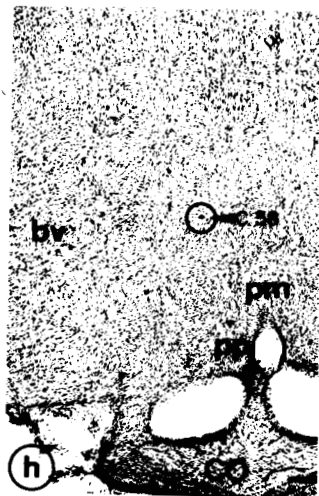
(e)



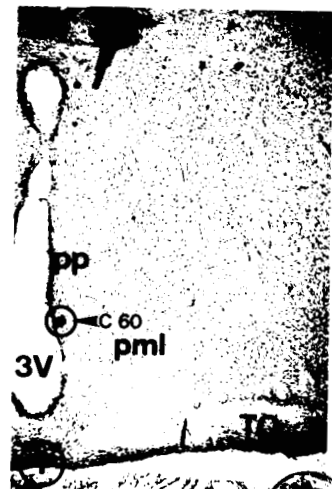
(f)



(g)



(h)



(i)

BIO  
LITTLE

DISCUSSION DES RESULTATS OBTENUS PAR LA TECHNIQUE D'IDENTIFICATION  
ELECTROPHYSIOLOGIQUE

L'étude électrophysiologique a pour but de découvrir l'existence chez le cobaye d'une relation directe entre l'aire septopréoptique et la région infundibulaire (ou région tubérale médio-basale). L'examen des propriétés de leurs réponses excitatrices et des résultats de l'application du test de la collision auquel ils sont soumis indique que 42 % des neurones septopréoptiques sont excités de manière antidromique par la stimulation du tuber médio-basal. Une relation asynaptique septopréoptico-tubérale est donc démontrée.

Au cours de cette étude, il apparaît que l'activité de 24 % des neurones septopréoptiques est modifiée par des influx excitateurs et inhibiteurs provenant de la région infundibulaire. Ces influx sont principalement inhibiteurs (14,20 %). L'influence inhibitrice atteint les neurones identifiés par leur excitation antidromique et orthodromique en réponse à la stimulation de la même région. Ces résultats démontrent que l'aire septopréoptique et la région tubérale médio-basale établissent des relations récioproques par l'intermédiaire du tractus septopréoptico-tubéral (descendant) et d'un tractus (ascendant) tubéro-septopréoptique.

1) Tractus septopréoptico-tubéral

Nos résultats chez le cobaye (POULAIN et PARTOUCHE, 1973) confirment ceux obtenus chez le rat par DYER et CROSS (1972, a et b) et DYER (1973). Grâce à la même méthode d'identification, ces auteurs démontrent la relation directe s'établissant entre l'aire préoptique et la région tubérale médio-basale atteinte par une électrode de stimulation descendue par la voie dorsale. L'existence de cette relation est confirmée par l'abondance des résultats obtenus ensuite à l'aide de la même méthode et dans les mêmes conditions de stimulation (DYBALL et Coll., 1974 ; WHITEHEAD et RUF, 1974 ; KAWAKAMI et SAKUMA, 1974 ; MOSS et Coll., 1975, a ; FENSKE et Coll., 1975 ; KAWAKAMI et Coll., 1975 ; KAWAKAMI et SAKUMA, 1976 ; MOSS, 1976 ; DYER et Coll., 1976, a et b ; ELLENDORFF et Coll., 1976, chez le rat, DUFY et Coll., 1976, chez la lapine).

Nos résultats permettent d'étendre aux noyaux du septum et du tractus diagonal de Broca le lieu d'origine des axones participant à la projection vers la région infundibulaire. La proportion des éléments septopréoptiques identifiés (42 %) est comparable à celle des éléments préoptiques (41 %) obtenue par DYER (1973) chez le rat.

Le problème concernant la destination exacte des axones originaires de l'aire préoptique n'est pas résolu par les auteurs utilisant une stimulation par approche dorsale. Le champ de la stimulation atteint indifféremment les axones qui s'articulent avec les neurones du noyau arqué ou qui se dirigent vers la partie externe de l'éminence médiane, ainsi que ceux qui poursuivent leur course vers d'autres structures. Nos résultats apportent quelques éléments de réponse à ce problème.

- la région infundibulaire est le lieu d'aboutissement de la majorité des axones composant le tractus septopréoptico-tubéral, étant donné que des stimulations réalisées en arrière de cette région ne permettent l'identification que d'un nombre très restreint de neurones.

- les résultats obtenus dans les deux groupes d'animaux pour lesquels le site de stimulation est exactement localisé permettent d'individualiser deux composants au sein du tractus septopréoptico-tubéral.

#### a) Projections afférentes au noyau arqué

Il n'existe pas dans l'aire préoptique de regroupement topographique particulier des neurones afférents à la partie rostrale <sup>du</sup> noyau arqué. Cette remarque rejoint celle formulée par RENAUD (1977) concernant la rareté des projections des neurones préoptiques vers ceux (à destinée infundibulaire) qui appartiennent au noyau arqué chez le rat. Au contraire, une forte proportion de neurones est découverte dans la région septale, en particulier dans les noyaux septaux médians. D'autres sont groupés dans les noyaux ventraux du tractus diagonal de Broca. Nous suggérons l'existence chez le cobaye d'un tractus septo-arcué qui, au sein du tractus septopréoptico-tubéral, relie les structures antérieures de l'aire septopréoptique à la partie rostrale du noyau arqué. La démonstration électrophysiologique de l'existence d'un tel tractus (POULAIN, 1977) est la première qui soit réalisée.



### b) Projections afférentes à l'éminence médiane

Des axones originaires des régions hypothalamique antérieure, préoptique et septale aboutissent à la lèvre ventrale de l'éminence médiane : la forte proportion des corps cellulaires donnant naissance à ces axones relevée dans la région préoptique basale périventriculaire conduit à suggérer l'existence d'un tractus préoptico-infundibulaire. Cette suggestion doit rester prudente en raison des réserves inhérentes à l'utilisation d'une stimulation par approche dorsale. La possibilité n'est pas exclue que les structures surplombant l'infundibulum (noyau arqué en particulier) puissent être atteintes par le champ de stimulation. Lorsqu'une approche ventrale permet la stimulation ponctuelle de la surface externe de l'éminence médiane, les tentatives d'identification antidromique des neurones préoptiques se soldent par des échecs répétés chez le rat (SAWAKI, 1977 ; YAGI et SAWAKI, 1977, 1978). Il est probable que cette approche, à cause d'une stimulation inadéquate des terminaisons axoniques par un champ trop limité, ne facilite pas la détection de la totalité des neurones à destinée infundibulaire. Pourtant, chez le même animal et par la même méthode, l'existence d'un groupe compact de neurones dans la région périventriculaire de l'aire préoptique est démontrée par MAKARA et Coll., (1972) et KAWAKAMI et SAKUMA, (1976) ; de plus, RENAUD et Coll. (1978) étendent à la totalité de l'aire préoptique périventriculaire la localisation des neurones à destinée infundibulaire.

### c) Projections afférentes au noyau arqué et à l'éminence médiane

La topographie des corps cellulaires identifiés antidromiquement par une stimulation appliquée soit au noyau arqué, soit à l'éminence médiane, révèle l'existence d'une région commune où ils sont dispersés. Cette région est constituée des noyaux préoptiques suprachiasmiques, périventriculaire, médian, médiaux et des noyaux dorsaux du tractus diagonal de Broca, septaux médians et latéraux. Il est impossible de déterminer le lieu d'aboutissement de leurs axones au sein de la région infundibulaire.

#### 2) Tractus tubéro-septopréoptique

L'obtention de réponses de caractère transsynaptique dans l'aire septopréoptique au cours de la stimulation de la région infundibulaire im-

plique l'existence d'une projection ascendante tubéro-septopréoptique. Chez le rat, des influx originaires de l'hypothalamus médio-basal influencent l'excitabilité des neurones préoptiques ; ils sont principalement inhibiteurs (DYER, 1975 ; KAWAKAMI et Coll., 1975 ; FENSKE et Coll., 1975 ; DYER et Coll., 1976, b). A la suite des résultats obtenus chez le cobaye, la même constatation est formulée à propos de l'ensemble des neurones septopréoptiques. La méconnaissance de la source exacte des processus transsynaptiques nécessite d'envisager deux hypothèses :

- la projection ascendante tubéro-septopréoptique se compose des axones et/ou des collatérales axoniques des neurones dont les corps cellulaires appartiennent à la région infundibulaire (Fig. 27, a). Chez le rat, des neurones de l'hypothalamus médio-basal sont identifiés antidromiquement par une stimulation appliquée à l'aire préoptique (HARRIS et SANGHERA, 1974 ; MAKARA et HODACS, 1975 ; KAWAKAMI et Coll., 1975 ; RENAUD, 1977 ; CARRER et Coll., 1978). D'autres, en relation directe avec la région externe de l'éminence médiane (neurones tubéro-infundibulaires), se projettent également vers différentes régions hypothalamiques (dont l'aire préoptique) et extrahypothalamiques grâce à un réseau très organisé de collatérales axoniques (RENAUD et MARTIN, 1975 ; RENAUD, 1976, b, c, d, e, ; 1977). Une stimulation ponctuelle de la région externe de l'éminence médiane influence l'activité des neurones préoptiques (YAGI et SAWAKI, 1977) par l'intermédiaire des collatérales axoniques des neurones tubéro-infundibulaires ; elles s'articulent avec les corps cellulaires des premiers (Fig. 27, a/1) ou établissent des contacts synaptiques avec des neurones voisins qui se projettent vers l'aire préoptique (Fig. 27, a/2).

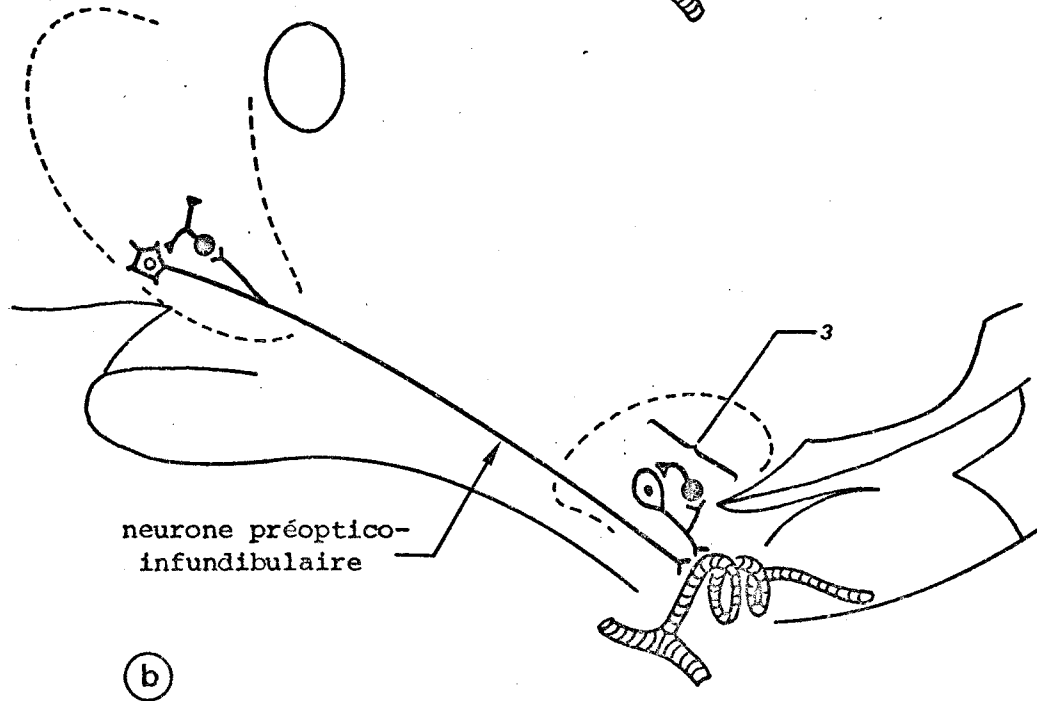
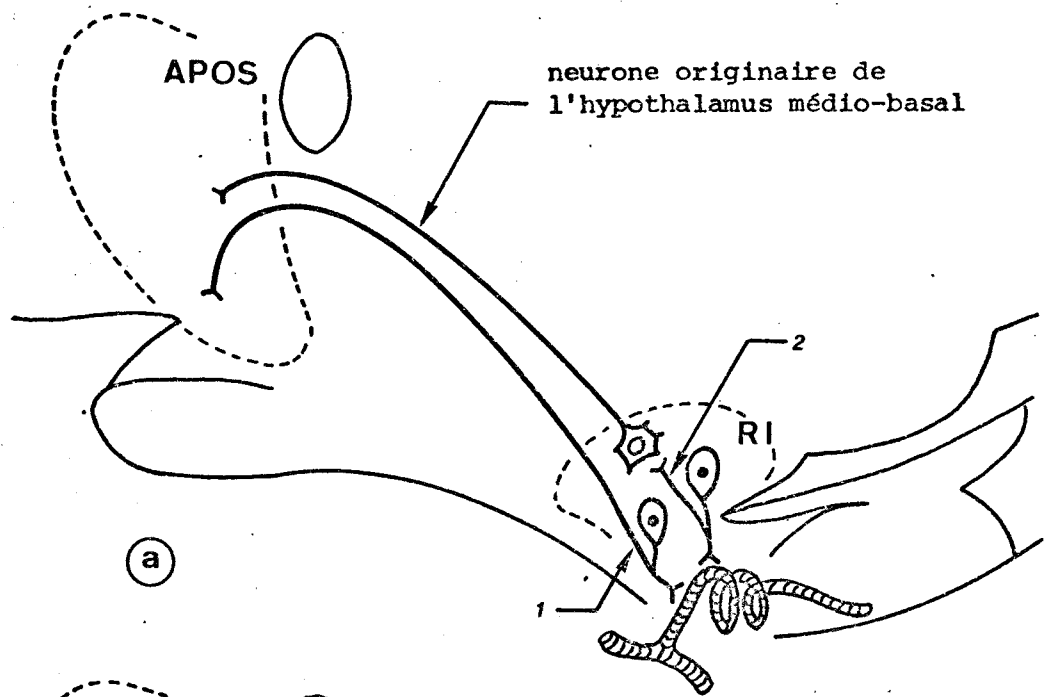
- les axones des neurones septopréoptiques identifiés antidromiquement par la stimulation de la région infundibulaire émettent des collatérales récurrentes qui s'articulent avec les corps cellulaires d'origine (Fig. 27, b).

L'association d'une excitation antidromique et d'une inhibition de longue durée de l'activité spontanée, ces deux phénomènes intervenant avec des latences comparables, permet d'envisager favorablement cette seconde hypothèse. Le principal argument qui l'appuie est que la double réponse est obtenue à partir d'une stimulation limitée à la lèvre ventrale de l'éminence médiane. Etant donné que la réponse est principalement observée dans la

FIGURE 27 . Tractus tubéro-septopréoptique .

Le tractus tubéro-septopréoptique, convoyant les impulsions responsables des réponses transsynaptiques observées dans la région septopréoptique (APOS) après stimulation de la région infundibulaire (RI), peut se composer :

- a . des axones des neurones originaires de l'hypothalamus médio-basal, des collatérales récurrentes des neurones tubéro-infundibulaires :
  - collatérales extranucléaires (1)
  - collatérales intranucléaires (2) s'articulant avec les neurones de l'hypothalamus médio-basal ,
- b . des collatérales récurrentes des neurones de la projection septopréoptico-tubérales . Ce système hypothétique, représenté ici pour un neurone préoptico-infundibulaire, peut comporter des interneurones inhibiteurs (représentés en noir) et être de la sorte comparable à celui qui est supposé exister dans le cas des neurones tubéro-infundibulaires chez le rat (3) .



région préoptique médio-basale, l'existence de collatérales récurrentes inhibitrices peut être envisagée dans le cas du système préoptico-infundibulaire du cobaye comme elle l'est (associée à la présence d'interneurones inhibiteurs) dans le système tubéro-infundibulaire du rat (YAGI et SAWAKI, 1975 ; SAWAKI et YAGI, 1976 ; RENAUD, 1976, c ; YAGI et SAWAKI, 1978 ; Fig. 27, b et 23, a).

### 3) Inhibition de l'activité spontanée des neurones excités orthodromiquement

La pause succédant à l'activation orthodromique des neurones septopréoptiques par la stimulation de la région infundibulaire est provoquée vraisemblablement par la mise en jeu de leurs collatérales axoniques qui, en retour, réduisent leur excitabilité. L'existence d'un tel processus, faisant intervenir des interneurones inhibiteurs (Fig. 23, b), est supposée :

- chez le rat, dans le cas des neurones préoptiques stimulés orthodromiquement à partir de l'hypothalamus médio-basal et de l'amygdale (FENSKE et Coll., 1975)

- dans différentes espèces, dans le cas des neurones septopréoptiques répondant à la stimulation de l'amygdale (GARDNER et PHILLIPS, 1977, a ; GARDNER et CARR, 1977) et des neurones septaux excités par celle de l'amygdale et de l'hippocampe (DE FRANCE, 1976 ; EDINGER et SIEGEL, 1976 ; GUTNICK et FELDMAN, 1977 ; GARDNER et PHILLIPS, 1977, b) ou du faisceau médian du télencéphale (LAMOUR, 1976).

En conclusion, chez le cobaye, les régions septopréoptique et infundibulaire établissent des relations mutuelles par l'intermédiaire du tractus (descendant) septopréoptico-tubéral et du tractus (ascendant) tubéro-septopréoptique. A l'intérieur du tractus descendant, les composants septo-arché et préoptico-infundibulaire sont identifiés et la localisation de leurs corps cellulaires d'origine est précisée. Le second provient principalement de la région préoptique médio-basale (suprachiasmatique). C'est elle qui reçoit la plus forte densité des influx ascendants qui provoquent l'apparition des réponses transsynaptiques au cours de la stimulation de la

lèvre ventrale de l'éminence médiane. Ces influx empruntent probablement les collatérales axoniques récurrentes des neurones préoptico-infundibulaires. Les inter-relations privilégiées existant entre la région préoptique médio-basale et l'éminence médiane sont donc démontrées.

Certains points de discussion subsistent, dus à la méconnaissance des limites exactes des structures atteintes par le champ de la stimulation. Si l'existence d'une projection préoptico-tubérale est parfaitement démontrée chez le rat par la même méthode d'identification, celle d'un tractus préoptico-infundibulaire demeure contestée. La démonstration électrophysiologique d'un tractus septo-arqué est la première qui soit réalisée et demande à être précisée. Une autre méthode d'identification doit être utilisée pour vérifier l'existence de ces deux composants du tractus septopréoptico-tubéral.

## CHAPITRE II

### ETUDE NEUROANATOMIQUE DES RELATIONS ENTRE L'AIRE SEPTOPREOPTIQUE ET LA REGION INFUNDIBULAIRE.

La méthode neuroanatomique choisie pour préciser la localisation des corps cellulaires des neurones afférents à la région infundibulaire est basée sur la propriété de migration intra-axonale de la peroxydase du rai- fort. Captée par les terminaisons nerveuses, l'enzyme est transportée acti- vement vers les péricaryons d'origine où elle y est détectée. Cette métho- de est utilisée pour la première fois au niveau de l'axe septopréoptico- tubéral. L'application d'autres méthodes neuroanatomiques apporte des don- nées concernant les rapports réciproques existant entre la région septo- préoptique et l'hypothalamus médio-basal (noyau arqué et éminence médiane). Une synthèse bibliographique de ces données est proposée avant l'exposé des résultats personnels.

#### A. DONNES BIBLIOGRAPHIQUES CONCERNANT LES RELATIONS ENTRE L'AIRE SEPTOPRE- OPTIQUE ET LE TUBER MEDIO-BASAL, ETUDIEES A L'AIDE DE TECHNIQUES NEURO- ANATOMIQUES

##### 1) Projection de l'aire préoptique médiane afférentes au tuber médio-basal.

Avant d'envisager le détail de ces projections, il est utile de résumer leurs deux caractéristiques essentielles :

- les différents groupes cellulaires constituant l'aire préopti- que donnent naissance à une projection descendante s'organisant selon la po- sition antéro-postérieure et médio-latérale de chacun d'entr'eux : les fi- bres issues des structures postérieures et médianes parcourent l'hypothala- mus en suivant un trajet médian, tandis que celles provenant des structures antérieures et latérales poursuivent un trajet latéral.

- la distribution topographique des fibres originaires des neurones de l'aire préoptique médiane révèle un niveau très élevé d'organisation, si bien que les prolongements issus de petits groupes cellulaires très rapprochés donnent naissance à des projections bien distinctes.

a) Projections afférentes au noyau arqué

En appliquant la technique de l'autoradiographie à l'étude des projections efférentes de la région préoptique, CONRAD et PFAFF (1975, 1976, a), FICHERA (1976), DAIKOKU et Coll., (1976) et SWANSON (1976) démontrent que l'injection d'acides aminés tritiés dans différents territoires de l'aire préoptique médiane est suivie de l'apparition de fibres marquées dans la région tubérale chez le rat. La première caractéristique des projections descendantes de l'aire préoptique mentionnée plus haut s'applique à la projection préoptico-tubérale. La région préoptique médiane prise dans son ensemble délègue un fort contingent de fibres dans le faisceau médian du télencéphale. Certaines d'entr'elles bifurquent au niveau des noyaux ventro-médians pour rejoindre le noyau arqué (SWANSON, 1976 ; CONRAD et PFAFF, 1976, a). Les prolongements des éléments situés en position périventriculaire suivent un trajet plus médian et longent le 3ème ventricule pour aboutir (en plus grand nombre) dans la même région (CONRAD et PFAFF, 1976, a ; DAIKOKU et Coll., 1976).

Par l'étude au microscope optique des dégénérescences axoniques observées après une lésion électrolytique de l'aire préoptique médiane, KOVES et RETHELYI (1976) démontrent également chez le rat l'existence d'articulations entre les fibres issues de cette région et certaines structures post-synaptiques (dendrites - péricaryons) du noyau arqué.

b) Projections afférentes à l'éminence médiane

Si l'existence d'une relation directe entre l'aire préoptique médiane et le noyau arqué est fermement établie, la démonstration par les méthodes neuroanatomiques d'une projection préoptico-infundibulaire est au contraire le sujet de controverses. Au terme d'une étude très complète, à l'échelon ultrastructural, de la partie externe de l'éminence médiane, KORITSANSZKI et KOVES (1976) nient l'existence d'une relation directe préoptico-infundibulaire chez le rat. Ils n'y observent pas d'images de dégé-



nérescence après la lésion électrolytique de la région préoptique ou l'interruption par une section verticale de ses efférences descendantes. Au contraire, chez le rat et le chat, respectivement, DAIKOKU et Coll., (1976) et IBATA et Coll., (1977) découvrent grâce à la même méthode la présence de nombreuses fibres dégénérées après la lésion. La contradiction apparente de ces résultats peut s'expliquer, semble-t-il, par l'une de ses caractéristiques des projections descendantes de l'aire préoptique signalée plus haut et relative à leur degré d'organisation topographique très élevé. Par exemple, seule une injection de radio-isotopes confinée à la partie basale de la région préoptique périventriculaire (par rapport à d'autres placées dans les régions voisines) permet à SWANSON (1976) de suivre chez le rat le parcours de certaines fibres marquées le long du 3ème ventricule jusqu'à l'éminence médiane. Ce serait donc la région préoptique périventriculaire basale (correspondant au noyau préoptique suprachiasmatique) qui donnerait naissance à une projection privilégiée vers l'éminence médiane, comparable à celle, parfaitement définie, originaire des noyaux suprachiasmatiques (SWANSON et COWAN, 1975 ; CONRAD et PFAFF, 1976, b ; KORITSANSKI et KOVES, 1976). Notons également que par la même technique autoradiographique et chez le même animal, il est démontré qu'un petit nombre de fibres issues de l'aire préoptique médiane (via le faisceau médian du télencéphale : SWANSON, 1976 ; CONRAD et PFAFF, 1976, a) ainsi qu'un plus grand nombre de fibres provenant de la région périventriculaire de l'aire préoptique (et parcourant l'hypothalamus suivant un trajet périventriculaire : DAIKOKU et Coll., 1976 ; CONRAD et PFAFF, 1976, a, FICHERA, 1976) aboutissent aux parties externe et interne de l'éminence médiane.

## 2) Projections du septum afférentes au tuber médio-basal

Les noyaux de l'aire préoptique (SWANSON, 1976) et les éléments bordant la crête supra-optique (LEWIS et SHUTE, 1967) reçoivent en grande abondance des fibres d'origine septale. Ces fibres établissent de multiples connexions avec les éléments de l'aire préoptique latérale et avec ceux de l'hypothalamus latéral, après un trajet effectué au sein du faisceau médian du télencéphale, ce dernier constituant par excellence le support des relations septo-hypothalamiques (RAISMAN, 1966 ; MEIBACH et SIEGEL, 1977). Beaucoup moins évidentes sont les relations anatomiques pouvant exister entre le septum et l'hypothalamus médian. A l'aide de lésions verticales

privant l'aire préoptique de ses afférences antérieures et de déafférentations enfermant dans un même îlot l'hypothalamus et la région préoptique, KOVES et RETHELYI (1976) démontrent que chez le rat, la partie antérieure du noyau arqué renferme un grand nombre d'éléments provenant de corps cellulaires situés en avant et au-dessus de l'aire préoptique. Chez le même animal, mais par la technique autoradiographique, CONRAD et PFAFF (1976, c) montrent de manière plus précise que certaines fibres en provenance du septum médian et parcourant l'hypothalamus latéral par le faisceau médian du télencéphale obloquent vers la région du noyau arqué et de l'éminence médiane où elles sont rejointes par des fibres ayant la même origine mais parcourant l'hypothalamus suivant un trajet périventriculaire. Les résultats de HAGINO et YAMAOKA (1976) et de HAGINO et Coll. (1977) corroborent l'existence d'un tractus septo-arcué empruntant le faisceau médian du télencéphale. Ces auteurs prouvent en effet que la destruction électrolytique du septum ou du faisceau médian du télencéphale entraîne la dégénérescence de terminaisons axoniques dans la partie antérieure et médiane du noyau arqué chez le rat.

Les projections des noyaux magnocellulaires du tractus diagonal de Broca vers le tuber médio-basal ne sont pas systématisées chez le rat; elles semblent différentes de celles de l'aire préoptique (FICHERA, 1976) et plutôt comparables à celles du septum (CONRAD et PFAFF, 1976, a). Pourtant, les résultats obtenus par la destruction électrolytique de ces noyaux laissent supposer que leurs éléments établissent une relation directe avec les neurones du noyau arqué (KOVES et RETHELYI, 1976).

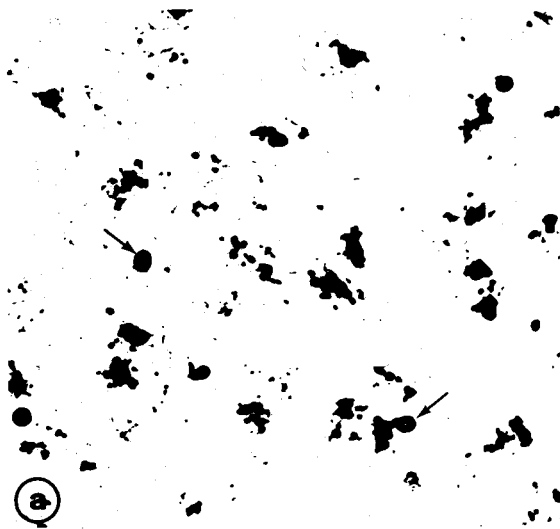
### 3) Projections du tuber médio-basal afférentes à l'aire septopréoptique

Chez le rat, CONRAD et PFAFF (1976, b) ainsi que KRIEGER et Coll. (1978) mettent en évidence par la technique autoradiographique la présence d'un groupe de fibres issues de l'hypothalamus médio-basal (région du noyau arqué - éminence médiane) remontant, sans emprunter le faisceau médian du télencéphale, en direction de l'aire préoptique et de structures plus antérieures tels les noyaux du tractus diagonal de Broca et le septum.

FIGURE 28 . Eléments contenant une substance endogène  
révélée par la diamino-benzidine et réaction produite  
à proximité du site d'injection de la peroxydase .

- a . Aspect caractéristique de la région préoptique périventriculaire chez un animal témoin . Noter les hématies (flèches) et l'abondance des éléments ayant réagi au traitement histochimique . Gr.x375 .
- b . Détail d'un élément présentant une réaction granuleuse dans la même région, chez un animal témoin . Gr.x1125 .
- c . Zone de diffusion de la peroxydase . Présence de fibres marquées de manière homogène s'échappant du site d'injection . Gr.x275 .
- d . Zone de diffusion de la peroxydase . Présence de corps cellulaires et de prolongements révélés par leur coloration brune uniforme . Gr.x275 .
- e . Site d'injection et zone de diffusion de la peroxydase . Le site d'injection est délimité par le trait blanc (SI) . Présence d'éléments marqués de manière homogène dans la zone de diffusion . Gr.x375 .
- f . Réaction produite à proximité du site d'injection de la peroxydase . Présence de fibres uniformément marquées, d'hématies (flèches) et d'éléments phagocytaires arborisés . Région du noyau arqué . Gr.x500 .
- g . Elément phagocytaire contenant des corps globuleux de taille inégale observé à proximité du site d'injection de la peroxydase . Gr.x1600 .
- h . Elément phagocytaire situé au contact d'un capillaire (c) . Noter les corps globuleux réactifs à l'apex de la cellule et dans un de ses prolongements . Gr.x1600 .

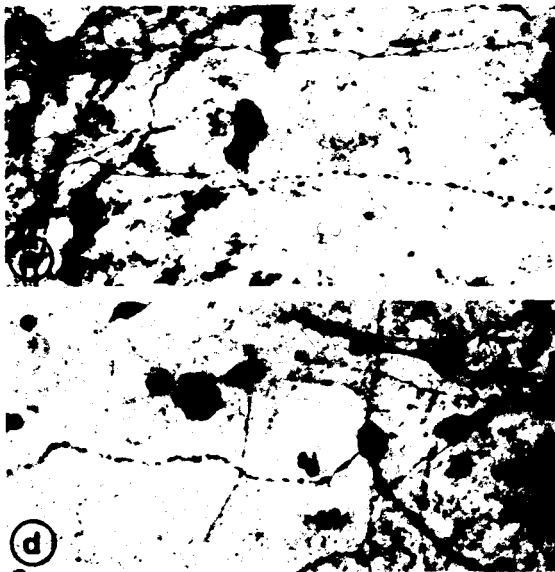
Coupes non colorées . Fond clair .



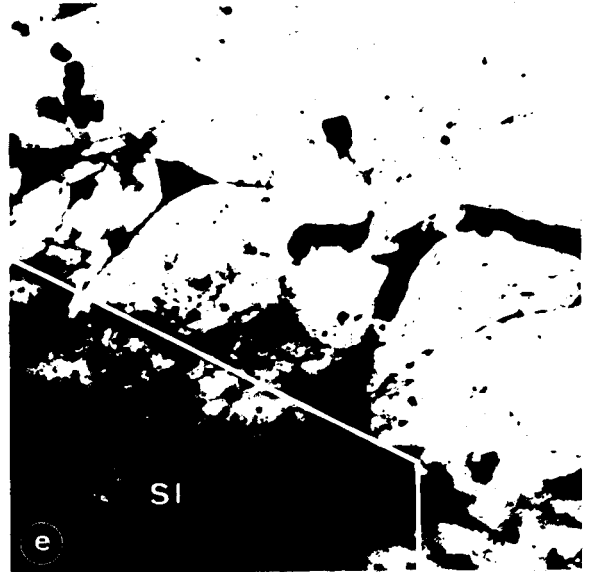
(a)



(b)



(c)



(d)

SI



(e)



(f)

c



## B. RECHERCHES PERSONNELLES SUR LES RELATIONS SEPTOPREOPTICO-TUBERALES

### RESULTATS

L'étude porte sur 25 cobayes. 15 animaux reçoivent une injection de peroxydase (0,1 à 0,3  $\mu$ l) dans la région tubérale médio-basale. Des injections plus localisées (0,05  $\mu$ l) sont réalisées sur deux séries de 5 animaux dans la lèvre ventrale de l'éminence médiane ou dans la partie rostrale du noyau arqué. Après une survie de 17 à 29 heures, le traitement histochemique met en évidence les fibres ayant participé au transport rétrograde de l'enzyme ainsi que les péricaryons d'origine. Avant de détailler leur localisation, nous examinons successivement l'aspect de la réaction observée à proximité du site d'injection et signalons les observations réalisées chez l'animal témoin.

#### 1) Eléments contenant une substance endogène réactive chez l'animal témoin

L'examen des coupes histologiques réalisées à partir du cerveau d'animaux témoins (c'est-à-dire n'ayant pas reçu d'injections intracérébrales de peroxydase) et traitées par la di-amino-benzidine (DAB) en présence d'eau oxygénée révèle la présence de cellules marquées groupées en grand nombre dans des régions bien délimitées et conférant à ces dernières un aspect piqueté et charbonneux (Fig. 28, a).

Au fort grossissement, il apparaît que ces cellules comportent des corps globuleux de teinte noire encombrant le cytoplasme et dessinant des prolongements observés jusqu'à une très faible distance des corps cellulaires (Fig. 28, b). Les granules s'accumulent parfois à l'apex d'une cellule ou envahissent totalement le cytoplasme. Ces granules ne sont pas fluorescents et sont moins apparents lors de l'observation microscopique en fond noir.

Des cellules marquées, de petite taille, vraisemblablement d'origine névroglie, sont découvertes en contact étroit avec les ventricules cérébraux. Elles occupent la totalité de la partie périventriculaire du noyau arqué, avec une extension latérale de 500  $\mu$  environ par rapport au 3ème ventricule, ainsi que la partie interne de l'éminence médiane. Elles accompagnent le 3ème ventricule sous la forme d'un liseré subépendymaire et se concentrent

FIGURE 29 . Marquage homogène (de type diffus) .

- a . Marquage homogène des tanocytes après une injection de peroxydase limitée à l'éminence médiane . 3V : 3ème ventricule . Fond clair .
- b . Fibres nerveuses en position périventriculaire et sub-commissurale .
- c . Fibre nerveuse surplombant le chiasma optique .
- d . Fibres nerveuses en position périventriculaire, dans la région rétro-chiasmatique .

Coupes non colorées . b, c et d : fond noir .

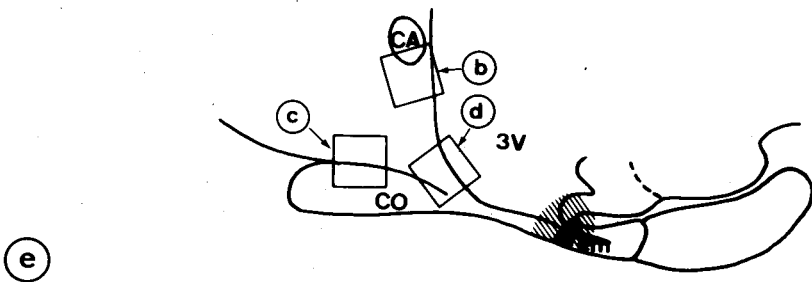
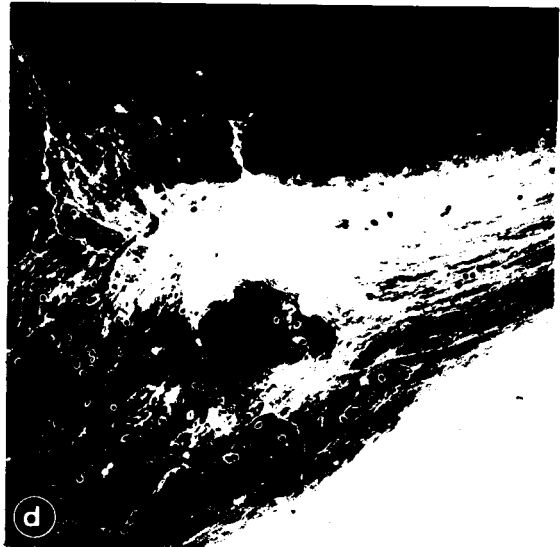
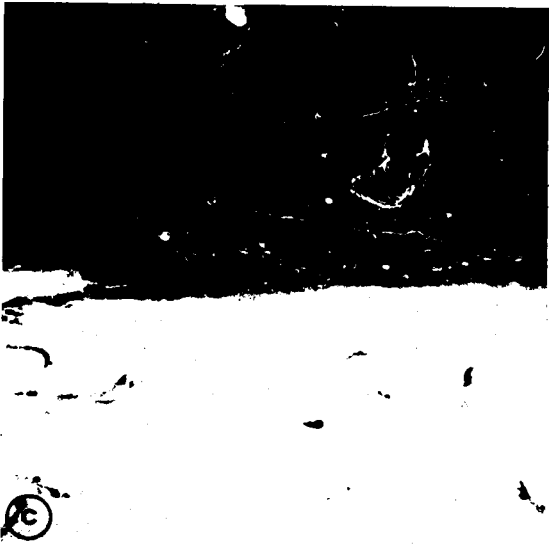
Gr.x350 .

- e . Schéma d'une coupe longitudinale parasagittale permettant de situer l'emplacement des figures b, c et d (régions encadrées) .

Le site d'injection de la peroxydase ( en noir) ainsi que la zone de diffusion (hachures) couvrent l'ensemble de la région infundibulaire .

CA : commissure blanche antérieure, CO : chiasma optique, em : éminence médiane, 3V : 3ème ventricule .





RUS  
LILEE

en avant dans l'aire préoptique périventriculaire, envahissant la région comprise entre le chiasma optique et la commissure blanche antérieure. Elles ne sont pas observées dans le septum.

Chez les animaux témoins, les hématies découvertes dans la lumière des vaisseaux sanguins présentent une réaction typique caractérisée par une teinte brunâtre uniforme (Fig. 28, a).

## 2) Examen de la réaction produite au site d'injection

Aucun élément cellulaire ne peut être identifié dans la région entourant la trace laissée dans le tissu par l'extrémité de l'aiguille du dispositif d'injection. Cette région délimite le site de l'injection et se caractérise par une teinte brune très sombre (Fig. 28, e). Elle est entourée d'un halo traduisant la diffusion de l'enzyme dans le tissu nerveux à partir du site d'injection. Ce halo de diffusion est caractérisé par une teinte qui pâlit progressivement dans un dégradé passant du brun sombre au jaune clair. La zone de diffusion contient un grand nombre de péricaryons et de prolongements révélés par un marquage homogène (Fig. 28, e). Ce type de marquage, comparable à celui obtenu après une imprégnation par la méthode de Golgi, permet l'analyse détaillée de la morphologie des éléments qui se détachent "en négatif" de la coloration de fond (Fig. 28, d). Les franges de la zone de diffusion sont traversées par des fibres nerveuses (Fig. 28, c), parfois groupées en faisceaux, qui s'échappent de la zone d'injection et sont remarquées grâce à leur coloration brune uniforme.

Des leucocytes, contenant des granules de peroxydase réactifs et trahissant un phénomène inflammatoire local, sont très abondants au pourtour de la zone de diffusion.

Des éléments phagocytaires (microglie et astrocytes), ayant incorporé l'enzyme, sont identifiés par la présence d'une réaction intense se présentant sous un aspect granulaire. Des petites cellules (microglie ?) concentrent cette réaction dans des granules de petite taille qui dessinent de nombreuses arborisations et confèrent à la région un aspect piqueté caractéristique (Fig. 28, f). Des cellules de grande taille (astrocytes), souvent groupées autour de la lumière des vaisseaux, contiennent de grosses vésicules de taille inégale donnant au cytoplasme un aspect vacuolaire (Fig. 28, g) ; ces vésicules sont fréquemment localisées à l'apex des cellules et s'engagent dans de longs prolongements qui entrent en contact avec la paroi endothéliale



des vaisseaux voisins (Fig. 28, h) (il faut noter que les éléments marqués associés aux vaisseaux sanguins accompagnent ces derniers jusqu'à une grande distance du site d'injection et sont découverts dans les régions préoptique et septale).

Enfin, lorsque les injections sont limitées au noyau arqué et à l'éminence médiane, on constate la coloration uniforme des tancytes (Fig. 29, a et 34, a) mais uniquement de ceux dont les prolongements aboutissent à la région injectée.

### 3) Examen de la réaction produite à distance

Après l'injection de la peroxydase dans la région infundibulaire, il est possible de détecter la présence :

- de fibres nerveuses caractérisées par leur marquage homogène ou de type diffus
- de péricaryons caractérisés par un marquage "organisé" dans des organites cytoplasmiques ou de type granulaire.

#### a) Identification des fibres nerveuses

Les fibres nerveuses présentant un marquage de type diffus sont suivies sur une grande distance, latéralement jusqu'à la capsule interne, antérieurement jusqu'à la région préoptique. La course des fibres nerveuses se poursuit rarement au-delà d'un axe formé par l'alignement de la commissure blanche antérieure et du chiasma optique ; leur trajet est donc suivi sur une distance de 3,5 mm environ.

L'examen des coupes longitudinales réalisées chez un animal ayant reçu une injection dans la région infundibulaire (Fig. 29, e) permet de préciser que les fibres marquées poursuivent un trajet périventriculaire, remontent le long du 3ème ventricule (Fig. 29, d) pour aboutir à proximité de la commissure blanche antérieure (Fig. 29, b). D'autres fibres, moins nombreuses, se détachent du faisceau périventriculaire dans la région rétrochiasmatische (Fig. 29, d) et continuent leur progression vers l'avant, en position supra-chiasmatische, jusqu'à la crête supra-optique (Fig. 29, c).

FIGURE 30 . Marquage des péricaryons (de type granulaire) après injection de peroxydase dans la région infundibulaire . Coupes longitudinales .

- a . Péricaryon de l'aire préoptique médiane . Un de ses prolongements est suivi sur une courte distance (flèche) . Fond noir .
- b . Péricaryon de noyau paraventriculaire . Remarquer la taille identique des grains, qui épargnent la région du noyau et s'engagent dans un prolongement . Coloration : Crésyl violet . Fond clair .
- c . Péricaryon du noyau préoptique suprachiasmatique .  
CO : chiasma optique . Fond noir .
- d . Péricaryon du noyau septal latéral situé à proximité du ventricule latéral (VL) . Fond noir .
- e . Aspect multipolaire d'un autre péricaryon découvert dans le noyau septal latéral . Fond noir .
- f . Groupe de 3 péricaryons situé dans le noyau septal latéral . Fond noir .
- g . Péricaryon de forte taille observé dans la région septale médiane .  
Fond noir .

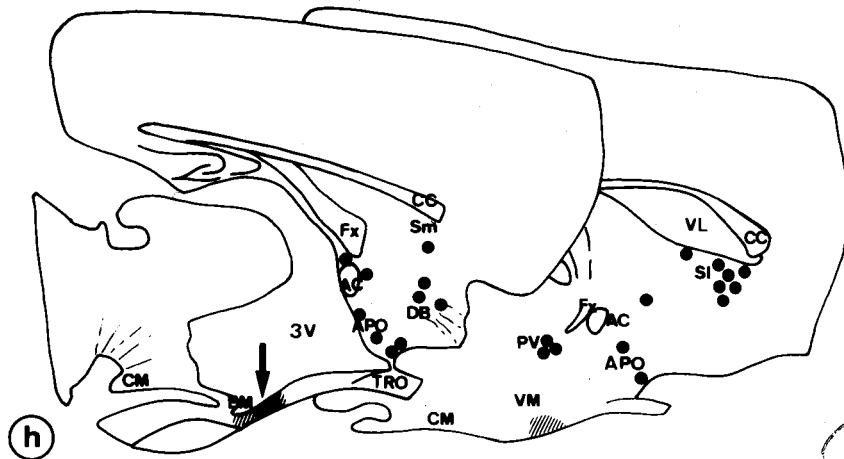
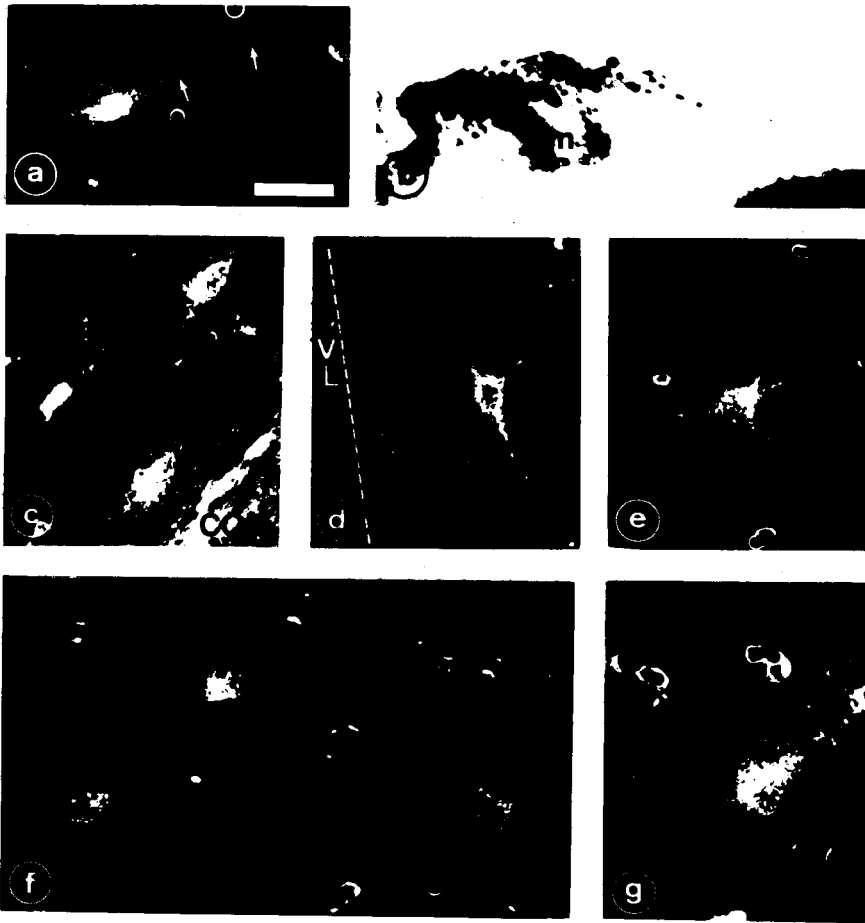
Coupes non colorées sauf b.

Echelle (en a) :  $28 \mu$  pour a, c, d, e, f et g ;

$7 \mu$  pour b .

- h . Localisation des régions contenant des péricaryons marqués après injection de peroxydase dans la région infundibulaire (flèche) présentée sur les schémas de 2 coupes longitudinales séparées par  $720 \mu$  . Les points figurent les zones où le plus grand nombre de cellules marquées est observé .

AC : commissure blanche antérieure, APO : aire préoptique, CC : corps calleux, CM : corps mamillaire, DB : tractus diagonal de Broca, EM : éminence médiane, Fx : fornix, PV : noyau paraventriculaire, Sl : septum latéral, Sm : septum médian, TRO : tractus optique, VL : ventricule latéral, VM : noyau ventro-médian, 3V : 3ème ventricule .



BUS  
 LILL

### b) Identification des péricaryons

Le marquage type granulaire des péricaryons observés dans l'hypothalamus et le septum est caractérisé par une abondance de petits grains de teinte brunâtre, de taille uniforme comprise entre 0,5 et 1  $\mu$ , envahissant le soma et les prolongements proximaux, mais épargnant la zone nucléaire (Fig. 30, b). La granulation intracellulaire, qui n'est jamais associée à une teinte uniforme du cytoplasme, est particulièrement bien mise en évidence lors de l'observation microscopique en fond noir.

Nous examinons successivement la distribution des péricaryons observés dans l'hypothalamus et le septum après les injections réalisées dans la région du tuber médio-basal et celles localisées à l'éminence médiane et à la région antérieure du noyau arqué.

### a) Topographie des corps cellulaires des neurones afférents à la région infundibulaire

Les sites d'injection et les zones de diffusion de la peroxydase s'étendent à l'éminence médiane et aux structures avoisinantes : noyau arqué et limite interne des noyaux ventro-médians (Fig. 30, h).

Les péricaryons sont observés dans les régions suivantes :

- noyaux paraventriculaires (Fig. 30, b).
- aire préoptique médiane (Fig. 30, a) et suprachiasmatique (Fig. 30; c).
- région de la commissure blanche antérieure.
- crête supra-optique.
- noyaux du tractus diagonal de Broca.
- région septale médiane (Fig. 30, g) et latérale (Fig. 30, d, e et f).

C'est dans la région préoptique suprachiasmatique (Fig. 30, c) et dans la région septale latérale (Fig. 30, f) que les cellules sont observées en plus grand nombre, souvent regroupées.

La forme ovoïde et bipolaire des corps cellulaires de la région préoptique contraste avec l'aspect multipolaire de ceux du septum, qui (en particulier dans sa région médiane) sont de taille supérieure.

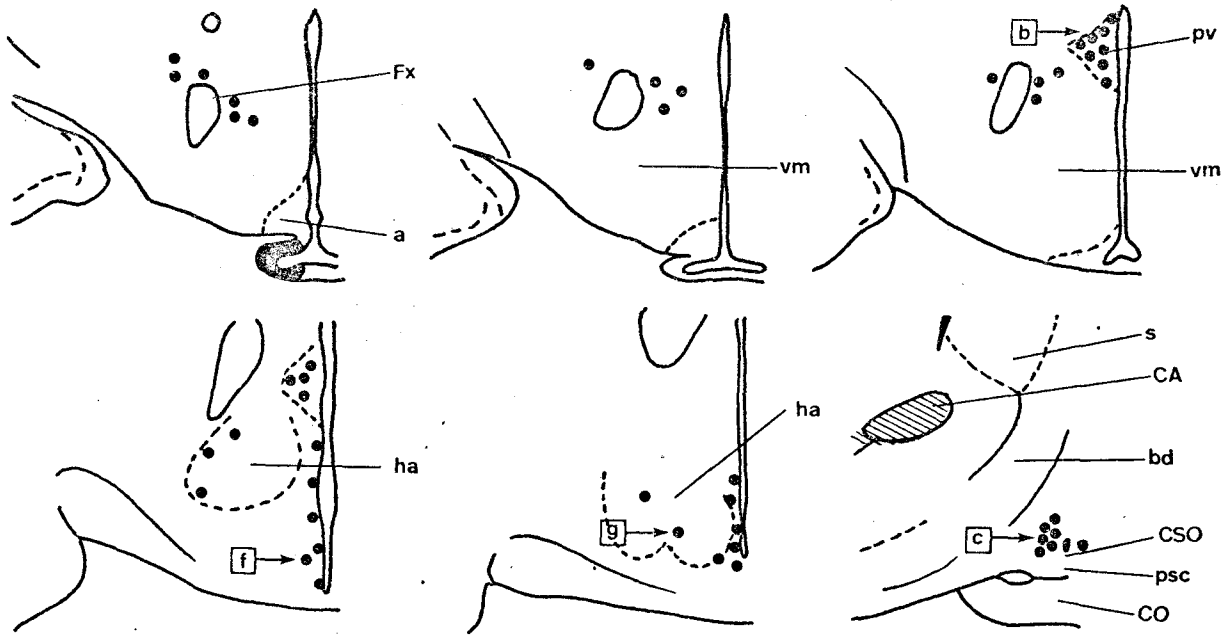


FIGURE 31 . Topographie des péricaryons des neurones afférents à l'éminence médiane .

Les régions contenant des corps cellulaires présentant un marquage de type granulaire après injection de peroxydase dans l'éminence médiane (site d'injection en noir) sont représentées dans des plans frontaux par les points . Les lettres encadrées renvoient aux photos correspondantes de la Fig.32 .

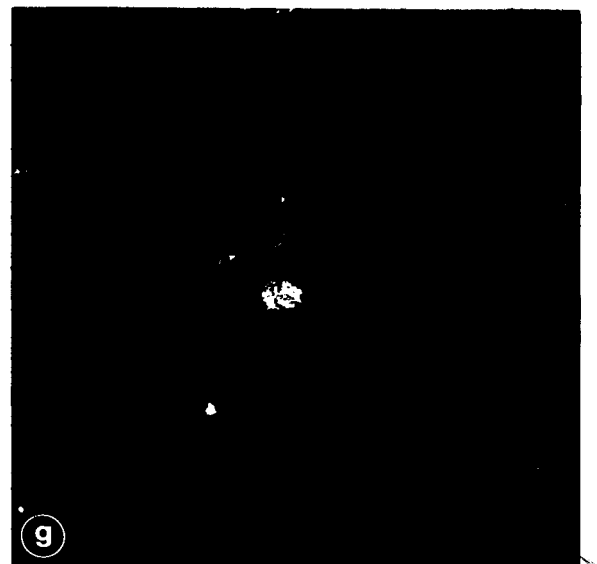
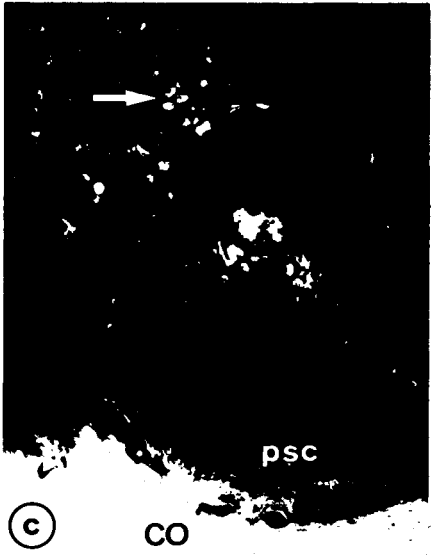
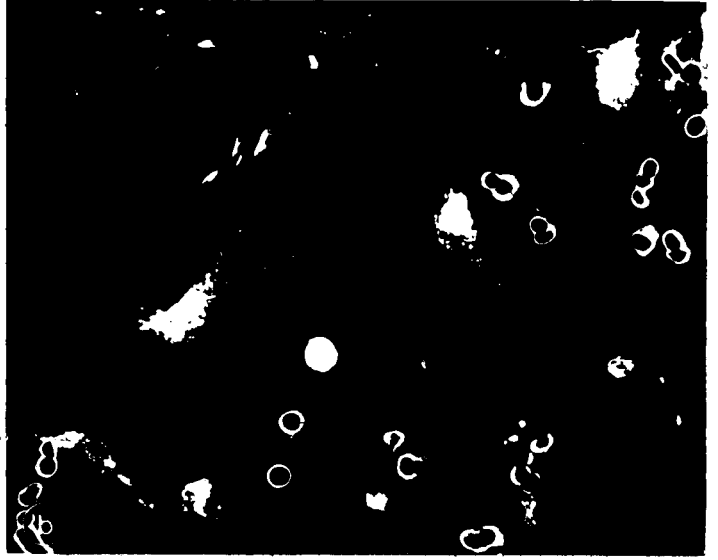
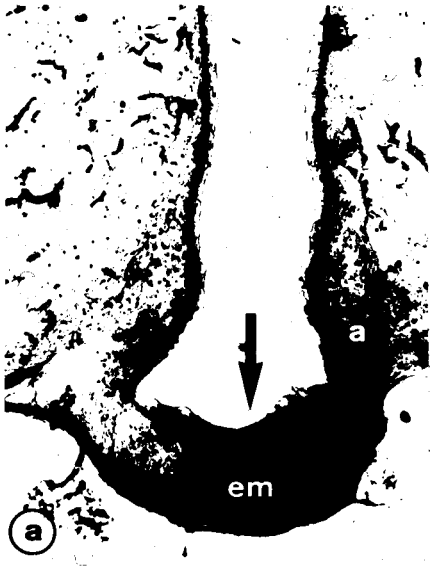
a : noyau arqué, bd : noyau dorsal du tractus diagonal de Broca, CA : commissure blanche antérieure, CO : chiasma optique, CSO : crête supra-optique, Fx : fornix, ha : noyau hypothalamique antérieur, psc : noyau préoptique supra-chiasmatique, pv : noyau paraventriculaire, s : septum, vm : noyau ventro-médian

FIGURE 32 . Injection de peroxydase dans la lèvre ventrale de l'éminence médiane . Coupes frontales .

- a . Site de l'injection (flèche) . a : noyau arqué, em : éminence médiane . Fond clair . Gr.x27,5 .
- b . Péricaryons marqués dans le noyau paraventriculaire . Fond noir . Gr.x375
- c . Groupe de péricaryons marqués au voisinage de la crête supra-optique (CSO) . CO : chiasma optique, psc : noyau préoptique suprachiasmatique . Fond noir . Gr.x100 .
- d . Agrandissement d'une partie de la figure c, indiquée par une flèche . Fond noir . Gr .x800 .
- e . Même groupe de péricaryons qu'en c et d, en fond clair . Gr.x800 .
- f . Péricaryon marqué dans la région hypothalamique antérieure, en position périventriculaire . Noter le long prolongement . Fond noir . Gr.x375 .
- g . Péricaryon marqué dans le noyau hypothalamique antérieur . Fond noir . Gr.x375 .

Coupes non colorées .





β) Topographie des corps cellulaires des neurones afférents à la lèvre ventrale de l'éminence médiane

Le site d'injection de la peroxydase est limité à l'éminence médiane (Fig. 32, a). La zone de diffusion de l'enzyme atteint parfois les éléments du noyau arqué. L'identification des péricaryons réalisée sur coupes frontales permet une description précise des structures contenant des éléments à destinée infundibulaire (Fig. 31 et 32).

Des cellules de grande taille (20 à 30  $\mu$ ) sont découvertes en position périfornicale et groupées dans les limites des noyaux paraventriculaires (Fig. 32, b). Des cellules de plus petite taille (10 à 15  $\mu$ ) existent en grand nombre le long du 3ème ventricule, au niveau de l'aire hypothalamique antérieure (Fig. 32, f). D'autres sont dispersées au sein de l'aire hypothalamique antérieure (Fig. 32, g). Plus en avant, des corps cellulaires marqués sont identifiés dans la région préoptique médio-basale (noyaux préoptiques périventriculaires, médiaux et suprachiasmatiques). Des cellules de plus grande taille (20 à 25  $\mu$ ) sont abondantes dans la région de la crête supraoptique et il n'est pas rare à ce niveau de découvrir des concentrations d'une dizaine de péricaryons marqués, certains étant intimement juxtaposés (Fig. 32, c, d et e). Toutes les cellules de petite taille, ainsi que celles identifiées dans la région de la crête supra-optique, sont de forme ovoïde et leurs prolongements <sup>me</sup> sont qu'exceptionnellement visibles.

γ) Topographie des corps cellulaires des neurones afférents au noyau arqué

Lorsque le site d'injection ne couvre que la partie rostrale du noyau arqué (Fig. 34, a), aucun corps cellulaire marqué n'apparaît dans l'hypothalamus avant la limite postérieure des noyaux préoptiques médiaux (Fig. 33). Des péricaryons très nombreux, de petite taille (15 à 20  $\mu$ ), d'aspect le plus souvent multipolaire, sont regroupés dans la région séparant la crête supraoptique et le noyau ventral du tractus diagonal de Broca (Fig. 34, e). D'autres sont dispersés dans les noyaux ventraux et dorsaux du tractus diagonal de Broca (Fig. 34, f). Des péricaryons d'une taille supérieure (atteignant 25  $\mu$ ) sont découverts dans les noyaux septaux (Fig. 34, b, c et d) en particulier dans la partie médiane des noyaux septaux latéraux (Fig. 34, b).

FIGURE 33. Topographie des péricaryons des neurones afférents  
au noyau arqué .

Les régions contenant des corps cellulaires présentant un marquage de type granulaire après injection de peroxydase dans le noyau arqué (site d'injection en noir) sont représentées dans des plans frontaux par des points .

Les lettres encadrées renvoient aux photos correspondantes de la Fig. 34 .

a: noyau arqué ; bd: noyau dorsal du tractus diagonal de Broca ; bv: noyau ventral du tractus diagonal de Broca ; CA: commissure blanche antérieure ; CO: chiasma optique ; IC: îlots de Calleja ; pml: noyau préoptique médial ; psc: noyau préoptique suprachiasmatique ;sl: noyau septal latéral .



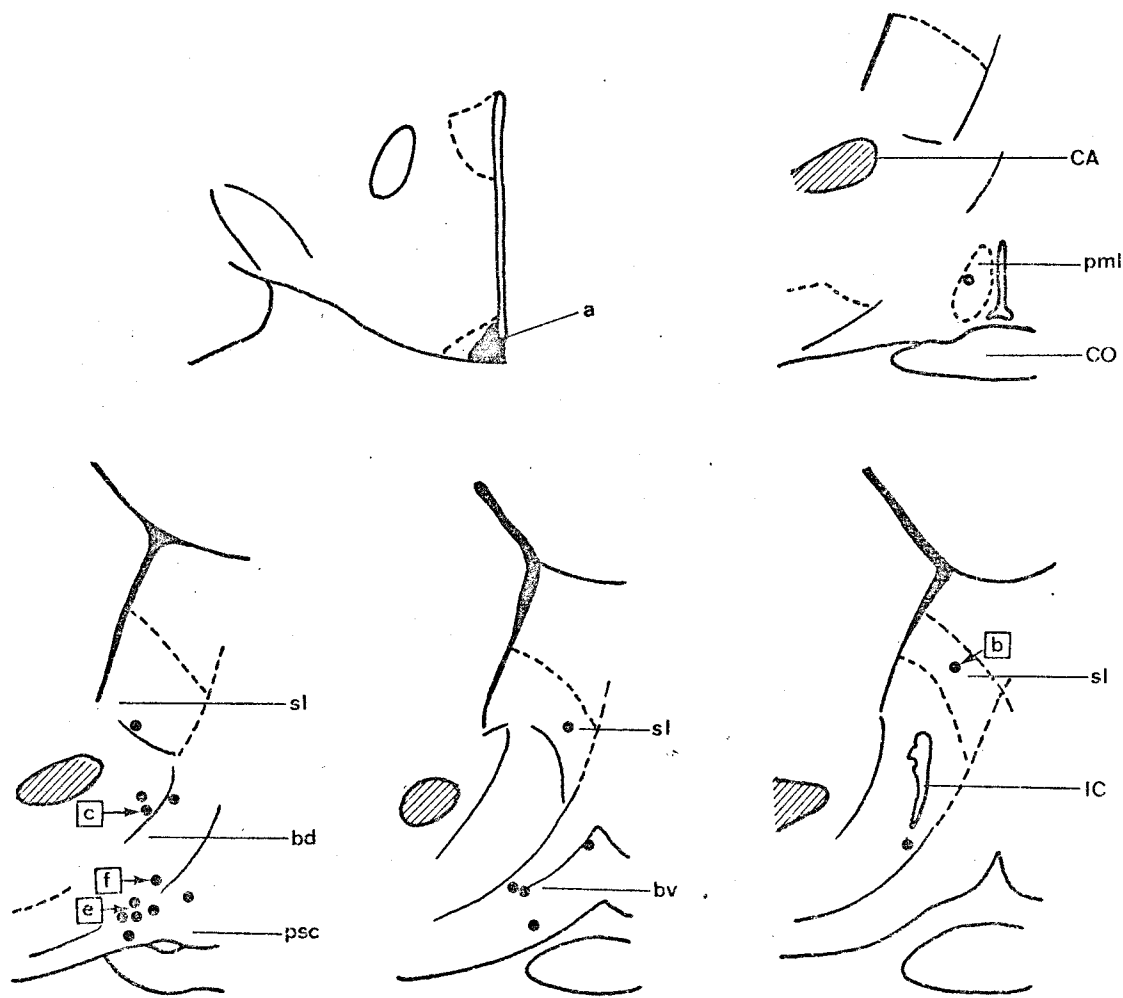


FIGURE 33.

## DISCUSSION

La méthode neuroanatomique utilisée (LA VAIL et LA VAIL, 1972) est basée sur le transport rétrograde de la peroxydase (KRISTENSSON et OLSSON, 1971). Les mécanismes par lesquels s'effectuent sa migration intra-axonale à partir du site d'injection et son stockage intra-péricaryal sont peu connus.

### 1) Aspects méthodologiques

#### a) Types de marquage

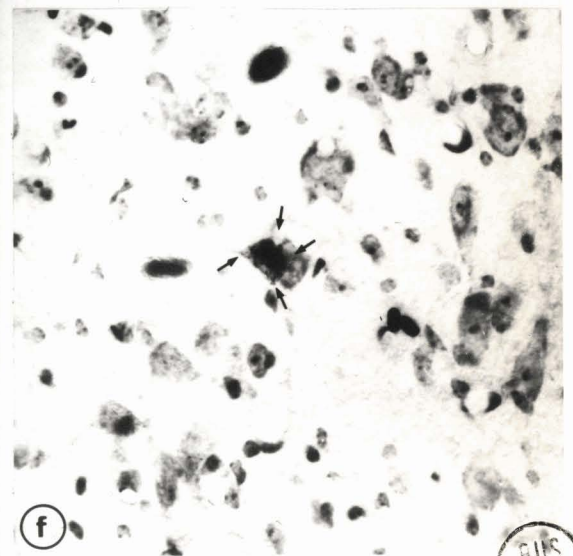
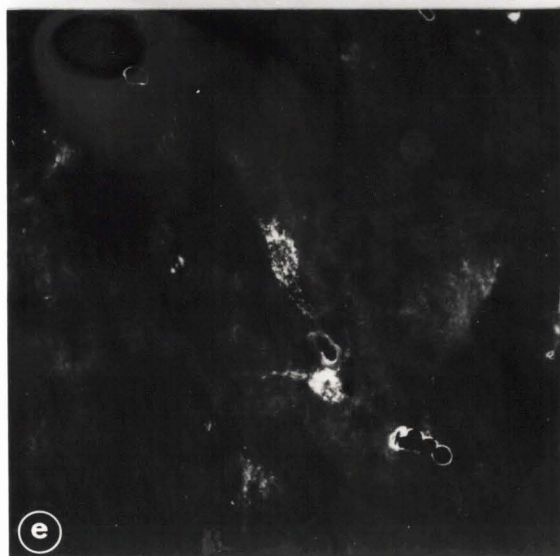
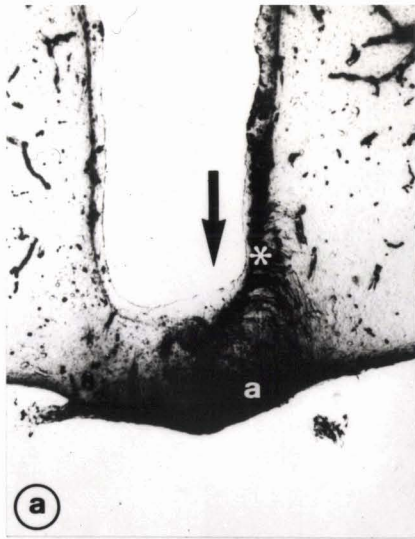
Le marquage est dû à l'affinité de l'enzyme envers la DAB en présence d'eau oxygénée, qui conduit à la formation d'un précipité décelable au microscope optique. Afin d'éliminer tout risque d'erreur dans l'interprétation des résultats, il faut bien différencier la réaction obtenue après le transport rétrograde de la peroxydase injectée de celle due à la présence

FIGURE 34 . Injection de peroxydase dans la partie rostrale du noyau arqué . Coupes frontales .

- a . Site de l'injection (flèche) . Observer le marquage homogène des tanycytes (astérisque) . a : noyau arqué, em : éminence médiane .  
Fond clair . Gr.x27,5 .
- b . Péricaryon marqué (cercle) dans le noyau septal latéral .  
VL : ventricule latéral . Fond noir . Gr.x140 .
- c . Deux péricaryons marqués dans la région du noyau dorsal du tractus diagonal de Broca (flèches) . Fond noir . Gr.x150 .
- d . Détail du péricaryon indiqué par la plus grosse flèche dans la figure c .  
Remarquer ses prolongements marqués . Fond clair . Gr.x525 .
- e . Deux péricaryons marqués dans la région du noyau ventral du tractus diagonal de Broca . Fond noir . Gr.x375 .
- f . Péricaryon marqué (fléché) dans la région du tractus diagonal de Broca .  
Coloration : Crésyl violet . Fond clair . Gr.x375 .

Coupes non colorées, sauf f .





GIS  
LILLE

d'une substance endogène réagissant au cours du traitement histochimique. De même que chez le rat (KEEFER et CHRIST, 1976), de nombreux éléments juxtaventriculaires possédant une substance endogène (péroxydase ; catalase (Mc KENNA et Coll., 1976) ; neuromélanine (MENSAH et FINGER, 1976)) sont identifiés chez l'animal témoin. Le marquage granulaire qui permet leur identification est toutefois assez différent de celui obtenu après transport actif de l'enzyme pour que la confusion soit évitée. De même, celui des cellules névrogliales ayant une forte capacité phagocytique, qui se traduit chez les animaux injectés par des grains de forte taille et de diamètre inégal, ne peut être assimilé au marquage typique des péricaryons après transport rétrograde. Ce marquage caractéristique (de type granulaire) est considéré comme étant l'indice du transport actif de l'enzyme à partir d'une terminaison nerveuse intacte, contrairement au marquage homogène (de type diffus) qui permet d'identifier, par leur teinte brune uniforme, certains éléments à proximité et à distance du site d'injection. Plusieurs études (NAUTA et Coll., 1974) dont certaines concernent l'évolution de la réaction obtenue en fonction du temps de survie de l'animal (BUNT et Coll., 1975 ; HEDREEN et Mc GRATH, 1977) permettent de saisir la chronologie des événements déclenchés par l'injection de l'enzyme et d'établir avec certitude les différences essentielles existant entre ces deux types de marquage :

a) Marquage de type diffus

La coloration uniforme des neurones situés au pourtour de la zone de diffusion de l'enzyme, qui présentent un aspect semblable à celui obtenu par la technique d'imprégnation de Golgi, est due à la migration intracytoplasmique massive de la peroxydase, qui intervient dès les premières minutes suivant l'injection. L'imprégnation intracellulaire, encore décelable au terme d'une survie de 17 à 29 heures, est le résultat du transport passif de la protéine qui est captée par la membrane des éléments (corps cellulaires et fibres nerveuses) exposés à une forte concentration de celle-ci (JONES et LEAVITT, 1974 ; TURNER et HARRIS, 1974 ; LYNCH et Coll., 1974 ; PARENT, 1976). Par contre, le marquage de type diffus des fibres nerveuses observées jusqu'à une grande distance du site d'injection est vraisemblablement le résultat d'une pénétration "par effraction" de la peroxydase dans les éléments traversant la zone d'injection et lésés par le dispositif d'injection.

Une parenthèse doit être ouverte à propos du marquage diffus observé dans les tanycytes lorsque l'injection est limitée au noyau arqué et à l'éminence médiane. Le système tanycytaire, soulignant les parois du 3ème ventricule dans la région infundibulaire, est composé de cellules épendymaires modifiées qui possèdent des prolongements branchus envahissant le neuropile et se terminant à ce niveau ainsi qu'au contact des anses capillaires du plexus porte primaire (Fig. 1). Le marquage diffus et massif des tanycytes est obtenu lors de l'injection de peroxydase dans le ventricule ; il signale l'imprégnation intracellulaire (KOBAYASHI et Coll., 1972 ; LERANTH et SCHIEBLER, 1974) ou la pénétration "par effraction" (WAGNER et PILGRIM, 1974) de l'enzyme. Le même phénomène est observé ici, mais intéresse uniquement les éléments dont les prolongements s'engagent dans la région injectée.

#### β) Marquage de type granulaire

La peroxydase transportée de manière active le long des axones est retrouvée à très grande distance dans les péricaryons sous la forme d'un marquage granulaire. Ce type de marquage n'est jamais associé à une teinte uniforme du cytoplasme des éléments marqués. Celle-ci représente en effet une forme transitoire du marquage après transport actif et disparaît progressivement au fur et à mesure de l'accumulation, puis de l'inactivation continues de l'enzyme dans les organites cytoplasmiques. L'obtention d'un marquage granulaire typique (constitué d'éléments de taille et de forme identiques) est le résultat de l'équilibre entre ces deux processus et cette forme de marquage atteint son maximum d'intensité entre 12 heures et 24 heures de survie (HALPERIN et LAVAIL, 1975 ; WALBERG et Coll., 1977 ; HEDREEN et Mc GRATH, 1977 ; SAKAI et Coll., 1977).

S'il est considéré que la détection d'un marquage granulaire, au terme d'une survie de 17 à 29 heures, est l'indice d'un transfert actif intra-axonal de l'enzyme, trois incertitudes subsistent, qui peuvent compromettre la validité de la méthode et les conclusions auxquelles son application peut mener. La première concerne les limites exactes de la zone à partir de laquelle le transport actif prend naissance ; la seconde concerne la pénétration, puis le transport possibles de l'enzyme dans des fibres traversant cette zone mais ayant une destination tout-à-fait différente ; la troisième

enfin concerne la faculté de pouvoir de déceler, grâce à cette méthode, la totalité des populations neuroniques afférentes à la région injectée.

b) Lieu d'origine du transport rétrograde

L'un des avantages de la technique consistant en l'injection de très faibles volumes ( $0,05 \mu\text{l}$ ) de peroxydase dans l'éminence médiane et dans la région antérieure du noyau arqué est de préciser la topographie des corps cellulaires donnant naissance à des projections distinctes vers ces deux régions. Mais la grande proximité de ces deux structures fait craindre que l'enzyme injectée dans l'une ne diffuse vers l'autre et que de ce fait le problème concernant le site exact de l'aboutissement de l'axone du neurone marqué ne puisse être résolu. En effet, la peroxydase a la propriété de progresser dans le tissu par diffusion et d'être entraînée par le flux extracellulaire jusqu'à une certaine distance du site d'injection. Il est donc nécessaire de mettre en corrélation l'étendue de la région atteinte par l'injection (site d'injection + zone de diffusion de l'enzyme) et les limites réelles de la région qui est à l'origine des processus du transport actif. Cette corrélation est possible dans différents systèmes et les résultats sont les suivants :

- des injections multiples et voisines permettent l'identification des projections distinctes, en dépit de la confluence des zones de diffusion résultant d'injections individuelles (JONES, 1975 ; BUNT et Coll., 1975).

- lorsque la progression de la zone de diffusion de l'enzyme (en fonction du temps de survie) est mise en parallèle avec la situation des régions contenant des corps cellulaires marqués, il apparaît que la diffusion débute après que les neurones n'aient entamé le processus du transport axonal. Probablement facilitée par une réaction inflammatoire locale, elle ne conduit pas au transport intra-axonal rétrograde de l'enzyme (VANEGAS et Coll., 1978). On peut donc penser que le transport rétrograde ne prend naissance qu'au lieu initial de l'injection et que la proximité des structures injectées ne compromet pas l'identification de projections distinctes vers ces régions.

c) Transport rétrograde à partir de fibres lésées

S'il est bien prouvé que les axones intacts ont la possibilité de capter l'enzyme de manière physiologique au niveau de leurs terminaisons (LA VAIL et LA VAIL, 1974), il apparaît aussi que des axones sectionnés peuvent aussi bien incorporer et transporter l'enzyme jusqu'au péricaryon, où une réaction granulaire apparaît, parfois accompagnée d'une teinte homogène du cytoplasme (KRISTENSSON et OLSSON, 1974 ; DE VITO et Coll., 1974 ; FURSTMAN et Coll., 1975 ; HALPERIN et LA VAIL, 1975 ; COLMAN et Coll., 1976). En réalité la distinction est, à priori, impossible à effectuer entre les corps cellulaires identifiés après un transport rétrograde ayant eu lieu le long d'axones intacts ou sectionnés. Ce problème remet évidemment en question la validité de la méthode neuro-anatomique, si l'on considère que les fibres nerveuses transitant à travers la région injectée vers une direction inconnue et lésées par le dispositif d'injection, peuvent donner naissance au marquage granulaire à distance des péricaryons d'origine.

Un argument permet cependant d'étayer l'hypothèse selon laquelle le marquage granulaire des péricaryons est bien obtenu à partir de terminaisons nerveuses intactes. La coloration homogène (type diffus) des fibres observées à distance du site d'injection est le résultat d'une diffusion intra-axonale de la peroxydase à partir d'une portion de membrane lésée. Elle caractérise sa migration passive après pénétration "par effraction" dans des axones sectionnés (BUNT et Coll., 1975 ; KRISTENSSON et OLSSON, 1976 ; ADAMS et WARR, 1976) ou dans des corps cellulaires (dans le cas d'une injection intracellulaire : JANKOWSKA et Coll., 1976). Après transport actif, la coloration homogène disparaît dans les péricaryons et le marquage granulaire typique la remplace entre 12 et 24 heures (cf supra). Le fait de découvrir chez nos animaux, après 17 à 29 heures de survie la présence de fibres ayant conservé leur coloration homogène à distance suggère qu'elles sont les seuls témoins de l'imprégnation massive qui affecte les axones parcourant le site d'injection. Cette imprégnation ne subsiste que dans ceux qui sont détruits par le dispositif d'injection (HEDREEN et Mc GRATH, 1977), l'enzyme y étant retenue plus facilement que dans les axones intacts, selon un phénomène lié à leur dégénérescence (LA VAIL, 1975). A l'appui de cette suggestion, vient le fait que les axones des neurones identifiés par leur marquage granulaire ne sont eux-mêmes jamais visibles. Tout au plus en observe-t-on de courts

fragments, d'aspect granuleux, contrastant avec celui, homogène, des fibres retrouvées à distance du site d'injection.

En conclusion, ces arguments permettent de penser que le marquage granulaire qui caractérise les péricaryons est bien obtenu à partir de terminaisons nerveuses intactes et que la méthode employée assure une définition correcte des projections afférentes à la région injectée.

#### d) Limitations de la topographie obtenue

La méthode permet-elle d'obtenir la topographie complète des neurones se projetant vers le site d'injection ? Plusieurs remarques conduisent à répondre à cette question par la négative :

- d'une part, la faculté que possède le neurone d'engager un processus de transport rétrograde aboutissant à un marquage décelable du péricaryon est proportionnelle à la quantité de terminaisons offertes à l'enzyme par son axone (LA VAIL, 1975). En fonction de la morphologie particulière de leurs extrémités, les axones d'une même projection sont plus ou moins aptes à capter une quantité suffisante de peroxydase pour que l'identification des corps cellulaires soit possible. D'autre part, la présence de collatérales axoniques, suspectée au cours des investigations électrophysiologiques, peut provoquer la dispersion du traceur qui, de ce fait, n'atteint pas en quantité suffisante le cytoplasme du corps cellulaire.

- ces remarques soulèvent en plus le problème de la sensibilité de la technique de révélation qui ne permet peut-être pas la détection de quantités infimes de peroxydase néanmoins présentes dans certains corps cellulaires.

- il faut ajouter enfin la capacité intrinsèque du neurone pour le transport rétrograde, qui dépend en premier lieu du diamètre de la branche axonale donnant naissance aux terminaisons et en second lieu de la puissance du flux axonal rétrograde. Celle-ci est en rapport avec l'activité électrique du neurone considéré (HOLTZMAN et Coll., 1971 ; LITCHY, 1973 ; HEUSER et REESE, 1973 ; SINGER et Coll., 1977 ; DOLIVO et Coll., 1977). Ces remarques indiquent que certains systèmes, bien décrits à l'aide d'autres techniques, ne pourront qu'être difficilement identifiés par la méthode de la peroxydase (SEGAL et LANDIS, 1974) et rendent nécessaire une confrontation entre les résultats auxquels elle mène et ceux recueillis par d'autres



méthodes.

2) Identification neuro anatomique des neurones afférents à la région infundibulaire

La démonstration d'une projection directe des neurones des noyaux préoptiques et suprachiasmatiques, des noyaux du tractus diagonal de Broca et du septum, vers la région tubérale médio-basale chez le cobaye est la première qui soit réalisée par la méthode de la peroxydase (POULAIN, 1977). Au sein de cette projection se distinguent deux composants spécifiques. Le composant destiné à la partie rostrale du noyau arqué provient essentiellement des noyaux du tractus diagonal de Broca et des noyaux septaux (noyau septal médian et partie médiane des noyaux septaux latéraux). Ce résultat est en accord avec l'existence d'un tractus septo-arcué démontré chez le rat grâce à l'application d'autres techniques neuro-anatomiques. Il apporte en plus la preuve que des neurones des noyaux du tractus diagonal de Broca s'engagent avec ceux du septum antérieur dans une projection à destinée commune. Plus rares sont ceux de l'aire préoptique qui établissent le même type de relation. Ils sont localisés dans l'aire préoptique médio-basale et la crête supra-optique. Le composant destiné à la lèvre ventrale de l'éminence médiane naît principalement de la région périventriculaire de l'aire hypothalamique antérieure et de l'aire préoptique. Ce résultat apporte un argument en faveur de l'existence d'une relation directe préoptico-infundibulaire, qui reste le sujet de discussions chez le rat. Une projection homogène des neurones de la région de la crête supra-optique vers l'éminence médiane est démontrée par l'abondance et la taille particulière des péricaryons qui y sont regroupés.

Nos résultats mettent également en évidence l'existence, dans l'hypothalamus moyen, de neurones se projetant directement vers l'éminence médiane. Leur localisation est notée mais ne fait pas l'objet d'une description précise. Parmi eux, il faut souligner, du fait de leur abondance, la présence de neurones groupés dans les limites des noyaux paraventriculaires. Leur diamètre est comparable à celui des éléments de petite taille occupant la région médiane de ces noyaux chez le cobaye. L'existence d'une projection des neurones paraventriculaires vers la région externe de l'éminence médiane est supposée chez le rat à la lueur d'observations électrophysiologiques

(HARRIS et SANGHERA, 1974 ; FREUND-MERCIER et RICHARD, 1977), immuno-  
histologiques (VANDESANDE et Coll., 1977 ; DEFENDINI et ZIMMERMAN, 1978)  
et radioautographiques (ALONSO et Coll., 1978).

## CONCLUSION

### DE LA DEUXIEME PARTIE

En dépit des incertitudes inhérentes aux deux méthodes employées, la comparaison des résultats obtenus révèle que les topographies des corps cellulaires identifiés par l'une et par l'autre sont superposables. L'existence d'une relation asynaptique entre l'aire septopréoptique et la région infundibulaire prise dans son ensemble est démontrée. La topographie comparée des neurones identifiés révèle une concordance parfaite en ce qui concerne :

- la concentration dans la région préoptique médio-basale, autour du récessus préoptique du 3ème ventricule et au voisinage de la crête supra-optique, d'éléments se projetant directement vers l'éminence médiane.

- la présence dans la région caudale de l'aire préoptique (dans les limites des noyaux préoptiques périventriculaires et médiaux) d'éléments établissant le même type de projection.

- l'existence, dans la région rostrale du septum, au niveau des flots de Calléja, dans les limites des noyaux du tractus diagonal de Broca et des noyaux septaux, dorsaux, latéraux et médians, d'éléments se projetant directement vers la partie rostrale du noyau arqué (Fig. 35).

Les discordances apparaissant dans les données électrophysiologiques et neuroanatomiques chez le rat révèlent que l'existence d'une projection directe préoptico-infundibulaire ne fait pas encore l'unanimité. Des renseignements d'ordre anatomique indiquent qu'une projection directe septo-arquée peut être envisagée. Nos conclusions chez le cobaye, grâce à la similitude des résultats obtenus par les deux méthodes d'identification sont formulées avec beaucoup plus d'assurance et l'existence des tractus préoptico-infundibulaire et septo-arqué est affirmée.

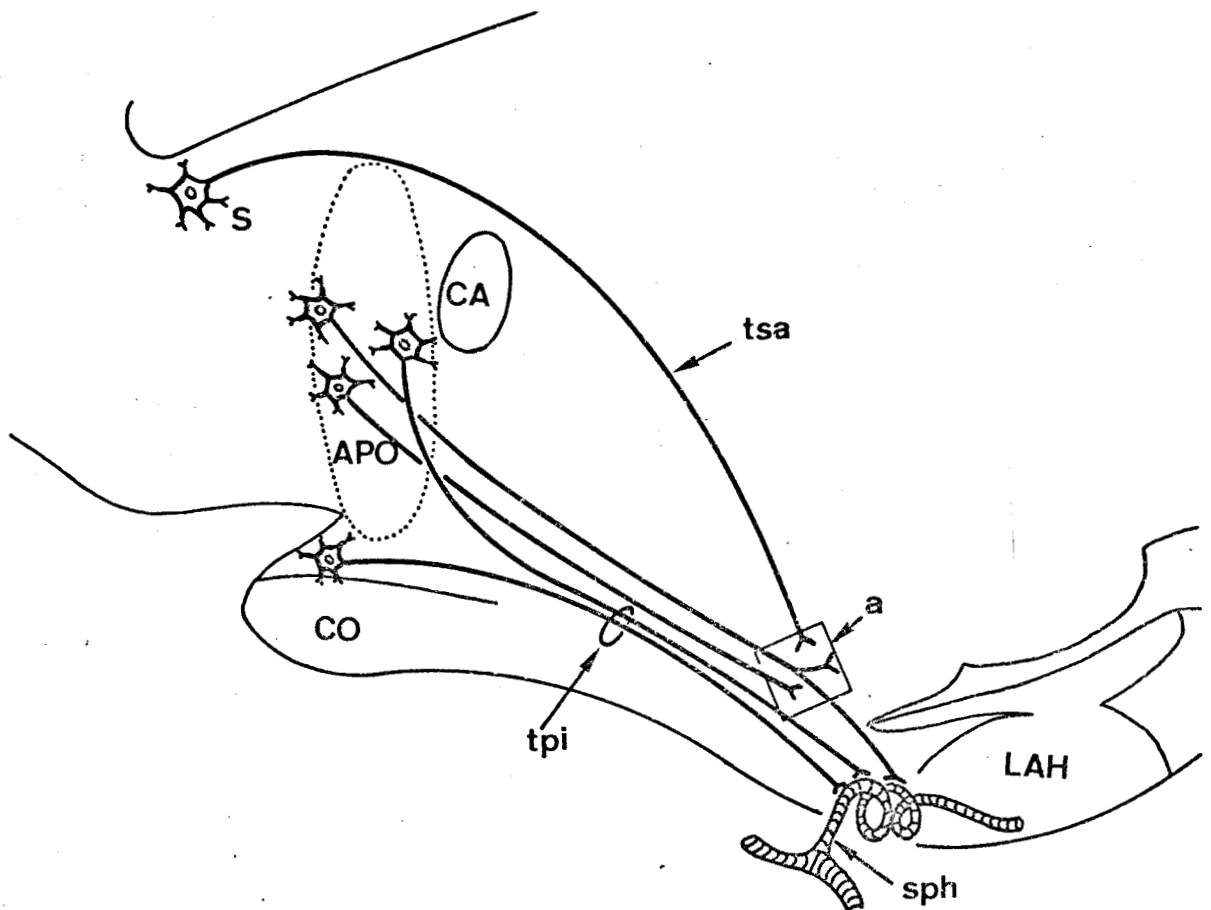


FIGURE 35. Connexions nerveuses descendantes entre l'aire septo-préoptique et la région infundibulaire.

L'origine des tractus préoptico-infundibulaire (tpi) et septo-arqué (sa) est représentée après confrontation des résultats obtenus par les deux méthodes d'identification. La région délimitée par un pointillé correspond à la zone commune d'émergence des fibres destinées soit à l'éminence médiane, soit au noyau arqué, soit aux deux structures à la fois.

a : portion antérieure du noyau arqué; APO : aire préoptique; CA : commissure blanche antérieure; CO : chiasma optique; LAH : lobe antérieur de l'hypophyse; S : septum; sph : système-porte hypophysaire.

La topographie des neurones identifiés antidromiquement par la stimulation appliquée soit à l'éminence médiane, soit au noyau arqué, révèle en plus les limites d'une région commune (constituée des noyaux préoptiques suprachiasmatiques, périventriculaires, médians, médiaux et des noyaux dorsaux du tractus diagonal de Broca, septaux médians et latéraux), d'où ces neurones sont originaires. Il faut supposer que les neurones dont les corps cellulaires sont identifiés dans cette région :

- se projettent les uns dans le noyau arqué, les autres dans l'éminence médiane,
- se projettent à la fois dans ces deux structures, par bifurcation de leurs terminaisons axoniques
- ou encore que les fibres des neurones identifiés par la stimulation du noyau arqué soient en réalité destinées à l'éminence médiane (Fig. 35).

Les résultats obtenus par les deux méthodes concordent également pour souligner la pauvreté relative des projections de la région préoptique vers le noyau arqué. Ce point doit être envisagé avec les réserves dues au fait que les identifications ne sont réalisées qu'à partir de la seule portion antéro-médiane du noyau arqué. Il est possible que d'autres neurones de l'aire préoptique, appartenant à la population préoptico-tubérale, aboutissent à d'autres portions de ce noyau et ne soient pas détectés au cours de nos expériences. Au contraire, les résultats mettent clairement en valeur les inter-relations privilégiées existant entre la région préoptique médio-basale (suprachiasmatique) et l'éminence médiane. Elles sont démontrées par la concentration dans cette région des péricaryons identifiés, ainsi que par l'existence probable d'un système de collatérales récurrentes issues de leurs axones. Elles permettent de présumer, au sein de l'aire septopréoptique, l'importance fonctionnelle de la région préoptique médio-basale dans le contrôle des sécrétions antéhypophysaires.

TROISIEME PARTIE

CONTRIBUTION À L'IDENTIFICATION FONCTIONNELLE  
DES NEURONES DE L'AIRE SEPTOPRÉOPTIQUE.  
ÉTUDE PAR MICROIONTOPHORÈSE.

## INTRODUCTION

En admettant le principe que les neurones de la région septo-préoptique traduisent leur sensibilité particulière vis-à-vis de certains agents interférant avec la sécrétion des hormones antéhypophysaires par une réaction électrophysiologique dont les paramètres sont mesurables, il est possible d'apporter une contribution à l'étude de leurs propriétés fonctionnelles.

L'application de ces agents est rendue possible à l'échelon unitaire grâce à la technique de microiontophorèse.

La difficulté d'interprétation des résultats obtenus par cette technique est inhérente à toute tentative d'analyse unitaire de l'activité nerveuse et réside principalement dans l'impossibilité d'identifier le neurone présentant un type de réponse particulier à la substance appliquée. En combinant cette technique à l'identification antidromique, il est possible toutefois, à partir de "questions" précises posées aux éléments s'engageant dans une projection directe vers la région infundibulaire, d'obtenir des "réponses" précises concernant le site d'impact et le type d'action de certaines substances influençant l'excitabilité d'éléments dont la participation au contrôle de l'activité adénohypophysaire est dès lors supposée. Il est de la sorte concevable, sur la base à la fois de leurs connexions efférentes et de leur sensibilité chimique, de recueillir divers renseignements sur l'identité fonctionnelle des différentes catégories de neurones appartenant à la région septopréoptique.

La microiontophorèse se prête particulièrement bien à l'étude de la nature des intermédiaires chimiques de la neurotransmission, l'action de ces derniers étant reproduite par des neurotransmetteurs supposés appliqués au contact de la membrane post-synaptique. En ce qui concerne l'axe hypothala-

mo-hypophysaire, les nombreuses tentatives (revues dans DYER, 1975 ; MOSS, 1976 et plus récemment : PERKINS et Coll., 1977 ; MOSS et Coll., 1978) visant à dissocier les étapes successives de la commande nerveuse de la sécrétion des hormones gonadotropes par l'application de neurotransmetteurs à différents points de l'axe, ne permettent pas, en raison du caractère ponctuel de la méthode et de l'infinie complexité des mécanismes, d'échafauder un schéma général d'organisation. Cependant, en vue de pouvoir discuter de nos propres résultats concernant l'application par la même méthode d'agents ayant le pouvoir de modifier la transmission des influx nerveux régularisant les sécrétions gonadotropes, nous présentons dans cette introduction un bref rappel concernant les modalités du contrôle de la sécrétion de LH-RH par les catécholamines.

#### A. COMMANDE NERVEUSE DES NEURONES A LH-RH

Les travaux consacrés à la participation des catécholamines aux mécanismes contrôlant la fonction LH (GLOWINSKI, 1970 ; Mc CANN et MOSS, 1975 ; KORDON et Coll., 1976) démontrent de toute évidence l'action stimulante de la synapse adrénargique en indiquant que toute substance réduisant l'activité adrénargique freine la synthèse et/ou la libération de LH-RH. Sans entrer dans le détail du rôle respectif des différents agents adrénargiques dans les mécanismes de l'ovulation (voir SAWYER, 1977), il est indispensable de rappeler quelques notions donnant une vue d'ensemble du contrôle exercé sur l'activité des neurones à LH-RH par la dopamine et la noradrénaline.

Des terminaisons noradrénargiques (originaires de régions extra-hypothalamiques), ainsi que des neurones dopaminergiques, sont découverts dans l'hypothalamus rostral et le tubex (voir : FUXE et Coll., 1976). De fortes concentrations de catécholamines sont trouvées dans l'éminence médiane et la présence de fibres monoaminergiques parcourant la zone externe de l'éminence médiane et se terminant en contact étroit avec l'espace péricapillaire des vaisseaux-portes est détectée chez le cobaye par MAZZUCA et POULAIN (1974). Si la distribution topographique des éléments catécholaminergiques est bien acceptée, les fonctions respectives de la dopamine et de la noradrénaline vis-à-vis de la libération de LH-RH sont au contraire loin d'être établies avec précision.



1) Les neurones dopaminergiques tubéro-infundibulaires, localisés dans le noyau arqué et dont les prolongements établissent des contacts axo-axoniques avec les fibres se terminant dans la zone palissadique de l'éminence médiane (dont probablement celles à LH-RH : LÖFSTROM et Coll., 1976), ont, selon les auteurs, un rôle facilitant (KORDON et Coll., 1976) ou inhibiteur (FUXE et Coll., 1976) envers la libération de LH-RH. Ce rôle peut s'exercer par l'ajustement des processus intervenant au niveau des terminaisons des neurones à LH-RH au cours de la libération de la neurohormone, celle-ci étant facilitée (ROTSZTEJN et Coll., 1977) ou inhibée (par un mécanisme d'inhibition présynaptique : KAWAKAMI et KIMURA, 1976). Bien que les récepteurs dopaminergiques semblent être surtout localisés au niveau de ces terminaisons nerveuses, les éléments dopaminergiques du groupe A 14 (de l'hypothalamus rostral) peuvent exercer un effet stimulant sur les corps cellulaires des neurones localisés dans la même région (LEONARDELLI et DUBOIS, 1975).

2) La noradrénaline, produite en dehors de l'hypothalamus, exerce une action stimulante sur la libération de LH-RH (SAWYER, 1975) et l'ovulation (TIMA et FLERKO, 1974) :

a) au niveau de l'aire préoptique (KALRA et Mc CANN, 1973a) et/ou de la région suprachiasmatique (KAWAKAMI et KIMURA, 1976), en déclenchant le signal nerveux de l'ovulation au moment de la "période critique" et/ou en agissant directement sur les corps cellulaires élaborant la neurohormone.

b) au niveau du noyau arqué :

- par l'inhibition des neurones tubéro-infundibulaires dopaminergiques (KRIEG et Coll., 1976) dans l'hypothèse selon laquelle ceux-ci inhibent la libération de LH-RH.

- par l'activation de neurones tubéro-infundibulaires hypothétiques relayant à ce niveau le signal nerveux originaire de l'aire préoptique (KAWAKAMI et KIMURA, 1976).

## B. PRESENTATION DE L'ETUDE MICROIONTOPHORETIQUE

Nous détaillons dans les quatre chapitres qui constituent cette partie les résultats obtenus par l'application microiontophorétique de quatre substances directement liées aux fonctions antéhypophysaires. Le

bref rappel qui précède consacre le rôle essentiel de la synapse adrénérgique dans le contrôle de l'ovulation. Bien qu'un maillon cholinérgique soit apparemment indissociable du maillon aminérgique dans la chaîne des événements provoquant la décharge ovulante de LH (SAWYER et Coll., 1949), le site exact de l'intervention cholinérgique au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire demeure inconnu. Nous tentons de démontrer l'existence d'une synapse cholinérgique dans l'aire septopréoptique, dans l'hypothèse de la contribution de cette synapse au conditionnement de l'activité des neurones impliqués dans la libération de LH - RH ( CHAPITRE I ).

L'existence de voies extrahypophysaires à LH-RH, tel le tractus préoptico-terminal, est l'indice d'une libération possible de la neurohormone dans diverses structures du système nerveux central. Nous étudions ensuite les effets du peptide lorsqu'il est appliqué au contact direct de neurones de la région septo préoptique (CHAPITRE II).

Parmi les substances dont le rôle dans la sécrétion de LH est bien établi, mais pour lesquelles le site d'impact demeure imprécis au sein de l'axe hypothalamo-hypophysaire, nous choisissons d'éprouver l'activité électrique des neurones septopréoptiques par les prostaglandines afin de vérifier si l'action de ces substances peut s'exercer à l'échelon nerveux (CHAPITRE III).

Enfin, comme il apparaît que la région étudiée est directement impliquée dans le contrôle de la sécrétion de la prolactine, nous soumettons également les éléments de cette région à l'application microiontophorétique de l'hormone hypophysaire (CHAPITRE IV).

## CHAPITRE I

### ACETYLCHOLINE

Un agent bloquant cholinergique, l'atropine, supprime l'ovulation s'il est injecté chez la lapine avant le coït (SAWYER et Coll., 1949) et chez la rate au moment de l'apparition de la période critique (SAWYER et Coll., 1955). LIBERTUN et Mc CANN (1973) démontrent que la cession des hormones gonadotropes est bloquée lorsque cet agent est administré chez le rat et supposent que la région périventriculaire de l'hypothalamus rostral peut représenter le site de terminaison des fibres cholinergiques commandant la sécrétion de LH. Une abondante activité acétylcholinestérasique est décelée chez le cobaye dans cette même région (LEONARDELLI, 1966). L'étude de la sensibilité des neurones de la région septopréoptique vis-à-vis de l'acétylcholine appliquée par microiontophorèse est entreprise dans le but d'y confirmer l'existence de neurones cholino-réceptifs susceptibles d'être impliqués dans le contrôle de la libération de LH - RH. Toutefois, dans la même région, l'intervention d'une synapse cholinergique est également envisagée dans le contrôle des mécanismes assurant la régulation de la température chez le rat (KIRPATRICK et LOMAX, 1970). L'identification antidromique des neurones à destinée infundibulaire permet de déceler, parmi la population des neurones préoptiques soumis à l'action du neurotransmetteur, ceux qui sont plus directement impliqués dans les mécanismes neuroendocriniens.

### RESULTATS

Nous décrivons les résultats obtenus chez 5 cobayes. 30 neurones sont localisés dans la région du septum et de l'aire préoptique (Fig. 36) et 20 identifiés par leur projection vers la région infundibulaire. L'action de l'acétylcholine éjectée pendant des périodes allant de 5 secondes à 3 mi-

nutes se manifeste sur 14 d'entr'eux par une excitation des éléments silencieux ou par une augmentation de la fréquence de décharge des éléments actifs spontanément (Fig. 37). 16 autres ne présentent pas de réponse notable à l'application de la substance.

L'effet activateur de l'acétylcholine est parfaitement reproductible (Fig. 37, b). La modification du rythme d'activité est caractérisée par une latence courte (inférieure à la seconde) et un retour immédiat au taux de décharge initial dès que l'éjection de la substance est achevée (Fig. 37, a).

L'action excitatrice s'applique particulièrement aux neurones localisés dans la région préoptique (Fig. 36) et atteint sans distinction les neurones identifiés par leur projection vers la région infundibulaire et les neurones non identifiés. Leur proportion est indiquée dans le tableau 4.

Acétylcholine	Neurones identifiés	Neurones non identifiés
Excitation	8	6
Pas d'effet	12	4



TABLEAU N° 4 : Réponse des neurones de la région septopréoptique, identifiés ou non par leur projection vers la région infundibulaire, à l'application microiontophorétique d'Acétylcholine.

#### DISCUSSION

Nos résultats (POULAIN, 1974b) permettent de constater que chez le cobaye, un grand nombre de neurones situés dans l'aire préoptique médiane reçoivent des influences cholinergiques excitatrices. Par la technique microiontophorétique, DYBALL et Coll., (1974); WHITEHEAD et RUF, (1974); MOSS et Coll., (1975, a); KELLY et Coll., (1977, 1978) parviennent aux mêmes conclusions chez le rat. L'existence d'une synapse cholinergique excitatrice s'articulant avec les neurones de l'aire préoptique médiane est en accord avec le rôle stimulant qu'exerce l'acétylcholine dans les mécanismes contrôlant la libération de LH. Dans une première hypothèse,

- l'effet facilitateur de la substance contribue à la naissance

FIGURE 36 . Emplacement des neurones excités par l'acétylcholine appliquée par microiontophorèse .

La position approximative des neurones est reportée sur une coupe frontale le long d'un même axe vertical passant par le septum (s), le tractus diagonal de Broca (bd) et le noyau préoptique médial (pml) .

CA : commissure blanche antérieure, CO : chiasma optique .

Triangles vides : neurones identifiés par leur projection vers la région infundibulaire; triangles noirs : neurones non identifiés .

Pointe des triangles vers le haut : excitation; vers le bas : pas d'effet .

FIGURE 37 . Effet excitant de l'acétylcholine appliquée par microiontophorèse aux neurones de l'aire septopréoptique . Enregistrements graphiques .

a . Excitation brève (sans délai et limitée au temps d'application) .

La séquence d'application de l'acétylcholine est représentée par le trait fort horizontal . Intégration de la fréquence de décharge du neurone sensible : la plume de l'enregistreur papier se déplace verticalement avec une période de 1 seconde; le nombre de potentiels d'action enregistrés pendant chaque déplacement (pa/s) s'inscrit par autant de paliers horizontaux .

b . Reproduction de l'effet au cours d'applications successives .

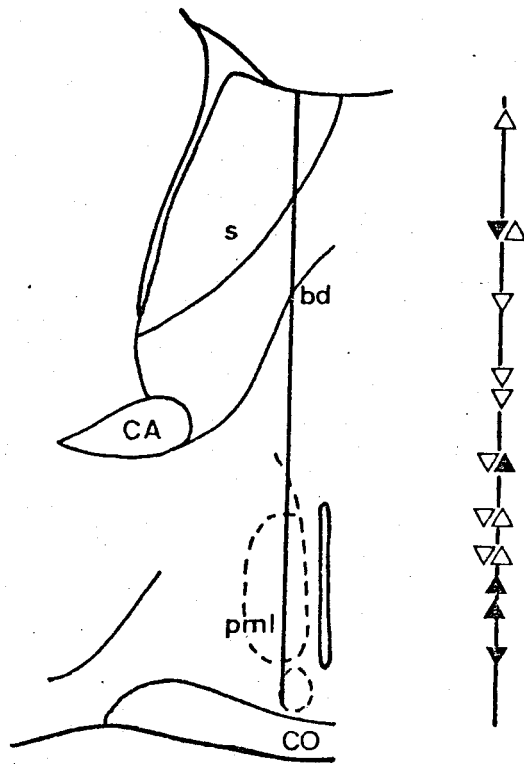


FIGURE 36 .

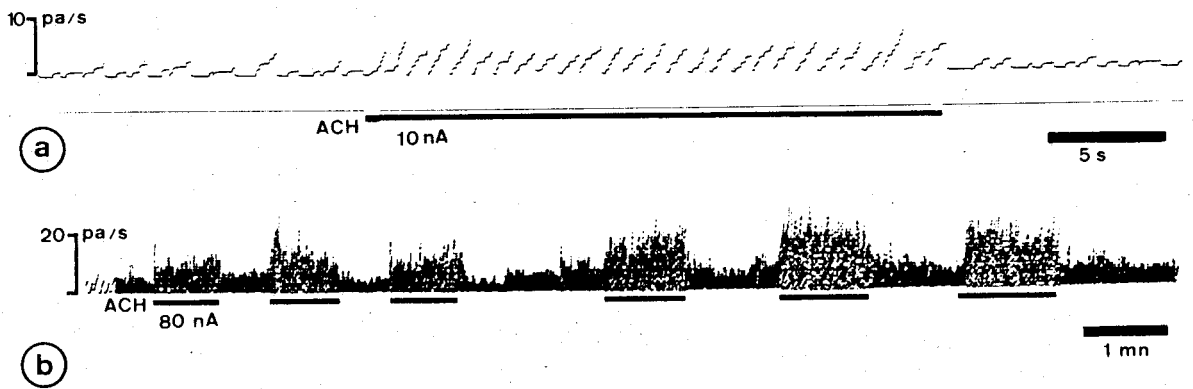


FIGURE 37 .



du signal nerveux transitant entre l'aire préoptique et la région infundibulaire et précédant la décharge de LH - RH. L'implantation d'acétylcholine dans la région préoptique périventriculaire chez le rat provoque une augmentation rapide de l'activité multiunitaire dans le noyau arqué associée à une élévation brutale du taux de LH plasmique (KAWAKAMI et KIMURA, 1976).

- dans une seconde hypothèse, cet effet s'adresse directement aux neurones synthétisant LH - RH et contribue à augmenter la synthèse et/ou le transport intra-axonal de la neurohormone vers l'éminence médiane. L'injection d'atropine entraîne chez le cobayé une mise en charge du matériel immunoréactif vis-à-vis de l'anticorps anti-LH-RH, qui se traduit par une augmentation importante du nombre des neurones décelés dans la région préoptique (LEONARDELLI et DUBOIS, 1974 ; LEONARDELLI, 1976 a). Le stockage de la neurohormone après l'administration de l'agent bloquant cholinergique est le reflet soit d'une stimulation de la synthèse, soit d'un blocage du transport intra-axonal et/ou de la cession de celle-ci, cette seconde possibilité étant retenue par LEONARDELLI et DUBOIS (1975). En accord avec le concept de SAWYER et Coll., (1949) qui fait intervenir successivement les mécanismes cholinergiques et catécholaminergiques dans le contrôle de la décharge ovulante de LH, ces auteurs émettent l'hypothèse d'une action excitatrice de l'acétylcholine sur les neurones dopaminergiques (du groupe  $A_{14}$  ou tubéro-infundibulaires) qui, en réponse à cette intervention, stimulent la libération de LH - RH. La possibilité d'une action directe de l'acétylcholine sur les corps cellulaires ou les terminaisons des neurones à LH - RH n'est cependant pas à négliger. Plus précisément, les expériences réalisées *in vitro* par FIORINDO et Coll., (1975) suggèrent, en excluant le rôle intermédiaire que pourraient jouer les neurones dopaminergiques, que l'action facilitatrice de l'acétylcholine se réalise grâce aux contacts axo-somatiques ou axo-axoniques qu'établissent les fibres cholinergiques avec les neurones à LH - RH.

En conclusion, en accord avec cette dernière suggestion, on peut envisager que les effets obtenus par microiontophorèse sur les éléments de l'aire préoptique sont le reflet de l'action excitatrice de l'acétylcholine sur les sites post-synaptiques des neurones à LH - RH présents dans cette

région . Cette action contribuerait à accélérer le transit intra-axonal de la neurohormone dans les voies neurosécrétrices : voie préoptico-infundibulaire et autres voies à destinée extra-infundibulaire.



CHAPITRE II

## LH - RH

En décrivant chez le rat les effets inhibiteurs de LH - RH sur l'activité électrique de neurones individuels grâce à la technique de microiontophorèse, DYER et DYBALL (1974) puis RENAUD et Coll., (1975) démontrent qu'au rôle spécifique joué par le peptide dans la libération des hormones gonadotropes s'ajoute un important pouvoir de régulation de l'activité nerveuse. Il est prouvé en plus que l'action de la neurohormone ne se limite pas aux structures ayant une implication directe dans les fonctions endocriniennes mais s'exerce indifféremment sur les éléments de structures très diverses tels le tronc cérébral, le cortex ou le cervelet. De telles observations témoignent de l'activité extrahypophysaire de LH - RH, qui s'avère capable de participer à l'élaboration de mécanismes nerveux très divers. En particulier, elle a le pouvoir de déclencher des processus aussi complexes que ceux qui gouvernent l'activité sexuelle : son administration à des rates castrées et hypophysectomisées fait apparaître un comportement oestral (MOSS et Mc CANN, 1973 ; PFAFF, 1973).

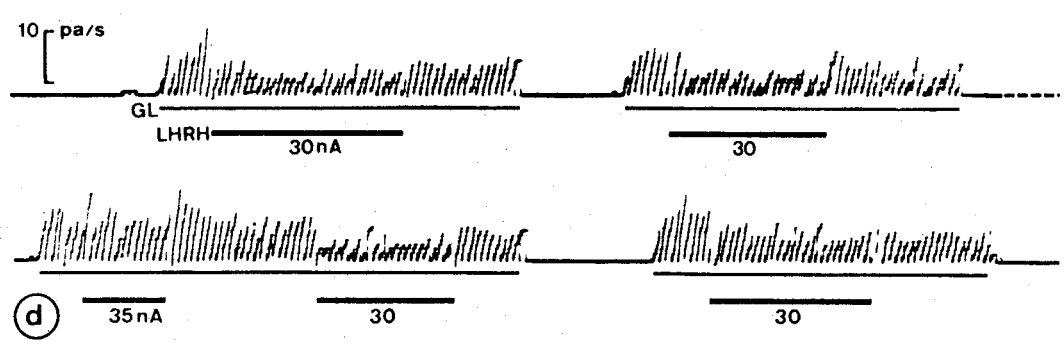
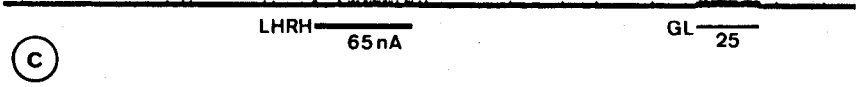
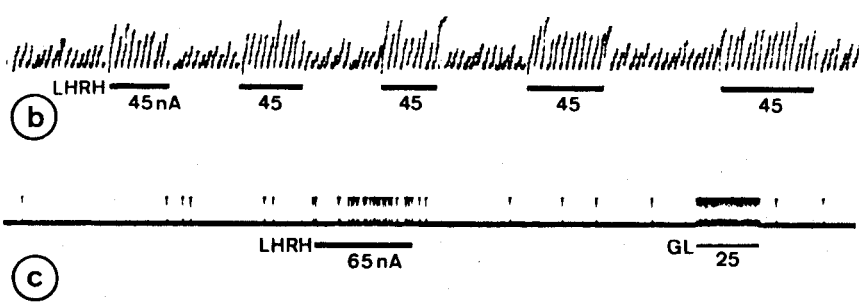
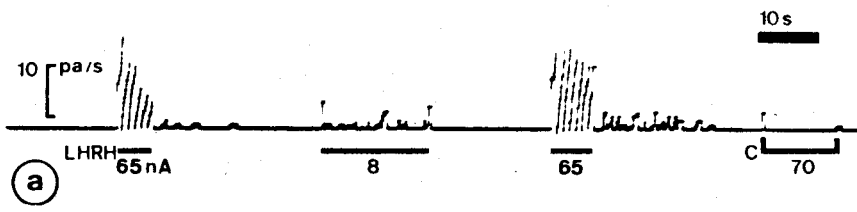
En reprenant chez le même animal l'étude des effets de l'hormone sur l'activité des neurones de l'aire préoptique, KAWAKAMI et SAKUMA (1974) MOSS et Coll., (1975, a), KELLY et MOSS (1976) mettent en valeur cette fois la dualité de l'action de la substance, qui s'exerce soit par une excitation, soit par une inhibition des neurones soumis à l'application microiontophorétique.

Nous tentons de vérifier chez le cobaye l'existence de neurones sensibles à l'action de LH - RH dans la région septopréoptique et de relier un effet spécifique de la neurohormone à un type particulier de neurone identifié par sa projection vers la région de l'éminence médiane.

FIGURE 38 . Types de réponse des neurones septopréoptiques soumis à l'application microiontophorétique de LH-RH . Enregistrements graphiques .

- a . Excitation brève (sans délai et limitée au temps d'application) proportionnelle à la valeur du courant d'éjection . Remarquer les effets retardés dans le cas de forts courants d'éjection et l'absence d'effets électrotoniques lors de l'application d'un courant de contrôle (c) .  
Intégration de la fréquence de décharge °.
- b . Reproduction de l'effet au cours d'applications successives .  
Intégration de la fréquence de décharge °.
- c . Effets comparés de LH-RH et du glutamate (GL) sur l'activité spontanée . Représentation analogique de la fréquence de décharge : les potentiels d'action mis en forme sont représentés par les pointes verticales .
- d . Inhibition brève (sans délai et limitée au temps d'application ) de l'activité déclenchée par l'application de glutamate (GL) .  
Intégration de la fréquence de décharge °.

° : potentiels d'action par seconde (pa/s).



## RESULTATS

L'étude porte sur 18 cobayes.

L'action de LH - RH est étudiée sur 216 neurones septopréoptiques soumis à la stimulation de la région infundibulaire. 36 neurones sont excités par la stimulation, dont 25 de manière antidromique. Ces derniers sont identifiés comme appartenant à la projection préoptico-infundibulaire ou à la projection septo-arquée, selon la situation de l'électrode de stimulation. Sur la population totale, 29 neurones (13,40 %) sont excités et 16 (7,4 %) inhibés par l'application de LH - RH (courants d'éjection compris entre 5 et 70 nA, durée des séquences d'éjection : 10 à 40 secondes). 171 neurones (79,20 %) ne sont pas sensibles à la substance.

### 1) Types de réponse

Les propriétés excitatrices et inhibitrices de LH - RH se manifestent par une modification brutale de l'activité spontanée du neurone (Fig. 38). Dans le cas d'une excitation, l'acquisition d'une activité pour un élément silencieux (Fig. 38, a) ou l'accélération de la décharge d'un élément spontanément actif (Fig. 38, b et c) apparaissent dès le début de l'application microiontophorétique, avec une latence indécélable dans la plupart des cas. L'intensité de l'effet observé est proportionnelle à la quantité de courant utilisé pour l'éjection (Fig. 38, a). L'activité initiale est rétablie dès la fin de l'application microiontophorétique ; un effet retardé de faible ampleur est remarqué lors de l'utilisation de forts courants d'éjection (Fig. 38, a). La réponse montre une remarquable stabilité vis-à-vis des applications successives (Fig. 38, b). Les courants de contrôle sont sans effet sur l'activité des neurones retenus dans cette étude (Fig. 38, a). Dans le cas d'une inhibition, obtenue sur une activité déclenchée par le glutamate si le neurone est silencieux (Fig. 38, d), les modalités de la réponse à la neurohormone sont identiques : effet limité au temps d'application, proportionnel à l'intensité du courant d'éjection ; pas de désensibilisation.

### 2) Action de LH - RH sur les neurones excités orthodromiquement

Parmi les 11 neurones excités de manière orthodromique par la stimulation de la région infundibulaire (c'est-à-dire ne répondant pas au

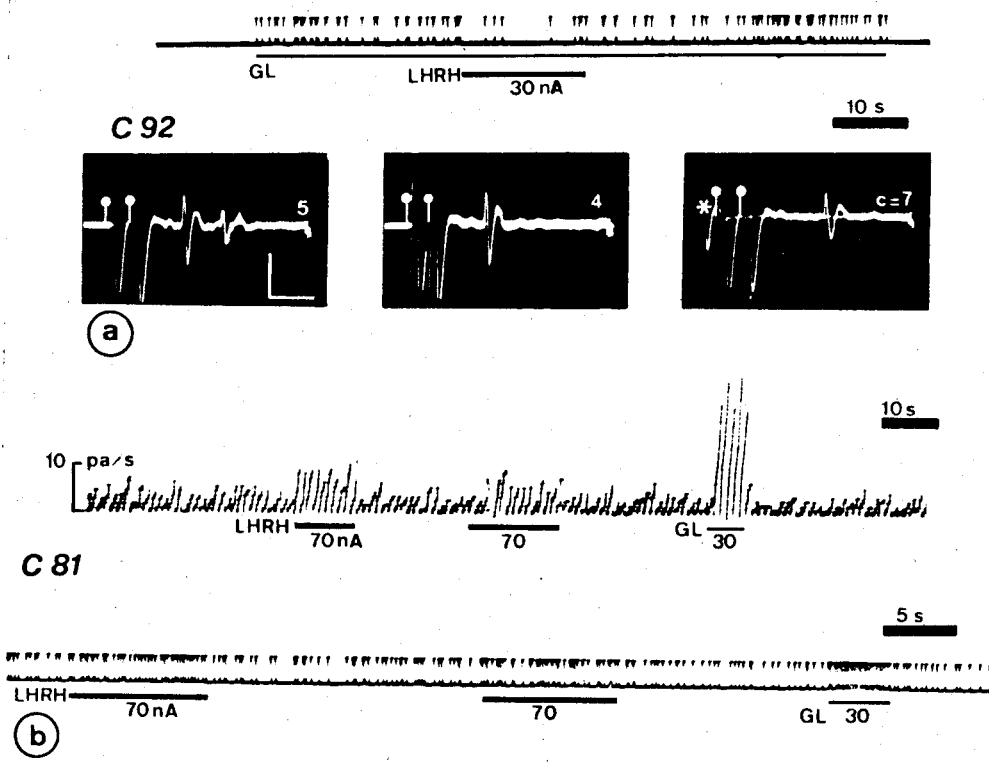


FIGURE 39. Actions de LH -RH, appliquée par micro-  
iontophorèse, sur deux neurones de l'aire septopré-  
optique excités par la stimulation de la région in-  
fundibulaire .

a . Inhibition brève de l'activité déclenchée par l'application de glu-  
tamate (GL) . Enregistrement graphique analogique de la décharge de la  
cellule 92 . Cette cellule est excitée orthodromiquement par un choc  
appliqué au noyau arqué.

Test de la collision :  $l = 17 \text{ ms}$  ;  $r = 4,5 \text{ ms}$  ;  $c = 7 \text{ ms}$  ;  
 $\frac{Ec}{r + l} = 0,67$  (voir le tableau 3) .

\*: potentiel d'action spontané ; † : artéfact de sti-  
mulation ; calibration : 10 ms et 0,5 mV .

Localisation de la cellule : noyau septal dorsal ; reportée dans la figure  
25,d .

b . Excitation brève et effet du glutamate . Enregistrements graphiques de  
la décharge de la cellule 81 : intégration en haut (potentiels d'action par  
seconde : pa/s) et représentation analogique en bas . Cette cellule est ex-  
citée antidromiquement par un choc appliqué à l'éminence médiane .

Test de la collision : voir la figure 19,d .

Localisation de la cellule : crête supra-optique ; reportée dans la figure  
25,c et illustrée par la figure 24,c .



critère de la collision avec un rapport  $\frac{E_c}{r+1} \leq 0,5$ , 2 sont activés et 1 inhibé par la neurohormone. La figure 39, a illustre l'unique cas d'inhibition observé pour un neurone appartenant au noyau septal dorsal : l'application de LH - RH provoque une nette dépression de l'activité déclenchée par le glutamate.

### 3) Action de LH - RH sur les neurones excités antidromiquement

Parmi les 25 neurones excités de manière antidromique par la stimulation de la région infundibulaire (c'est-à-dire répondant au critère de la collision avec un rapport  $\frac{E_c}{r+1} \leq 0,5$ ), 3 sont activés et 7 inhibés par la neurohormone. La figure 39, b reproduit le comportement d'un neurone situé dans la crête supraoptique et présentant une forte activité spontanée.

La majorité des neurones inhibés par l'hormone sont localisés dans les noyaux septaux et appartiennent au tractus septo-arqué. La proximité de deux éléments situés dans le noyau septal dorsal s'est manifestée occasionnellement par l'apparition d'un potentiel d'action présentant une inflexion dans sa partie descendante (Fig. 40). L'observation de tracés superposés montre que l'onde enregistrée représente l'imbrication des potentiels d'action de deux neurones distincts enregistrés simultanément : lorsque l'intensité de stimulation est réduite, la latence du potentiel d'action de l'élément le plus proche de l'extrémité de la microélectrode passe soudainement de 13,5 à 33 ms, révélant la présence de deux éléments voisins. Ils appartiennent au tractus septo-arqué ; la réponse au test de la collision est illustrée (Fig. 40) pour le potentiel d'action de plus faible latence, dont l'amplitude s'est accrue lors de l'ajustement de la position de la microélectrode. La neurohormone déprime l'activité des deux neurones mis à l'épreuve successivement.

Le tableau 5 met en valeur la proportion des effets (excitation et inhibition) observés d'une part sur l'ensemble des neurones étudiés et d'autre part sur la population cellulaire excitée par la stimulation de la région infundibulaire.

LH-RH Stimulation	Excitation	Inhibition	Pas d'effet
Neurones enregistrés (216) dont	29 (13,40%)	16 (7,40%)	171 (79,20%)
↓ Neurones excités (36) dont	5	8	23
↓ Neurones excités (25) antidromiquement	3	7	15

TABLEAU N° 5 : Réponses des neurones de la région septopréoptique soumis à une stimulation de la région infundibulaire et à l'application microiontophorétique de LH - RH.

#### DISCUSSION

Nos résultats apportent une nouvelle preuve que LH - RH, administrée au voisinage immédiat des cellules nerveuses, a le pouvoir de moduler leur activité électrique. La concentration de la substance, le pH de la solution finale et le sens du courant d'éjection utilisés sont comparables à ceux employés par KELLY et MOSS (1976) pour montrer le maintien de l'activité biologique de la molécule lors de son application par microiontophorèse. L'intégrité de la réponse étant prouvée par l'inefficacité des courants de contrôle appliqués, il est considéré que les effets du peptide, instantanés et limités aux périodes d'application microiontophorétique, reflètent bien ses propriétés excitatrices et inhibitrices vis-à-vis des éléments nerveux étudiés.

FIGURE 40 . Actions de LH-RH , appliquée par microiontophorèse, sur deux neurones voisins dans le septum, excités antidromiquement par la stimulation du noyau arqué .

Le potentiel complexe (tracés du haut) correspond à l'enregistrement simultané de deux neurones voisins, l'un éloigné (petit potentiel fléché, observé lors de la superposition de plusieurs tracés) et l'autre proche (grand potentiel) de la microélectrode .

Ces deux potentiels sont individualisés après l'augmentation de la latence du plus grand potentiel due à une réduction de l'intensité de la stimulation ( ① et ② ) .

Inhibition brève de l'activité déclenchée par le glutamate (GL) du neurone ① et de l'activité spontanée du neurone ② . Enregistrements graphiques .

Test de la collision illustré pour le neurone ② :

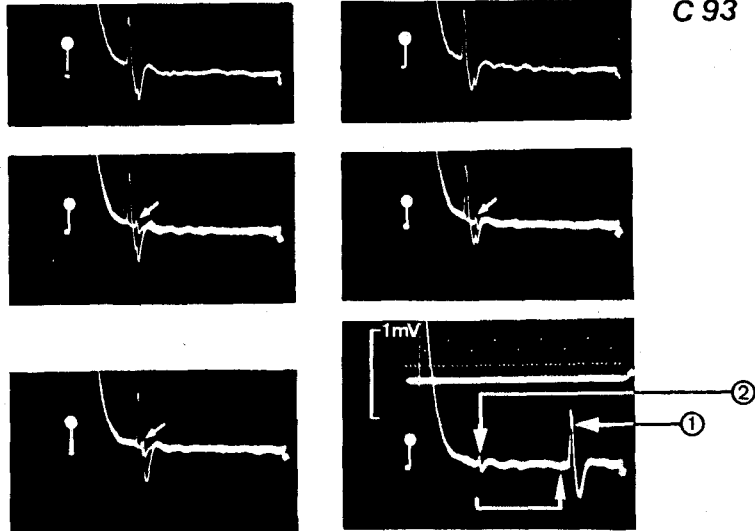
$l=13,5\text{ms}, r=8\text{ms}, c=19,5\text{ms} \cdot \frac{Ec}{r+l} = 0,09$  : voir Tableau 3, Cellule 93 .

Localisation : noyau septal dorsal : reportée dans la figure 25,d et illustrée par la figure 26,e .

\* : potentiel d'action spontané, I : artéfact de stimulation, échelle des temps en ms .



C 93

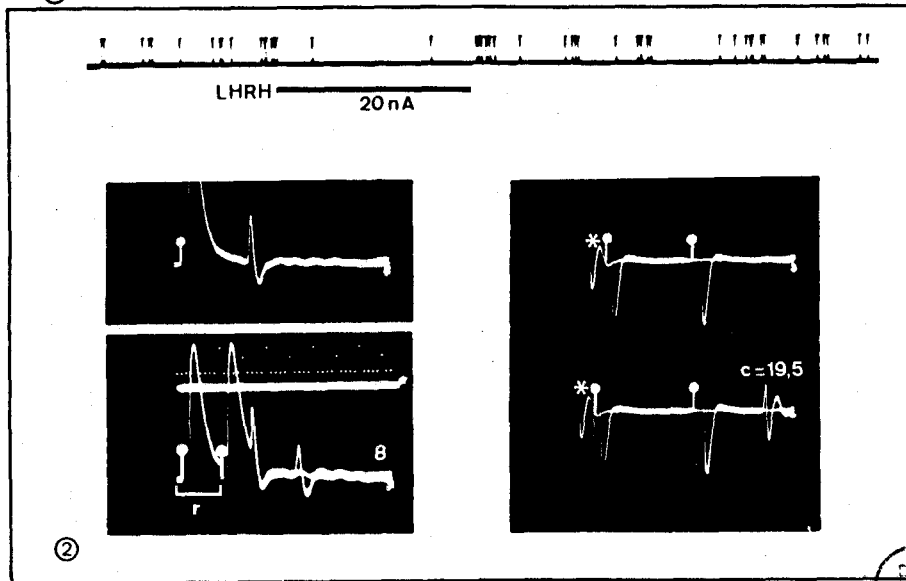


GL

LHRH 30nA

10s

①



BUS  
LILLE

1) Types de réponse des neurones sensibles à LH - RH en fonction de leurs projections

L'action stimulante de LH - RH est passée inaperçue lors des expériences initiales réalisées chez le rat par DYER et DYBALL (1974) et RENAUD et Coll., (1975), vraisemblablement en raison de la faible population de neurones étudiés, ou encore des concentrations très élevées utilisées, celles-ci pouvant provoquer des réactions pharmacologiques d'anesthésie locale. Elle est ici au contraire prédominante dans l'aire septopréoptique comme elle l'est chez le rat au niveau des neurones (non identifiés) de l'aire préoptique médiane (KELLY et MOSS, 1976 ; MOSS et DUDLEY, 1978) et des neurones tubéro-infundibulaires (KAWAKAMI et SAKUMA, 1974).

L'action de LH - RH se manifeste sur l'excitabilité de neurones situés dans les structures les plus diverses du système nerveux central (RENAUD et Coll., 1975). MOSS (1977) démontre que le peptide et un de ses agonistes ont un pouvoir excitateur et inhibiteur envers l'activité de neurones situés à tous les niveaux entre le cortex cérébral et la base du cerveau. La quasi-universalité d'action de la substance rend en conséquence très délicate toute tentative d'interprétation des résultats obtenus dans une région bien précise du cerveau. Cependant, l'examen du tableau 5 indique que si l'on isole parmi la population totale des neurones sensibles à l'action de la neurohormone (l'action excitatrice y étant prédominante), ceux qui sont identifiés par la stimulation de la région infundibulaire, les proportions respectives des réponses d'excitation et d'inhibition s'inversent. Cela a pour cause le nombre élevé d'éléments identifiés réagissant à l'application de l'hormone par une dépression de leur activité spontanée ou induite par le glutamate. Parmi ces derniers, les éléments du tractus septo-arcué sont particulièrement sensibles à l'action déprimante de LH - RH (POULAIN et CARETTE, 1977, a). Bien qu'elle soit formulée à propos d'un petit nombre de neurones, cette remarque est rapprochée de celles formulées par MOSS et Coll. (1975, a) puis KAWAKAMI et SAKUMA (1976), qui découvrent que chez le rat, les éléments de l'aire préoptique suprachiasmatic identifiés par la stimulation de la région noyau arcué - éminence médiane sont spécifiquement inhibés par l'application microiontophorétique de LH - RH. Nos résultats, étant obtenus avec des concentrations de LH - RH semblables à celles utilisées par ces auteurs, illustrent de même l'action déprimante qu'exerce le peptide sur les neurones

septaux se projetant directement vers le noyau arqué. Ce point met à jour la ressemblance, en termes de sensibilité chimique, qui existe entre deux populations différentes de neurones établissant des relations identiques avec la région infundibulaire.

## 2) Implication de LH - RH dans un rôle de neurotransmission

Les modalités de la réponse à LH - RH permettent d'envisager pour celle-ci la possibilité d'intervenir à différents niveaux du système nerveux central par une action de "type neurotransmetteur". Son action est rapide, limitée au temps d'application et s'adresse probablement aux sites post-synaptiques, étant donné que les effets inhibiteurs se manifestent sur une activité induite par le glutamate. L'implication du neuropeptide dans des fonctions synaptiques signifie que son transport dans les axones ou les collatérales axoniques des neurones élaborateurs représente son mode de distribution dans les régions hypothalamiques et extrahypothalamiques. Dans ce cas, il agit directement sur les neurones effecteurs après un parcours dans des "voies neurosécrétrices extra-hypothalamiques" et une libération au niveau de "synapses neurosécrétoires", en reprenant les termes utilisés par BARRY (1956) à propos du système neurosécréteur hypothalamique magnocellulaire. Cette hypothèse est confortée par la découverte de LH - RH dans des fractions synaptosomiales (BARNEA et Coll., 1975 ; RAMIREZ et KORDON, 1975). D'autres arguments résultent d'observations immuno-histologiques et électrophysiologiques.

### a) Observations immunohistologiques

Chez le cobaye, des axones spécifiquement réactifs avec l'anticorps anti-LH - RH se distribuent dans des territoires très étendus, dans l'hypothalamus et à l'extérieur de l'hypothalamus. Faisant partie de ces voies extra-hypophysaires, les axones du contingent préoptico-terminal, issu du groupe précommissural (BARRY et DUBOIS, 1973), se dirigent vers la région de la crête supra-optique. Des fibres à LH - RH, isolées, établissent des contacts de type synaptique avec d'autres neurones non immunoréactifs, au niveau de la région préoptique suprachiasmatique (BARRY et Coll., 1974 ; SILVERMAN, 1976 ; SILVERMAN et KREY, 1978). L'action du neuropeptide s'exerce sur les neurones de ces régions (Fig. 39, b). Elle peut être l'indice

de son intervention fonctionnelle au niveau de synapses neurosécrétoires. De même, des fibres à LH - RH très peu nombreuses, sont disséminées dans le noyau septal médian et le tractus diagonal de Broca ; certaines semblent être en contact avec des neurones non immunoréactifs (SILVERMAN et KREY, 1978).

### b) Observations électrophysiologiques

Les observations de RENAUD (1976 b; d et e) démontrent chez le rat la grande abondance des collatérales axoniques issues des éléments tubéro-infundibulaires (présumés neurosécréteurs). Elles établissent des connexions locales ou se dirigent vers les régions hypothalamiques rostrales. Nos propres observations chez le cobaye laissent supposer l'existence d'un système identique pour les neurones préoptico-infundibulaires. Si la projection des neurones LH - RH n'est pas indirectionnelle (vers l'éminence médiane) mais que le produit de neurosécrétion se distribue dans de multiples régions par un réseau de collatérales axoniques, il est vraisemblable qu'il puisse jouer le rôle de neurotransmetteur. A l'appui de cette conception vient le fait que les axones du tractus préoptico-infundibulaire à LH - RH établissent de nombreux contacts synaptiques le long de leur trajet et émettent de multiples collatérales radiaires au cours de leur traversée de l'infundibulum (BARRY et Coll., 1973, a).

### 3) Signification fonctionnelle des effets

Dans l'état actuel des connaissances, la signification fonctionnelle de l'action de LH - RH sur l'excitabilité nerveuse reste inconnue. Dans la région septopréoptique, le neuropeptide a la possibilité d'influencer directement ou indirectement l'activité électrique des neurones qui l'élaborent ou d'intervenir dans le contrôle des mécanismes comportementaux.

### a) Action sur les neurones à LH - RH

Si LH - RH est impliquée dans un processus d'autorégulation de sa sécrétion, semblable à celui proposé dans le système neurosécréteur hypothalamique magnocellulaire (NICOLL et BARKER, 1971), la possibilité n'est pas exclue que des collatérales axoniques récurrentes des neurones préoptico-infundibulaires à LH - RH puissent s'articuler avec les péricaryons

d'origine et servir à réduire leur activité électrique (Fig. 41, a). La stimulation de l'éminence médiane réduit la fréquence de décharge des neurones préoptiques identifiés antidromiquement, probablement par le jeu de collatérales récurrentes. L'application de LH - RH est suivie d'effets semblables sur les mêmes neurones. Rien ne permet cependant de relier ces deux processus d'inhibition de l'activité spontanée pour émettre l'hypothèse d'un mécanisme par lequel le neuropeptide exercerait un rôle d'intermédiaire inhibiteur au niveau des corps cellulaires qui l'élaborent. De plus, la démonstration du pouvoir excitateur de LH - RH vis-à-vis d'un neurone préoptico-infundibulaire (Fig. 39,b) vient à l'encontre de cette hypothèse.

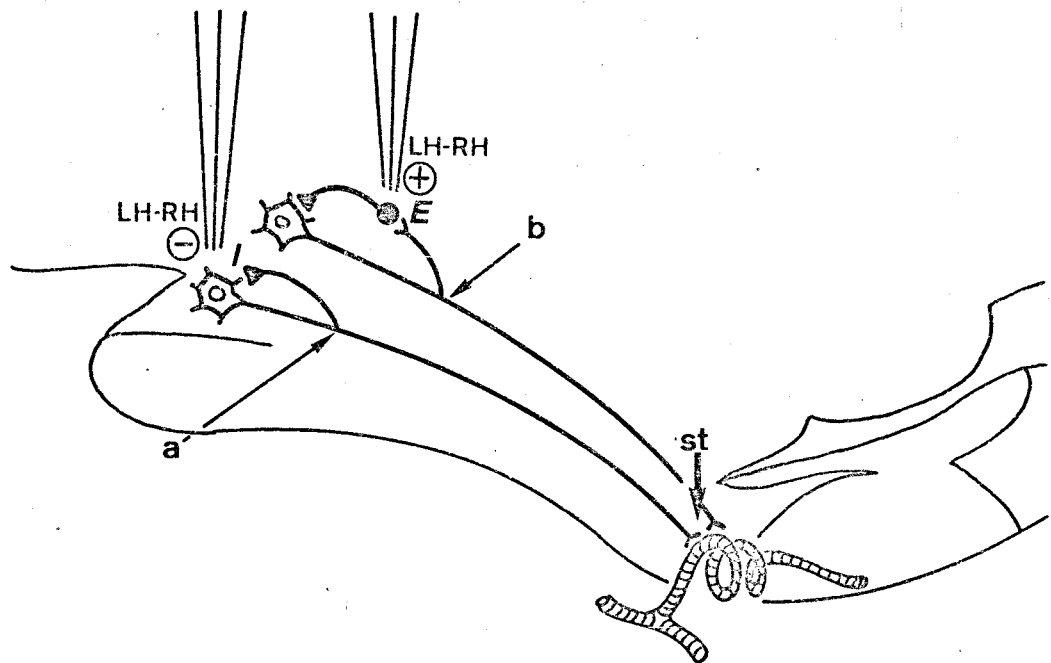


FIGURE 41 : Mécanismes hypothétiques d'autorégulation des neurones à LH - RH.

a : les collatérales axoniques récurrentes s'articulent sur le péricaryon d'origine et inhibent l'activité spontanée du neurone en réponse à la stimulation infundibulaire (St). Ce neurone, identifié antidromiquement, réagit à l'application de LH-RH par une réduction de son activité spontanée.

b : les collatérales axoniques récurrentes s'articulent sur un interneurone inhibiteur, intermédiaire du processus d'autorégulation. Cet interneurone est activé orthodromiquement par la stimulation et réagit à l'application de LH - RH par une accélération de son activité spontanée

E : synapse neurosécrétoire excitatrice ; I : synapse neurosécrétoire inhibitrice.

Les excitations de type orthodromique relevées au cours de la stimulation de l'éminence médiane peuvent signaler la présence d'interneurones inhibiteurs intercalés entre les collatérales récurrentes des neurones préoptico-infundibulaires et les corps cellulaires parents, (Fig. 41, b). Si un tel dispositif existe pour le système à LH - RH, ces interneurones inhibiteurs peuvent être impliqués dans un processus d'autorégulation. A l'appui de cette hypothèse, vient la remarque que des neurones excités de manière orthodromique présentent une augmentation de leur taux de décharge au cours de l'application microiontophorétique de LH - RH. Ces réponses sont cependant trop rares pour que l'on puisse adhérer sans de grandes réserves à cette proposition.

#### b) Action sur le comportement sexuel

Les fonctions extraendocriniennes attribuées à LH - RH sont principalement relatives à son action sur les circuits cérébraux contrôlant l'activité sexuelle du rat mâle et femelle (MOSS et Mc CANN, 1973 ; PFAFF, 1973). L'acceptation du mâle par la femelle ovariectomisée-prétraitée aux oestrogènes est favorisée par l'injection du peptide. Celui-ci agit aussi sur le mâle intact ou castré-prétraité à la testostérone en accélérant le processus d'éjaculation (MOSS et Coll., 1975, c). Il est admis que l'action du peptide dans le déclenchement de ces comportements spécifiques se manifeste au niveau de centres intégrateurs localisés dans le noyau arqué et l'aire préoptique (MOSS et FOREMAN, 1976). Il est par conséquent tentant de mettre en parallèle l'action facilitante exercée par LH - RH envers le déclenchement de comportements spécifiques au niveau d'un centre intégrateur préoptique et les effets excitants observés à l'échelon unitaire sur les neurones non identifiés dans la même région. Le tractus préoptico-terminal à LH - RH peut constituer la voie d'accès à ce centre pour la neurohormone.

Sans écarter l'idée d'une action de type neurotransmetteur, rien ne permet d'affirmer avec certitude que la présence de neurones sensibles à la LH - RH dans la région septopréoptique implique la libération du peptide au niveau de terminaisons présynaptiques. Les modifications comportementales déclenchées par la substance demandent plusieurs heures pour s'établir, ce délai n'étant pas compatible avec le concept de la neurotransmission.

D'une part on peut invoquer, pour expliquer la présence dans les régions directement concernées par l'élaboration et le contrôle de la cession de LH - RH de neurones sensibles à cette substance, l'existence d'une rétroaction ultracourte par voie sanguine (CORBEN et BEATIE, 1976) semblable à celle supposée pour le FSH-RH (HYPPA et Coll., 1971). D'autre part la possibilité n'est pas exclue que le liquide céphalo-rachidien ne serve de moyen de communication (RODRIGUEZ, 1976) emprunté par LH - RH pour atteindre diverses régions du cerveau : elle y est présente (KNIGGE et JOSEPH, 1974) et atteint par cette voie l'hypophyse antérieure (ONDO et Coll., 1973 ; WEINER et Coll., 1973). A titre de comparaison, il est reconnu qu'une autre hormone hypothalamique, la vasopressine, exerce ses actions comportementales au niveau des structures mésencéphaliques après un transport via le liquide céphalo-rachidien (de WIED et GISPEN, 1977).

En conclusion, l'existence de neurones sensibles à LH - RH dans la région septopréoptique ne peut être interprétée actuellement que de manière hypothétique. Du point de vue comportemental et neuroendocrinien, cette région est simplement considérée comme étant une structure effectrice du peptide. Quelque soit la voie utilisée pour atteindre les neurones effecteurs, celui-ci l'informe de l'état d'activité du système neurosécrétoire à LH - RH. Cette information provoque une réaction immédiate des cellules cibles qui, par une modification de leur activité électrique, interviennent rapidement dans les mécanismes de régulation de la production du neurosécrétat, ou engagent des processus complexes débouchant à long terme sur le déclenchement de comportements sexuels spécifiques. De nombreux arguments font pencher en faveur d'un transfert trans-synaptique de l'information dont ~~la~~ LH - RH est le support.

La région préoptique, contenant les corps cellulaires élaborant LH - RH ainsi que le centre intégrateur des influx responsables de l'activité sexuelle, est concernée en premier lieu par cette information.

Les effets de LH - RH s'exerçant sur les neurones septaux, il est possible d'envisager pour ceux-ci un rôle important dans le contrôle de la libération de la neurohormone, du fait de leur connexion directe avec les éléments du noyau arqué.

### CHAPITRE III

#### PROSTAGLANDINES E<sub>2</sub> et F<sub>2α</sub>

Les prostaglandines (PG) forment une famille de composés classés en quatre groupes et caractérisés par leur ubiquité et leur multitude d'actions au sein de l'organisme. Parmi ces composés, il est admis que ceux du groupe E exercent une grande influence sur la sécrétion des hormones hypophysaires : la PGE<sub>2</sub> en particulier exerce un effet stimulant sur la libération de LH, bien démontré dans de nombreuses espèces (HARMS et Coll., 1973 ; TSAFIRI et Coll., 1973 ; CARLSON et Coll., 1973 ; SATO et Coll., 1974 ; HARMS et Coll., 1974 ; BATTÀ et Coll., 1973, 1974). Des résultats d'interprétation moins évidente tendent à conférer également à la PGF<sub>2α</sub> un rôle facilitant dans la libération de LH : si l'application de cette substance par la voie intraventriculaire n'a aucun effet vis-à-vis de la fonction LH chez le rat, son action stimulante est démontrée après une injection intraveineuse (BATTÀ et Coll., 1974), de même chez la brebis (CARLSON et Coll., 1973).

Le rôle physiologique joué par les PG au sein de l'axe hypothalamo-hypophysaire est démontré par l'injection de drogues (aspirine, indométhacine) inhibant la synthèse de ces substances : celles-ci réussissent à bloquer la décharge de LH obtenue après un traitement par les oestrogènes ou la progestérone (LABHSETWAR et ZOLOVICK, 1973 ; CARLSON et Coll., 1974). La synthèse des PG est donc impliquée dans les processus contrôlant la sécrétion de LH. Par contre, le site réel au niveau duquel ces substances exercent leur effet activateur au sein de l'axe hypothalamo-hypophysaire reste le sujet de controverses. Ce site peut être l'hypophyse (HARMS et Coll., 1973, 1974) bien que les résultats obtenus *in vitro* sur l'action des PG à ce niveau soient contradictoires (ZOR et Coll., 1970 ; RATNER et Coll., 1974). Un autre site possible est l'hypothalamus (HARMS et Coll., 1973) où les PG



peuvent influencer les mécanismes permettant la libération de LH-RH.

La démonstration étant faite de l'existence de neurones sensibles aux PG dans diverses régions du cerveau (AVANZINO et Coll., 1966 ; HOFFER et Coll., 1969 ; HORTON, 1972) nous tentons de prouver une action directe de ces substances au niveau hypothalamique, action pouvant être reliée à une intervention de ces substances dans les mécanismes nerveux contrôlant la libération de LH.

### RESULTATS

Chez 12 cobayes, 77 cellules, dont 38 identifiées antidromiquement par la stimulation de la région infundibulaire, sont soumises à l'application de l'une ou l'autre des PG ( $PGE_2$  = 25 cellules,  $PGF_{2\alpha}$  = 52 cellules). 13 sont insensibles à leur action, 7 inhibées et 57 excitées. Nous décrivons les effets observés sur 36 neurones appartenant à une population de 51 éléments disséminés dans l'aire préoptique.

#### 1) Cycle d'activation

L'action excitatrice des  $PGE_2$  et  $F_{2\alpha}$  se manifeste sur une population de 26 neurones par l'apparition d'un cycle d'activation composé d'une phase d'excitation croissante pendant laquelle la fréquence de décharge augmente progressivement, d'une phase d'excitation maximale au cours de laquelle le taux d'activité se stabilise à sa plus forte valeur et d'une phase de retour au niveau initial pendant laquelle la fréquence de décharge diminue progressivement (Fig. 42, a).

La durée respective de ces différentes phases varie d'un neurone à l'autre ; la durée totale du cycle d'activation est comprise entre 4 et 18 minutes. Son délai d'apparition après une première application de PG est long (19 cellules) et compris entre 1 et 4 minutes (Fig. 42, a et b) ou bref (7 cellules) et compris entre 1 et 45 secondes (Fig. 42, c) : ces valeurs sont calculées à partir du moment où le courant d'éjection cesse de traverser la micropipette.

#### 2) Désensibilisation

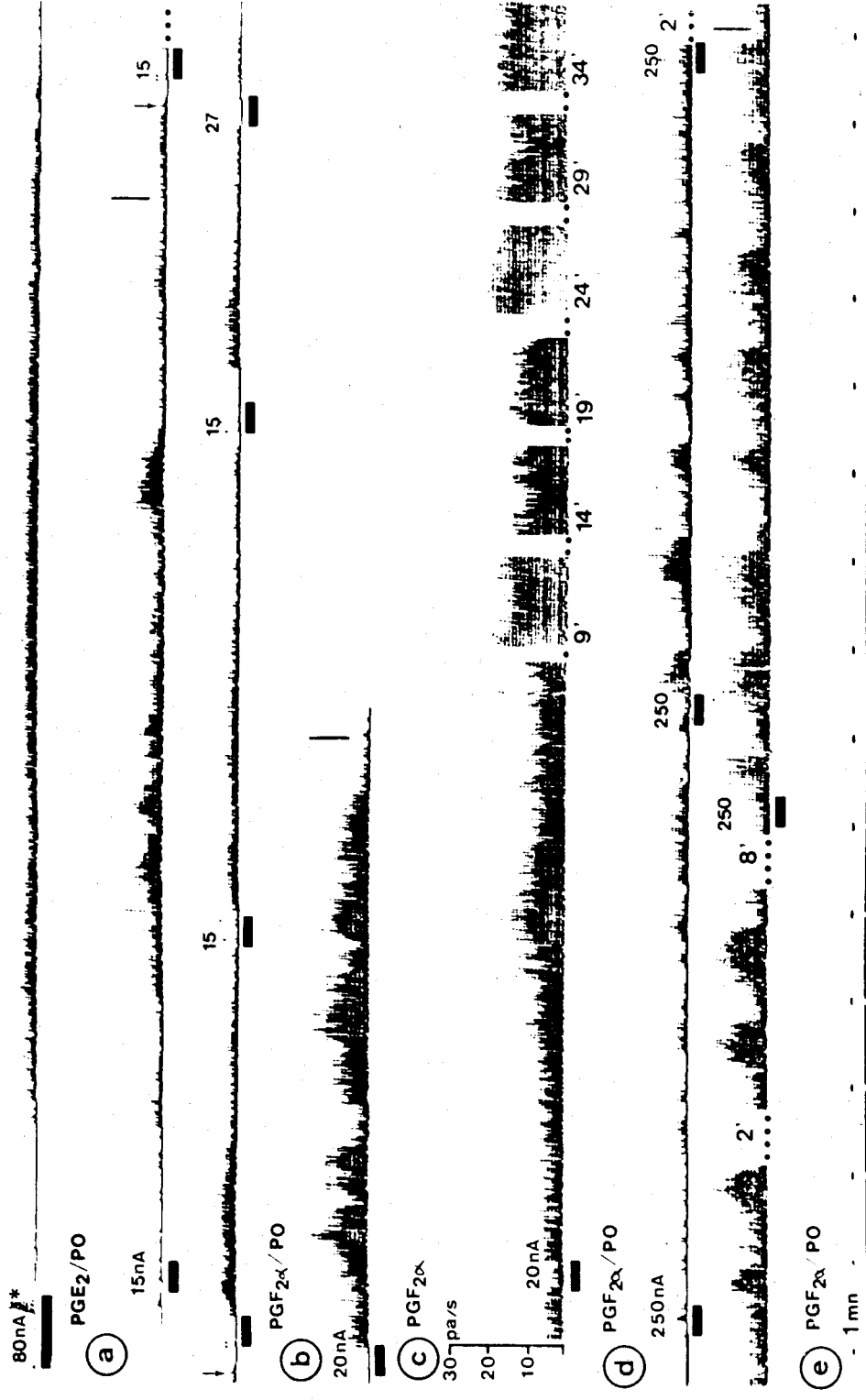
Lors d'applications répétées de la substance, la nouvelle éjection n'étant réalisée que lorsque le niveau d'activité initial est retrouvé,

FIGURE 42 . Cycles d'activation des neurones de l'aire préoptique soumis à l'application microiontophorétique des prostaglandines E2 et F2 $\alpha$  .

Enregistrements de leur fréquence de décharge intégrée .

- a . Exemple typique d'un cycle d'activation de longue durée, apparaissant avec un délai notable après une application de prostaglandine (PG) E2 à un neurone de l'aire préoptique (PO) . L'astérisque signale un effet électrotonique du courant d'éjection non compensé .
- b . Désensibilisation au cours d'applications répétées de PGF2 $\alpha$  . La 5<sup>ème</sup> application, bien que d'intensité supérieure, ne provoque qu'une faible excitation du neurone devenu progressivement insensible à l'action de la substance .
- c . Cycle d'activation de longue durée, apparaissant avec un très bref délai après une application de PGF2 $\alpha$  .
- d . Excitation de longue durée d'un neurone présentant une forte activité spontanée, sans réapparition de la fréquence de décharge initiale, après une application de PGF2 $\alpha$  . Des séquences d'une minute sont extraites de l'enregistrement graphique 9,14,19,24,29 et 34 minutes après la fin de l'éjection de la substance .
- e . Intensification progressive de la réponse d'un neurone silencieux soumis à de fortes doses de PGF2 $\alpha$  . Les pointillés correspondent à des périodes d'arrêt de 2 et 8 minutes de l'enregistrement graphique . Noter l'activation rythmique de cet élément .

pa/s : potentiels d'action par seconde ; barre verticale en b et c : 10 pa/s .  
Echelle des temps en e .



Le neurone répond à chaque fois par un nouveau cycle d'activation . La reproductibilité de l'effet excitant permet d'éliminer la possibilité que les cycles observés ne soient dus à une lésion intempestive de la membrane cellulaire par la pointe de la microélectrode . Elle est limitée dans le temps par l'apparition d'un phénomène de désensibilisation . Ce phénomène se caractérise, pour des quantités de courant d'éjection identiques, par une diminution progressive du délai d'apparition du cycle d'activation, ainsi que de la fréquence de décharge de sa deuxième phase (Fig. 42, b) .

### 3) Autres effets

Dans 8 cas, lorsque le neurone présente une forte activité spontanée, la phase d'excitation maximale du cycle d'activation se poursuit pendant une très longue période (Fig. 42, d) de telle sorte que le retour de la fréquence de décharge à son niveau initial ne soit pas observé. Deux neurones ne présentent pas le phénomène de la désensibilisation. Soumis à de fortes doses de PG, ils répondent par une augmentation progressive de leur fréquence de décharge au cours des applications successives. Ce type de réponse s'accompagne dans un cas de l'apparition d'une activité rythmique, de période égale à 1 minute environ (Fig. 42, e).

## DISCUSSION

Notre travail démontre pour la première fois l'existence, dans la région préoptique, de neurones sensibles à l'application microiontophorétique des  $PGE_2$  et  $F_{2\alpha}$  . L'action de ces substances se manifeste principalement par l'apparition d'un cycle d'activation de délai variable et caractérisé par une accélération progressive de la fréquence des potentiels d'action suivie d'un retour également progressif au niveau d'activité initial. La désensibilisation du neurone apparaît lorsqu'il est soumis à des applications successives. Ce type d'effet est obtenu avec l'une ou l'autre des deux substances, sur des neurones identifiés ou non par leur projection vers la région infundibulaire, aussi bien dans la région préoptique que dans la région tubérale chez le cobaye (POULAIN et CARETTE, 1974).

### 1) Type de réponse

L'effet excitant accompagné d'une désensibilisation progressive du neurone effecteur (AVANZINO et Coll., 1966) caractérise l'action des PG appliquées dans diverses régions du cerveau (HOFFER et Coll., 1969 dans le cervelet ; AVANZINO et Coll., 1966 dans le tronc cérébral) y compris dans l'aire préoptique (JELL et SWEATMAN, 1977). Cette dernière est impliquée dans les mécanismes de la thermorégulation. Les PG du groupe E, qui exercent une action spécifique sur les éléments responsables du déclenchement de l'état fébrile chez le chat (FELDBERG et SAXENA, 1974) et le rat (WILLIAMS et Coll., 1977), peuvent agir sur les neurones thermosensibles qui y sont localisés. Cela est démontré par JELL et SWEATMAN (1977) qui décrivent l'effet excitant des PG appliquées par microiontophorèse, sur les neurones thermosensibles de l'hypothalamus rostral. Il y est limité au temps de passage des courants d'éjection. Les cycles d'activation que nous décrivons témoignent d'une action modulatrice plus soutenue, qui s'adresse vraisemblablement à d'autres neurones effecteurs, surtout lorsqu'elle est observée sur ceux qui se projettent directement vers la région infundibulaire.

### 2) Signification fonctionnelle des effets.

#### a) Sites d'intervention des PG dans le contrôle de la fonction LH

L'action stimulante des PG vis-à-vis de la fonction LH s'exerce soit au niveau hypophysaire, soit au niveau hypothalamique. LH - RH agit sur l'hypophyse antérieure en provoquant la libération d'hormones spécifiques et la production d'AMP cyclique (AMPc) ; la modification du taux du message intracellulaire accompagne l'activation des cellules sécrétrices. Or, le rôle stimulant des PG du groupe E envers l'accumulation d'AMPc hypophysaire est bien connu. Par ce moyen, les PG ont donc le pouvoir de modifier directement le niveau d'activité des cellules à LH. Les résultats obtenus *in vivo* à l'aide d'implantations intrahypothalamiques de PGE<sub>2</sub> et F<sub>2α</sub> (OJEDA et Coll., 1977 a et b) d'injections de PG dans les vaisseaux portes (ESKAY et Coll., 1975) et *in vitro* sur le tissu hypophysaire (CHOBSIENG et Coll., 1975) vont à l'encontre de cette hypothèse. D'autres résultats, également, suggèrent que les effets des PG envers la fonction LH s'exercent au niveau hypothalamique, sur les taux de LH - RH libérés dans le système porte :

l'injection intraventriculaire de  $PGE_2$  provoque une augmentation considérable des niveaux LH - RH dans le sang porte chez le rat mâle (ESKAY et Coll., 1975) et dans la circulation périphérique de rates ovariectomisées (OJEDA et Coll., 1975). L'administration d'un sérum anti LH - RH contrarie l'élévation du taux de LH succédant à l'application des PG chez le même animal (CHOBSIENG et Coll., 1975 ; LABRIE et Coll., 1977 ; ESKAY et Coll., 1977). Ces résultats sont interprétés en invoquant l'action facilitatrice des PG envers la libération de LH - RH, qui peut s'exercer au niveau de la terminaison infundibulaire des neurones élaborateurs (LABRIE et Coll., 1976). Cependant, par des implantations de  $PGE_2$  bien localisées, OJEDA et Coll. (1977a) apportent la preuve que chez la rate, le site le plus efficace pour obtenir une forte libération de LH est bien l'aire préoptique. La  $PGF_{2\alpha}$ , dans la même région, a un effet notable, bien que moins marqué. Cela confirme le rôle joué par cette PG dans les mécanismes de contrôle de la fonction LH chez différents mammifères (ROBERTS et CRAKEN, 1975 ; WARBERG et Coll., 1976 ; CARLSON et Coll., 1977, a et b). Une preuve indirecte de l'action des PG sur les neurones à LH - RH de l'aire préoptique est apportée chez la rate par les observations de HALL et LUTTGE (1977). Elles révèlent que cette région est la plus sensible à l'implantation de  $PGE_2$  pour le déclenchement de comportements liés à l'activité sexuelle. Or, l'administration de  $PGE_2$  facilite l'induction de la réceptivité sexuelle par l'intermédiaire d'un mécanisme amorcé par LH - RH (HALL et Coll., 1975 ; DUDLEY et MOSS, 1976).

En résumé, ces arguments suggèrent que les  $PGE_2$  et  $F_{2\alpha}$  exercent leur action stimulante envers la fonction LH en grande partie dans la région préoptique, sur les péricaryons élaborant la LH - RH ou sur les neurones voisins engagés dans le contrôle de l'activité de ces derniers.

#### b) Mode d'action des PG envers les neurones à LH - RH

Il faut s'interroger sur les moyens par lesquels les PG contrôlent l'activité des neurones à LH - RH. Ces substances ont la capacité d'agir au niveau de la synapse noradrénergique, que ce soit au niveau postsynaptique dans le système nerveux central, en déprimant spécifiquement la réponse du neurone effecteur (MARRAZZI et DAUGHERTI, 1977), ou au niveau présynaptique dans le système nerveux périphérique, en supprimant la libération de l'in-

termédiaire chimique, (HEDQVIST, 1973 ; BRODY et KADOWITZ, 1974). On peut envisager que l'action des PG envers les neurones à LH - RH s'exerce par une modification de la libération et/ou de l'action des catécholamines (HORTON, 1972 ; HARMS et Coll., 1973) en particulier de la noradrénaline (LABHSETWAR et ZOLOVICK, 1973). Ce mode d'action est plausible en raison de l'importance du rôle exercé par les catécholamines dans les mécanismes contrôlant la libération de LH, surtout au niveau préoptique (KALRA et McCANN, 1973a). Toutefois, lorsqu'elles sont appliquées par microiontophorèse, les PG n'altèrent en rien les réponses obtenues dans l'aire préoptique avec différentes amines biogènes (JELL et SWEATMAN, 1977). De plus, l'application d'une variété d'agents bloquants des récepteurs monoaminergiques (et cholinergiques) ou d'inhibiteurs de la synthèse des catécholamines n'altère pas le pouvoir des PG envers la libération de LH (HARMS et Coll., 1976 ; JYUJO et SATO, 1976). En conséquence, l'action directe des PG sur les péricaryons des neurones élaborant LH - RH est suggérée.

En conclusion, nos résultats démontrent que l'aire préoptique représente un des sites d'action des PG. A ce niveau, les effets de longue durée qu'elles provoquent (cycles d'activation) traduisent une action modulatrice soutenue. Cette action peut s'adresser directement aux péricaryons des neurones élaborant LH - RH. Dans ce cas, elle est reliée à l'influence facilitatrice qu'exercent les PG sur la fonction LH.

## CHAPITRE IV

### PROLACTINE

Les cellules hypophysaires sécrétant la prolactine sont sous l'influence permanente d'un facteur inhibiteur passant de l'hypothalamus à l'hypophyse par la voie du système porte (voir MEITES et CLEMENT, 1972). Le système dopaminergique tubéro-infundibulaire, originaire des neurones du groupe A<sub>12</sub> localisé dans la région hypothalamique médio-basale périventriculaire (en particulier dans le noyau arqué), apparaît comme étant responsable de l'inhibition tonique de la libération de la prolactine (HOKFELT et FUXE, 1972 ; MEITES et Coll., 1972). Deux mécanismes sont invoqués pour expliquer l'action inhibitrice de la dopamine (FUXE et HOKFELT, 1974) :

- la dopamine exerce un effet direct sur les cellules hypophysaires par la voie du système porté (Fig. 1) ;

- la dopamine stimule des terminaisons neurosécrétrices de l'éminence médiane contenant un facteur inhibiteur de structure inconnue, qui entre alors dans la circulation portale pour exercer son propre effet au niveau hypophysaire.

Il est actuellement reconnu que l'inhibition des cellules élaboratrices de la prolactine est provoquée en partie par la dopamine (SHAAR et CLEMENS, 1974) en partie par le PIF, facteur hypothalamique non dopaminergique, dont l'activité est démontrée à partir de fractions subcellulaires de l'hypothalamus médio-basal (ENJALBERT et Coll., 1977). La prolactine exerce la régulation de sa propre sécrétion par une rétroaction au niveau hypothalamique (CLEMENT et MEITES, 1968). Les neurones dopaminergiques tubéro-infundibulaires constituent l'effecteur des mécanismes nerveux déclenchés par cette rétroaction (EIKENBURG et Coll., 1977) ; leur activation en est le résultat et entraîne l'inhibition de la sécrétion de l'hormone (ADVIS et Coll., 1977). De très nombreuses données, dont certaines demeurent contradictoires (voir TINDAL, 1974), indiquent que la région préoptique participe aux



mécanismes de contrôle de la sécrétion de la prolactine. La présence dans cette région de neurones sensibles à l'hormone (CLEMENS et Coll., 1971,a) laisse supposer qu'elle représente l'un de ses sites d'impact au cours de sa rétroaction inhibitrice. Par les relations privilégiées qu'ils entretiennent avec la région infundibulaire, les neurones préoptiques ont la possibilité d'influencer l'activité du système dopaminergique tubéro-infundibulaire. En reprenant à l'aide de la technique de microiontophorèse l'étude de la localisation des neurones sensibles à la prolactine chez le rat, YAMADA (1975) découvre que si l'existence de tels neurones est réelle dans le noyau arqué, l'aire préoptique en contient au contraire très peu. Devant l'aspect contradictoire des résultats obtenus par CLEMENS et Coll., (1971 a) et YAMADA (1975) nous avons entrepris d'étudier chez le cobaye, par microiontophorèse, les effets de prolactine dans l'aire septopréoptique, dans l'hypothèse d'une action directe de l'hormone sur les éléments d'une région directement impliquée dans le contrôle de sa sécrétion.

#### RESULTATS

Chez 7 cobayes, l'activité de 63 neurones est analysée dans l'aire septopréoptique. 18 sont identifiés antidromiquement par la stimulation de la région infundibulaire. Parmi les 63 cellules soumises à l'application de prolactine, 27 ne montrent aucune modification de leur fréquence de décharge (spontanée ou induite par le glutamate), 6 sont inhibées et 30 activées.

L'action de l'hormone se manifeste de deux manières différentes, en considérant le cours des effets obtenus : ces deux types de réponse sont observés pour des quantités de courant identiques et des durées de passage similaires, parfois lors d'une même descente.

##### 1) Premier type de réponse : inhibition et excitation limitées à la période d'application de la prolactine

6 neurones répondent à l'application de la prolactine par une diminution de leur fréquence de décharge spontanée (Fig. 44, a), ou induite par le glutamate (Fig. 44, f). Cette inhibition est limitée au temps de passage du courant polarisant et apparaît avec une latence comprise entre 0,5 et 2 secondes. Le niveau d'activité initial du neurone est retrouvé quelques secondes après l'application.

FIGURE 43 . Emplacement et réponse des neurones soumis  
à l'application microiontophorétique de prolactine .

La position approximative des neurones est reportée sur une coupe frontale le long d'un même axe passant par le septum (s) le tractus diagonal de Broca (bd) et le noyau préoptique périventriculaire (pp) .

CA : commissure blanche antérieure ; CO : chiasma optique .

a : 2<sup>e</sup>me type de réponse : excitation prolongée (cercles)

b : 1<sup>er</sup> type de réponse : inhibition (triangles pointés vers le bas) et excitation (triangles pointés vers le haut) brèves .

Symboles vides : neurones identifiés par leur projection vers la région infundibulaire ; symboles noirs : neurones non identifiés .

TABLEAU N° 6 . Réponses des neurones du septum et de l'aire préoptique (APO), identifiés par leur projection vers la région infundibulaire (AA) ou non identifiés (AS), à l'application microiontophorétique de prolactine (PRL) .

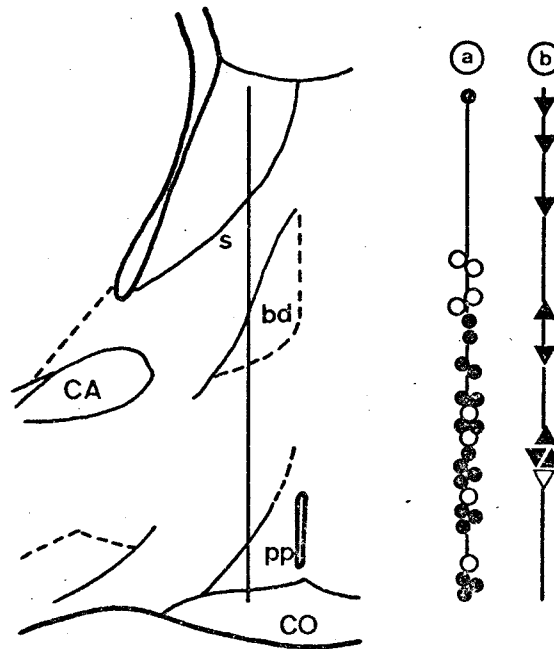


FIGURE 43 .

PRL Stimulation		1er type de réponse		2eme type de réponse Excitation	Pas d'effet
		Inhibition	Excitation		
SEPTUM	AA	0	0	4	6
	AS	3	1	3	11
APO	AA	1	0	4	3
	AS	2	2	16	7

TABLEAU N° 6 . . .

3 neurones sont excités par la prolactine, les délais d'apparition de l'effet et de retour au niveau d'excitabilité initiale étant comparables à ceux notés pour les inhibitions (Fig. 44, b).

Les effets sont caractérisés par la stabilité de la réponse vis-à-vis des applications successives ainsi que par la relation proportionnelle existant entre l'intensité des courants d'application et l'importance de la réponse obtenue.

Les neurones présentant le premier type de réponse sont dispersés dans la région septopréoptique (Fig. 43) et appartiennent aux noyaux septaux dorsaux et médians, aux noyaux verticaux du tractus diagonal de Broca et à l'aire préoptique médiane. Parmi ceux-ci, un seul est identifié par sa projection vers la région infundibulaire.

## 2) Second type de réponse : excitation de longue durée

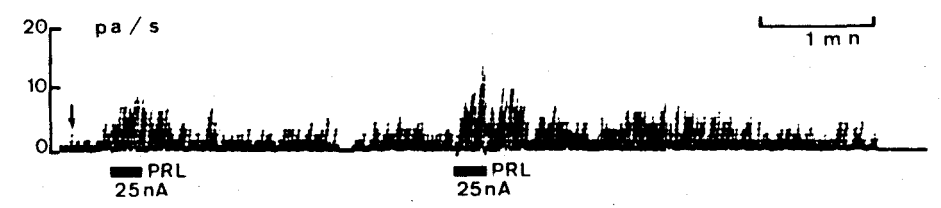
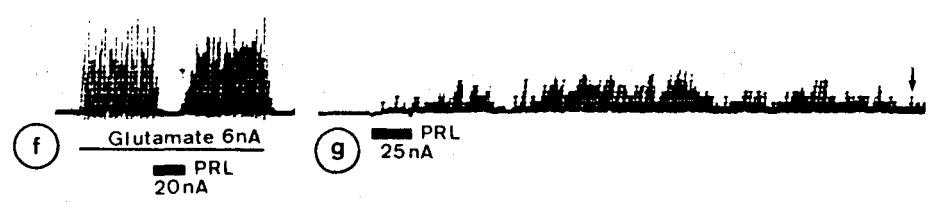
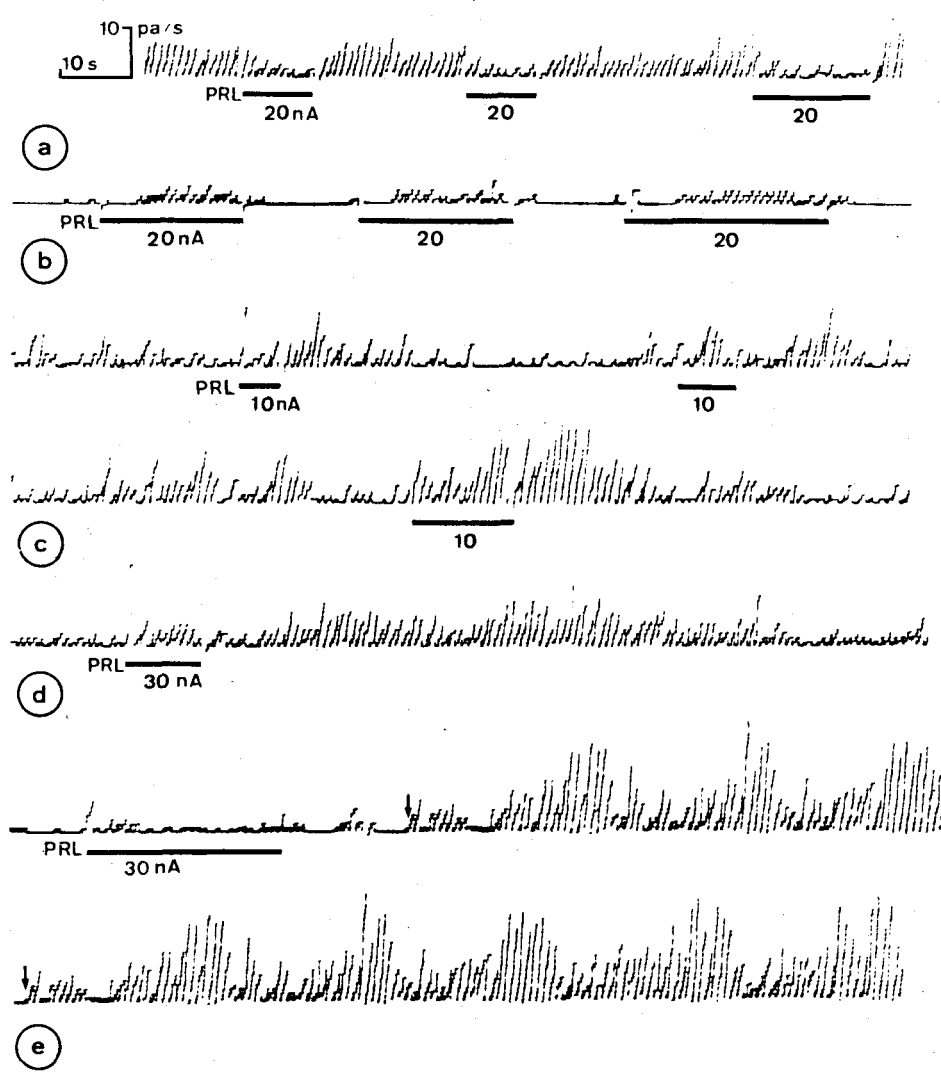
Une action excitatrice puissante et prolongée de la prolactine se manifeste sur une population de 27 neurones. L'augmentation du taux de décharge du neurone actif spontanément (Fig. 44, c, d et e) ou le déclenchement de l'activité du neurone silencieux (Fig. 44, g) apparaissent généralement au cours de la période d'éjection. L'effet se prolonge toujours après l'arrêt de l'application du courant polarisant. La fréquence de décharge atteint alors progressivement une valeur maximale avant de retourner à un niveau comparable à celui de l'activité initiale (Fig. 44, c, d et g). Le temps mis pour retrouver ce niveau d'activité initiale varie dans de fortes proportions lorsqu'il peut être précisé (30 secondes à 5 minutes) ; une valeur moyenne ne peut être calculée étant donné que dans quelques cas (Fig. 44, e), le taux de décharge initial n'est pas retrouvé avant la fin de la période d'enregistrement stable (il faut noter que dans l'exemple illustré par la figure 44, e, l'effet excitant se manifeste par l'apparition d'une activité rythmique de période égale à 25 secondes).

L'action excitatrice s'intensifie au cours des applications répétées de l'hormone et se traduit à chaque nouvelle éjection soit par une augmentation de la durée de l'excitation, accompagnée d'un renforcement de la fréquence des potentiels d'action (Fig. 44, c), soit par une augmentation de la fréquence de décharge observée pendant la phase d'application (Fig. 44, g).

FIGURE 44 . Types de réponse des neurones de l'aire septopréoptique soumis à l'application microiontophorétique de prolactine . Enregistrements graphiques de leur fréquence de décharge intégrée .

- a . Inhibition brève (sans délai et limitée au temps d'application) de l'activité spontanée d'un neurone sensible à l'action de la prolactine (PRL) .
- b . Excitation brève (de latence courte et limitée au temps d'application) d'un neurone silencieux . Remarquer le bref délai nécessaire à la mise en place de l'effet .
- c . Excitation de longue durée d'un neurone actif spontanément, se prolongeant après l'arrêt de l'application de la substance . Noter l'intensification de l'effet au cours des applications successives .
- d . Excitation prolongée d'un neurone actif spontanément, suivie d'un retour au niveau de décharge initial .
- e . Excitation prolongée d'un neurone silencieux, nécessitant un délai et se traduisant par l'apparition d'une activité rythmique .  
Le niveau de décharge initial n'est pas retrouvé . Le tracé inférieur reprend et poursuit le tracé supérieur à partir de la flèche .
- f . Suppression totale d'une activité déclenchée par le glutamate .
- g . Sensibilisation d'un neurone silencieux aux applications successives .  
Remarquer l'intensification progressive de la réponse (pour des mêmes valeurs des courants d'éjection) et le retour à l'état initial à la fin des périodes d'application .

pa/s : potentiels d'action par seconde .



1995  
1995

La figure 43 illustre la localisation des 27 neurones présentant le second type de réponse. Elle fait apparaître qu'ils sont groupés dans la région préoptique médiane et qu'un seul d'entr'eux appartient au noyau septal dorsal. On observe également que ce type de réponse caractérise 8 neurones parmi les 9 qui sont en relation directe avec la région infundibulaire.

L'ensemble des résultats est résumé dans le tableau 6.

## DISCUSSION

L'étude réalisée chez le cobaye femelle permet d'affirmer l'existence dans la région septopréoptique de neurones sensibles à la prolactine (POULAIN et CARETTE, 1976, 1977, b).

### 1) Types de réponse des neurones sensibles à la prolactine en fonction de leurs projections

Nos résultats confirment ceux obtenus par CLEMENS et Coll., (1971, a) qui décrivent les effets stimulants et déprimants, sur l'activité unitaire des neurones de l'aire préoptique chez la lapine, de la prolactine injectée par voie intraveineuse. Ils confirment également ceux obtenus par microiontophorèse par KAWAKAMI et SAKUMA (1976) au niveau de la région préoptique péri-ventriculaire chez la rate. La faible proportion de neurones sensibles découverts par YAMADA (1975) dans la région préoptique du rat peut s'expliquer par la différence de sexe (MALVEN, 1975). Nos résultats apportent en plus la description de deux types de réponse :

- le premier, limité au temps d'application de l'hormone, est obtenu au niveau de neurones non identifiés (sauf une exception), disséminés dans toute la région septopréoptique.

- le second, de longue durée, caractérise les neurones sensibles qui se projettent directement vers la région infundibulaire (sauf une exception). Il n'est observé que dans la région préoptique.

### 2) Implication de la prolactine dans un rôle de neurotransmission : effets brefs

Le premier type de réponse est semblable à celui qui apparaît lors de l'application d'un neurotransmetteur. Il se compose d'excitation et d'in-

hibition immédiates, ne dépassant pas la durée d'éjection. Il nécessite probablement la mise en jeu de sites post-synaptiques, puisque les inhibitions sont obtenues sur une activité induite par le glutamate. Il est noté au niveau de neurones ne présentant pas de caractéristiques particulières quant à leur topographie ou leurs projections. Ces propriétés tendent à impliquer la prolactine dans un rôle de neurotransmetteur. Des réponses du même type sont observées dans de multiples structures du système nerveux central (YAMADA, 1975). Les résultats d'études immunohistologiques indiquent qu'une substance apparentée à la prolactine est stockée dans des réseaux de fibres et de terminaisons nerveuses retrouvées dans diverses régions hypothalamiques (FUXE et Coll., 1977).

### 3) Signification fonctionnelle des effets de longue durée

#### a) Régulation de la sécrétion de prolactine.

L'activation du système dopaminergique tubéro-infundibulaire est la conséquence de la rétroaction centrale de la prolactine ; la présence dans la région préoptique de neurones sensibles à cette hormone indique qu'elle en est un des sites d'impact. Ceux qui répondent par une excitation prolongée et cumulative (second type de réponse) y sont groupés. La quasi-totalité des neurones sensibles identifiés par leur projection vers la région infundibulaire présentent ce type de réponse. En fonction de ces données, il est possible d'émettre l'hypothèse suivante :

- l'aire préoptique renferme des neurones qui, par leurs relations avec le système dopaminergique tubéro-infundibulaire, ont le pouvoir d'influencer (directement ou au terme de l'activation d'une chaîne de neurones dans la région infundibulaire) la cession du facteur inhibant la sécrétion de prolactine.

- pour réaliser l'autorégulation de sa sécrétion, la prolactine modifie l'activité électrique de ces neurones en l'augmentant de manière prolongée et cumulative.

La vérification de cette hypothèse est particulièrement difficile du fait que les processus résultant de l'action de la prolactine au niveau préoptique sont inconnus. L'hypothèse d'une influence facilitatrice des neurones



de l'aire préoptique envers l'activité du système dopaminergique tubéro-infundibulaire est toutefois en accord avec les résultats consacrant leur rôle dans le contrôle de la sécrétion de prolactine.

- chez le rat, la destruction de la région préoptique entraîne l'apparition de périodes répétées de pseudogestation, reflétant la suppression des mécanismes inhibant la sécrétion de prolactine (CLEMENS et Coll., 1976 ; BROWN-GRANT et Coll., 1977). Selon l'hypothèse envisagée, la lésion détruit les éléments exerçant leur action facilitatrice sur la libération du facteur inhibiteur, d'où une libération de prolactine. Au contraire, la stimulation de la même région provoque l'inhibition de la sécrétion de l'hormone (CLEMENS et Coll., 1971 c ; KAWAKAMI et Coll., 1973), cette intervention renforçant l'action facilitatrice.

- dans les différentes espèces, les voies nerveuses dont l'activation par la tétée déclenche la sécrétion de prolactine chez l'animal en lactation émergent dans la région préoptique et se terminent dans sa partie périventriculaire (TINDAL et KNAGGS, 1971, 1972, 1977). Selon la même hypothèse, les influx naissant du stimulus de la tétée mettent au repos les éléments facilitant la libération du facteur inhibiteur. Ce point est vérifié par TINDAL et KNAGGS (1977).

- l'action des oestrogènes qui conduit à une augmentation du taux de prolactine circulante s'applique spécifiquement aux régions rostrales de l'hypothalamus (CALIGARIS et TALEISNIK, 1977). Selon l'hypothèse envisagée, ils exercent leur influence facilitatrice sur la cession de l'hormone en inhibant l'activité des neurones qui renforcent l'action du système dopaminergique tubéro-infundibulaire. Cette suggestion implique que les oestrogènes et la prolactine (au cours de sa rétroaction inhibitrice) puissent exercer des actions opposées sur l'activité du même neurone effecteur. Cela est démontré par YAMADA (1975) qui signale l'existence de certains neurones à la fois excités par la prolactine et inhibés par les oestrogènes appliqués par microiontophorèse.

b) Régulation de la sécrétion de LH - RH

Toutes les situations physiologiques (gestation, lactation) et expérimentales, associées à de hauts niveaux de prolactine, sont liées à une inhibition de la libération de LH. Chez le cobaye (LEONARDELLI, 1976b) et le singe-écureuil (BARRY et POULAIN, 1976), l'application intra-ventriculaire de prolactine produit une accumulation de LH - RH dans les péricaryons et les terminaisons infundibulaires des neurones qui l'élaborent. Il est possible que les effets découverts sur les neurones préoptiques se projetant vers la région infundibulaire reflètent l'action directe de l'hormone hypophysaire sur les péricaryons à LH - RH. Rien ne permet d'argumenter en faveur de cette hypothèse. Il est plus probable cependant que l'action de la prolactine vis-à-vis des neurones à LH - RH s'exerce indirectement par l'activation des neurones dopaminergiques tubéro-infundibulaires (LOFSTROM et Coll., 1976) et/ou des neurones dopaminergiques de l'hypothalamus antérieur sensibles également à l'action de l'hormone (GUDELSKY et Coll., 1976).

En conclusion, la présence dans l'aire septopréoptique de neurones répondant à l'application microiontophorétique de prolactine de deux manières différentes, selon leur localisation et leurs projections, permet d'envisager les deux mécanismes suivants :

- la prolactine exerce une action de "type neurotransmetteur" se signalant au niveau de l'aire préoptique et du septum par des excitations et des inhibitions brèves.

- elle exerce dans l'aire préoptique une action excitatrice prolongée dont les effets peuvent être la manifestation électrophysiologique du stimulus hormonal permettant l'autorégulation de sa sécrétion. Il est possible que, du fait de leur projection vers la région infundibulaire, les neurones sensibles à cette action soient à l'origine des mécanismes aboutissant à l'inhibition de la cession de l'hormone, par une influence facilitante exercée sur le système dopaminergique tubéro-infundibulaire .

## DISCUSSION ET CONCLUSION

### DE LA TROISIEME PARTIE

Le principal avantage de la technique de microiontophorèse est de fournir des renseignements précis concernant

- la définition des types de réponse des neurones à l'action de substances choisies,

- la définition à l'échelon unitaire de leurs sites d'action.

Par contre, leur rôle exact envers la physiologie des neurones effecteurs ne peut qu'être difficilement envisagé, en raison de l'utilisation d'une méthode d'enregistrement en extracellulaire et des limitations de la technique elle-même (SALMOIRAGHI et STEFANIS, 1967 ; BLOOM, 1974). Leur site réel d'action (à l'échelon cellulaire) et leur mode d'action (à l'échelon moléculaire) ne sont considérés que de manière hypothétique.

#### A. ASPECTS METHODOLOGIQUES

##### 1) Considérations sur le site d'action des substances appliquées par microiontophorèse

###### a) Effets indirects

Bien que la méthode choisie soit la plus efficace pour limiter le nombre de sites atteints par la substance appliquée, sa migration à courte distance (dans les cellules gliales endommagées par exemple) ou à plus longue distance (dans l'espace intercellulaire) ne restreint pas son action au seul neurone dont l'activité est enregistrée. Des effets indirects peuvent ainsi être provoqués par la mise en jeu de neurones voisins en relation directe avec l'élément placé sous la microélectrode et sensibles à l'action de la substance.

### b) Effets au niveau pré-synaptique

D'autres effets peuvent résulter de l'action de la substance au niveau pré-synaptique. De nombreuses substances endogènes sont capables de modifier la libération des neurotransmetteurs naturels, en particulier des catécholamines. Une telle action des prostaglandines au niveau de la synapse adrénergique est envisagée. Cette action peut s'appliquer par l'intermédiaire de récepteurs préjonctionnels spécifiques (STARKE et Coll., 1977). Une action du même type est pressentie pour l'ACTH dans les mécanismes régissant le déclenchement de comportements spécifiques (GISPEN et Coll., 1977). En conséquence, il ne faut pas négliger la possibilité d'une intervention des substances appliquées dans les processus permettant la libération des intermédiaires chimiques naturels qui déterminent le niveau d'activité du neurone mis à l'épreuve.

### c) Effets au niveau post-synaptique

Les effets observés peuvent être la conséquence d'une action directe au niveau post-synaptique, se réalisant par l'intermédiaire ou non de récepteurs spécialisés.

Les actions à court terme de la prolactine et de LH - RH, semblables à celle de l'acétylcholine, ainsi que la présence de ces substances dans des fibres et des terminaisons nerveuses au sein de la région explorée, font envisager pour celles-ci un rôle identique à celui d'un neurotransmetteur. Ce rôle implique leur libération au niveau de synapses peptidergiques et leur interaction avec des récepteurs spécialisés présents dans les membranes excitables chimiquement. Rien ne permet de s'assurer de l'exactitude de l'hypothèse selon laquelle ces deux hormones jouent un rôle d'intermédiaire chimique. Aucune donnée n'existe concernant l'identité des récepteurs, la présence d'enzymes de dégradation, la libération physiologique de la substance à partir de la terminaison synaptique et la mise en parallèle, à l'aide d'agonistes, de l'effet physiologique et de celui obtenu lors de la micro-infusion. Le pouvoir qu'ont ces hormones d'inhiber totalement l'activité déclenchée par le glutamate peut tout au plus faire envisager pour elles l'existence d'un site d'action post-synaptique. Il est en effet prouvé que l'effet excitant du glutamate est produit par la dépolarisation de la membrane post-synaptique (due à une augmentation de la conductance aux ions  $\text{Na}^+$ ). Cette possibi-

lité doit cependant être considérée avec discernement, étant donné que l'effet inhibiteur observé peut résulter d'une action directe (non spécifique, non antagonisable) sur les canaux permettant les échanges intermembranaires de  $\text{Na}^+$ , responsables de l'électrogénèse de type graduable. On peut arguer de ce processus d'"anesthésie locale" (semblable à celui provoqué par la procaine), en l'absence d'une démonstration de la spécificité de l'effet observé, pour expliquer toutes les actions inhibitrices obtenues lors de l'application microiontophorétique d'une substance. Ce processus, compromettant l'efficacité du neurotransmetteur excitant naturel en réduisant l'amplitude des PEPS, est souvent lié à l'éjection de doses trop importantes et s'accompagne d'une modification de la forme et de l'amplitude des potentiels d'action. Celà n'a toutefois pas été le cas lors de l'application des deux hormones. Il faut enfin remarquer que leurs actions rapides sont notées au contact de neurones appartenant à toutes les structures explorées, et qu'elles peuvent s'exercer au niveau de sites importants dans le contrôle de la perméabilité, communs à de nombreuses membranes neuroniques.

## 2) Considérations sur le mode d'action des substances appliquées par microiontophorèse

La seule conséquence notable, à l'échelon membranaire, des phénomènes déclenchés par l'application d'une substance dans le milieu extracellulaire d'un neurone étant la modification de son rythme d'activité, ses mécanismes réels d'action demeurent inconnus. Les informations recueillies mettent en évidence deux types d'effets.

### a) Effets brefs

Les effets immédiats et brefs déclenchés par l'acétylcholine, la prolactine et LH - RH sont à l'image des événements à court terme que provoquent ces substances neurorégulatrices au contact de leurs neurones effecteurs. D'après les considérations précédemment exposées, ces effets traduisent :

- un transfert rapide de l'information entre sites pré et post-synaptiques, les substances hormonales faisant dans ce cas office d'intermédiaire chimique (comme cela est envisagé pour la substance P, la TRH, l'ocytocine et la vasopressine : voir BARKER, 1977).

- une action neuromodulatrice limitée au temps d'application de la substance, directe ou indirecte (action post ou pré-synaptique), spécifique ou non spécifique (par l'intermédiaire ou non de récepteurs spécialisés) sur la membrane responsable de l'électrogénèse de type graduable. Cette action neuromodulatrice influence l'excitabilité de l'élément étudié par un ajustement du niveau d'activité des compartiments pré-synaptiques afférents ou par une altération du niveau d'efficacité de ces derniers : action sur la cinétique de la destruction enzymatique des intermédiaires libérés dans l'espace synaptique, action sur le récepteur : modification de son affinité pour l'agoniste, changement de conformation, altération des modifications de la conductance trans-membranaire liées à sa mise en jeu .

#### b) Effets prolongés

Les effets prolongés, caractérisant l'action des prostaglandines et de la prolactine (au niveau de l'aire préoptique) traduisent sans aucun doute une altération à long terme de l'excitabilité membranaire, pouvant être le reflet d'une action neuromodulatrice plus puissante, ou d'une altération du métabolisme cellulaire.

##### α) Action modulatrice à long terme

Le seul exemple détaillé de la modulation à long terme de l'excitabilité d'un élément nerveux (par une substance hormonale) est fourni par l'étude des mécanismes provoquant le déclenchement d'une activité rythmique particulière (BURSTING-PACEMAKER POTENTIALS), réalisée par BARKER et SMITH (1976) sur les neurones endocrines de l'escargot. Elle révèle que, de même que le facteur peptidique extrait du ganglion du mollusque, la vasopressine et l'ocytocine ont le pouvoir de moduler l'activité nerveuse par une altération de la conductance aux cations dépendant du potentiel auquel est soumis la membrane (donc par une action directe sur les canaux excitables électriquement de la membrane du cône d'émergence de l'axone). Cette altération des propriétés de la membrane ; visant à rendre son potentiel instable, influence l'excitabilité du neurone, de telle sorte que la réponse à l'action combinée des différents neurotransmetteurs qui l'atteignent soit totalement modifiée. L'effet des hormones ne s'inactive que lentement, et la modulation de l'activité du neurone effecteur se poursuit longtemps après leur application. Cet exemple

précis d'une action neuromodulatrice (de type "neurohormonal" : BARKER, 1977) à long terme suggère l'hypothèse selon laquelle les effets de longue durée observés lors de l'application des prostaglandines et de la prolactine sont dus à une action du même type mais dont les mécanismes exacts restent inconnus.

Il faut ajouter qu'un type de réponse prolongée semblable à celui que nous décrivons pour la prolactine est observé par SANGHERA et Coll., (1978) lors de l'application microiontophorétique aux neurones de l'hypothalamus médio-basal d'autres hormones hypophysaires (FSH et LH).

Il faut enfin remarquer que la durée de la latence observée pour le déclenchement de ces effets prolongés peut s'expliquer par la cinétique de diffusion particulière de composés de poids moléculaire plus élevé et de mobilité moindre.

#### β) Altération du métabolisme cellulaire

Les phénomènes touchant à l'activité électrique d'un neurone soumis à l'application d'une substance biogène peuvent en réalité ne représenter qu'une conséquence, ou n'illustrer qu'une étape, de la profonde altération de son métabolisme cellulaire, qui culmine en une réponse physiologique décelable. La mise en contact des hormones peptidiques avec un récepteur localisé à la surface de leurs cellules cibles entraîne une synthèse d'AMP cyclique (AMPC). Cet intermédiaire en excès permet la transformation de l'incitation hormonale en une série de réactions métaboliques à court ou à long terme. Au niveau du neurone, l'augmentation du taux d'AMPC conduit à l'activation, dans la membrane post-synaptique, d'enzymes catalysant la phosphorylation des protéines qui ont un rôle essentiel dans le contrôle de la perméabilité. De ce fait, l'AMPC est le médiateur intracellulaire des actions d'une multitude de substances, dont les neurotransmetteurs (GREENGARD, 1976). En considérant que les actions hormonales au niveau de leurs cellules-cibles et au niveau de la cellule nerveuse s'expriment par des processus liés à la mise en jeu de l'AMPC, celui-ci peut servir à la transformation du signal hormonal en une série d'évènements métaboliques tout en provoquant la modification de l'excitabilité de la cellule nerveuse. L'implication de l'AMPC dans les mécanismes déterminant l'apparition d'une réponse électrophysiologique à l'application des prostaglandines est également concevable. Ces substances ont

le pouvoir de stimuler, au niveau hypophysaire, l'accumulation du second messenger ; cette action s'adresse de même aux éléments du système nerveux central en général (WELLMAN et SCHWABE, 1973) et à ceux de l'hypothalamus en particulier (LABRIE et Coll., 1976). Les excitations de longue durée relevées au cours de l'application microiontophorétique des prostaglandines peuvent être dues à une altération de la perméabilité membranaire liée à l'augmentation du taux intracellulaire d'AMPC.

En conclusion, l'étude microiontophorétique démontre l'influence neurorégulatrice qu'exercent l'acétylcholine, LH - RH, les prostaglandines et la prolactine sur l'activité nerveuse. Leur mode d'action ne peut être apprécié. L'information qu'elles convoient, transférée du compartiment pré-synaptique à la membrane post-synaptique, ou altérant l'activité nerveuse d'une autre manière, transforme le message ultime du neurone effecteur, ce qui se traduit par une modification à court terme (de type neurotransmetteur) ou à long terme (de type neuromodulateur) de son excitabilité, ce second type d'effet pouvant accompagner une profonde altération de son métabolisme.

#### B. SYNTHESE DES RESULTATS OBTENUS PAR LA TECHNIQUE DE MICROIONTOPHORESE

Les sites d'action d'une substance apparaissent parfois groupés à l'intérieur d'une zone bien délimitée. Dans cette zone, ses effets sont homogènes (même type de réponse) ; les neurones qui y sont sensibles sont identifiés par leur projection vers la région infundibulaire. La juxtaposition de ces données permet de définir les caractéristiques fonctionnelles de territoires particuliers de l'aire septopréoptique. Cette définition est toutefois malaisée, du fait que des effets semblables sont couramment notés à la fois pour les neurones identifiés et pour ceux dont la projection reste inconnue.

L'action des substances s'applique parfois indistinctement sur les neurones disséminés dans toute la région explorée. Les effets sont hétérogènes (plusieurs types de réponse) ; la projection des neurones sensibles est inconnue. Il est impossible dans ce cas de tirer des conclusions quant à la signification fonctionnelle des effets observés.



## 1) Caractéristiques fonctionnelles des structures de l'aire septopréoptique

### a) Septum

Un effet homogène (type de réponse : inhibition brève) caractérise l'action de LH - RH sur la fréquence de décharge des neurones du septum antérieur. Ces neurones sont groupés et se projettent directement vers la partie rostrale du noyau arqué. Ces résultats suggèrent une intervention du neuropeptide au niveau d'éléments constituant l'un des maillons du circuit nerveux conditionnant son élaboration et/ou sa cession. L'effet inhibiteur, transmis par le tractus septo-arcué, peut s'adresser aux neurones tubéro-infundibulaires élaborant LH - RH , ou influençant sa cession en agissant au niveau de l'articulation neuro-hémale (Fig. 45).

### b) Aire préoptique médiane

#### α) Contrôle de la fonction LH

L'Acétylcholine et les prostaglandines  $E_2$  et  $F_2 \alpha$  exercent une influence neurorégulatrice sur l'activité des neurones de l'aire préoptique médiane. Les données concernant le rôle de ces substances vis-à-vis de la cession de LH démontrent qu'elles agissent directement sur les péricaryons des neurones à LH - RH. Les effets homogènes obtenus lors des applications microiontophorétiques peuvent traduire leur influence directe sur l'élaboration, le transport axonal ou la libération du produit de neurosécrétion, qui s'accompagne d'une réaction électrophysiologique décelable. Les effets de l'Acétylcholine (type de réponse : excitation brève) suggèrent l'existence d'une synapse cholinergique contribuant à déterminer le niveau d'activité de l'élément neurosécréteur (qui retentirait sur le transport intra-axonal du produit de neurosécrétion). Les effets des prostaglandines  $E_2$  et  $F_2 \alpha$  (type de réponse : excitation prolongée) peuvent être le reflet de leur action sur le métabolisme du même élément (dont une synthèse accrue du produit de neurosécrétion serait une conséquence). Dans l'hypothèse selon laquelle l'influence de ces substances s'adresse aux péricaryons des neurones à LH - RH, il est vraisemblable que certains d'entr'eux soient à l'origine d'une voie préoptico-infundibulaire. En effet, des effets excitateurs sont observés sur les neurones

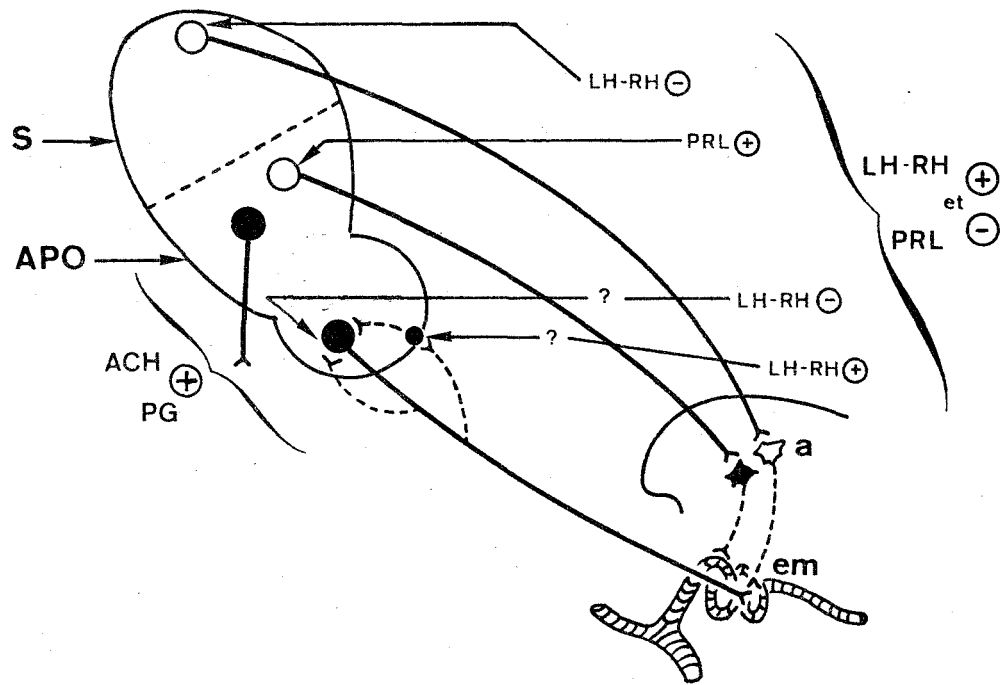


FIGURE 45. Propriétés fonctionnelles des neurones septopréoptiques : récapitulation schématique des résultats obtenus par microiontophorèse .

LH - RH et la prolactine (PRL) ont une action excitatrice  $\oplus$  et inhibitrice  $\ominus$  sur des neurones non identifiés disséminés dans l'aire septo-préoptique . Une action spécifique de ces hormones s'exerce sur les neurones se projetant vers la région infundibulaire :

- neurones septaux (LH - RH  $\ominus$ ) ; leur articulation hypothétique avec des neurones tubéro-infundibulaires est représentée ;
- neurones préoptiques (PRL  $\oplus$ ) ; leur articulation hypothétique avec les neurones dopaminergiques (en noir) est représentée .

Un mécanisme d'autorégulation de l'activité des neurones à LH - RH (●) de la voie préoptico-infundibulaire par l'intermédiaire du produit de neurosécrétion est également envisageable (● : interneurone inhibiteur) .

L'acétylcholine (ACH) et les prostaglandines  $E_2$  et  $F_{2\alpha}$  (PG) ont une action excitatrice  $\oplus$  sur les neurones préoptiques, qui intéresse les neurones à LH - RH de la voie préoptico-infundibulaire et d'autres voies extra-infundibulaires .

a: noyau arqué ; APO: aire préoptique ; em: éminence médiane ; S: septum .

préoptiques identifiés par leur projection directe vers la région infundibulaire. Des effets identiques, notés sur les neurones non identifiés, traduisent l'impossibilité d'atteindre avec la stimulation la totalité des fibres éfférentes des neurones de cette voie, ou signifient que l'action des substances s'adresse à d'autres neurones à LH - RH entrant dans la constitution de voies extra-infundibulaires, tels ceux du tractus préoptico-terminal (Fig. 45).

Lors de l'application de LH - RH, des effets brefs, inhibitions ou activations, sont observés respectivement sur les neurones préoptiques excités antidromiquement ou orthodromiquement à partir de la région infundibulaire. Sans en écarter totalement l'hypothèse, ces observations sont trop fragmentaires pour pouvoir affirmer l'existence d'un mécanisme d'autorégulation de sa sécrétion par LH - RH. Libérée au niveau de synapses neurosécrétoires, la neurohormone pourrait, par le biais des collatérales axoniques récurrentes, agir directement, ou indirectement par l'intermédiaire d'interneurones inhibiteurs, sur les péricaryons de la voie préoptico-infundibulaire.

### β) Contrôle de la fonction prolactine

L'augmentation prolongée et cumulative de l'activité nerveuse est un des effets observés lors de l'application de la prolactine. Cet effet homogène intéresse les neurones de l'aire préoptique médiane. Il n'est pas noté dans le septum. La plupart des neurones identifiés par leur projection vers la région infundibulaire présentent ce type d'effet. Il est proposé que la région préoptique médiane représente un des sites de rétroaction de la prolactine par l'intermédiaire duquel elle inhibe sa propre sécrétion. Le stimulus hormonal est transmis aux neurones dopaminergiques tubéro-infundibulaires par le tractus septopréoptico-tubéral.

### 2) Actions hormonales diverses au niveau de l'aire septopréoptique

Des effets hétérogènes (excitations et inhibitions) sont provoqués lors de l'application de LH - RH et de prolactine au contact de neurones situés dans toute l'aire septopréoptique. Ces effets ne sont reliés ni à une structure particulière, ni à un type de neurone identifié. Ils traduisent l'activité neurorégulatrice rapide et puissante (les concentrations et les courants d'éjection nécessaires étant très faibles) des deux hormones sur l'excitabilité des éléments du système nerveux central.

Leurs moyens d'accès aux neurones effecteurs (sang, liquide céphalo-rachidien, milieu extracellulaire, transport axonique - dans ce dernier cas se posant alors le problème de la nature de la source : collatérales des axones pré-optico-infundibulaires ou voies extra-infundibulaires pour LH - RH, fibres nerveuses contenant une substance apparentée à la prolactine - ?), leurs mécanismes d'action et la finalité de l'action (rôle dans le déclenchement de comportements sexuels pour la LH - RH ?) de ces deux hormones demeurent inconnus .

DISCUSSION ET CONCLUSION

GENERALES

Le premier objectif de ce travail est l'identification chez le cobaye des relations existant entre les régions septopréoptique et infundibulaire (noyau arqué + éminence médiane), qui représentent classiquement les deux niveaux du contrôle de la sécrétion des hormones gonadotropes. Nous apportons la démonstration électrophysiologique et neuroanatomique de l'existence d'un tractus septopréoptico-tubéral ; nous décrivons ses caractéristiques neurophysiologiques et morphologiques. Nous complétons la définition qui en est donnée chez le rat en précisant que, de même que les neurones préoptiques, ceux du septum et du tractus diagonal de Broca établissent une relation directe avec l'hypothalamus médio-basal. Cette topographie corrobore, selon le concept traditionnel du contrôle de l'ovulation établi chez le rat, l'hypothèse d'un système septopréoptique (diffus) convergeant vers le tuber médio-basal et tenant sous sa dépendance l'activité des éléments neurosécréteurs tubéro-infundibulaires. Le rôle principal de ce système dans l'axe gonadotrope est de relayer et d'intégrer les influences hétérogènes provenant des structures limbiques puis de les transmettre à la région infundibulaire (CARRER et Coll., 1978). La mise en évidence simultanée du tractus septopréoptico-tubéral et d'un tractus tubéro-septopréoptique met l'accent sur les inter-relations existant entre les deux niveaux de contrôle qui peuvent ainsi ajuster leurs degrés d'activité respectifs (Fig. 46).

La découverte d'une localisation préférentielle des neurones élaborant LH - RH dans l'aire septopréoptique amène certaines hypothèses nouvelles qui rendent nécessaire le réexamen du rôle de cette région dans les fonctions de reproduction. Les agents interférant spécifiquement avec la sécrétion de LH peuvent y agir, non pas en modifiant l'activité des neurones du tractus septopréoptico-tubéral dont dépend celle des éléments neurosécréteurs tubéro-infundibulaires, mais en influençant directement, à leur origine, la physio-

logie des voies à LH - RH. Nos résultats suggèrent que tel est le cas pour l'acétylcholine et les prostaglandines E2 et F<sub>2α</sub>. La réévaluation des propriétés fonctionnelles de l'aire septopréoptique doit nécessairement s'appuyer sur la connaissance des connexions efférentes de ses différents territoires. L'examen attentif des sites de stimulation dans la région infundibulaire combiné au repérage précis de la localisation des neurones identifiés antidromiquement amènent à préciser, au sein du tractus septopréoptico-tubéral, l'existence de deux composants distincts. La mise en évidence électrophysiologique d'un tractus préoptico-infundibulaire et d'un tractus septo-arcué est confortée par les résultats parfaitement superposables obtenus par la méthode neuroanatomique. Cette découverte, associée aux données fournies par les expériences de lésion électrolytique et de microiontophorèse, permet d'envisager le rôle de la région septopréoptique sous de nouveaux aspects.

#### 1) Tractus préoptico-infundibulaire

La démonstration apportée de l'existence d'un tractus préoptico-infundibulaire remet en question le concept classique établi chez le rat, selon lequel tous les axones se terminant dans la partie externe de l'éminence médiane sont originaires de l'hypothalamus médio-basal. Chez le cobaye, ce tractus provient principalement des noyaux préoptiques médiaux, médian, périventriculaire et suprachiasmatique ; un regroupement des neurones aboutissant à la lèvre ventrale de l'éminence médiane est mis en évidence au voisinage de la crête supra-optique. Bien que des points de désaccord subsistent quant à l'existence du même tractus chez le rat, nos résultats ne semblent pas traduire une différence morphologique interspécifique. Nos observations initiales (POULAIN et PARTOUCHE, 1973), complétées dans cette thèse, sont vérifiées chez le rat, grâce à l'application de techniques neuroanatomiques (DAIKOKU et Coll., 1976 ; SWANSON, 1976 ; CONRAD et PFAFF, 1976, a) et électrophysiologiques (RENAUD, 1978). Dans les deux espèces, c'est la région préoptique médio-basale (suprachiasmatique) qui contribue essentiellement à la naissance du tractus destiné à l'infundibulum. Les interrelations privilégiées qui s'établissent entre ces deux régions sont suggérées par la démonstration d'un processus inhibiteur trans-synaptique qui touche les neurones préoptiques identifiés antidromiquement à partir de la lèvre ventrale de l'éminence médiane ; ce processus résulte probablement de

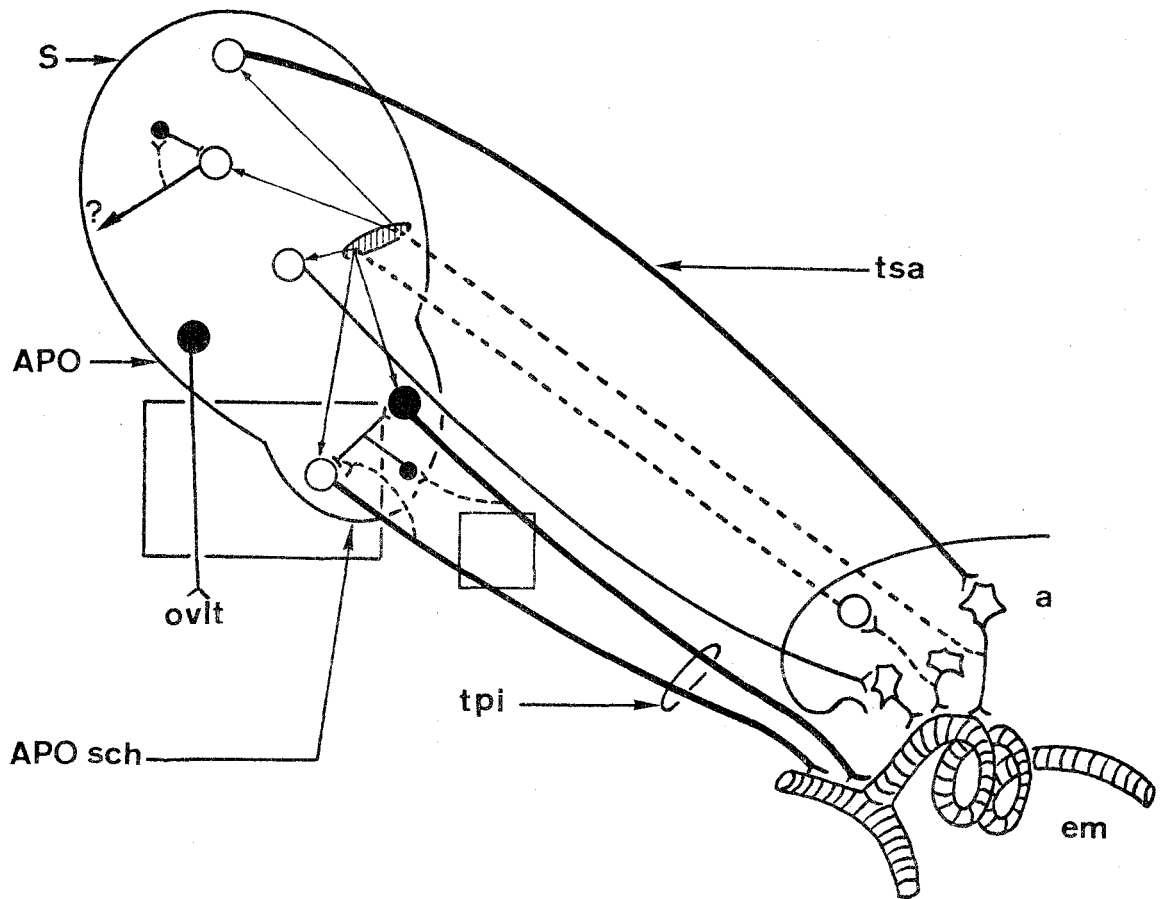


FIGURE 46. Relations entre l'aire septopréoptique et la région infundibulaire . Récapitulation schématique des résultats obtenus .

Le tractus septopréoptico-tubéral (en traits pleins) comporte deux composants principaux : le tractus septo-arcué (tsa) et le tractus préoptico-infundibulaire (tpi) . Ce dernier est originaire de la région préoptique suprachiasmatic (APO sch) et peut représenter le support anatomique d'une voie à LH - RH ( 1 ) . Des inter-relations privilégiées s'établissent entre l'APO sch et l'éminence médiane (em), probablement par des collatérales axoniques récurrentes , qui peuvent s'articuler avec des interneurons inhibiteurs ( 2 ) .

Le tractus tubéro-septopréoptique (en traits pointillés) comporte les axones et collatérales axoniques des neurones du noyau arcué (a), dont certains se projettent vers l'éminence médiane . Il distribue des influx inhibiteurs et excitateurs (flèches) aux neurones septopréoptiques identifiés ou non par leur projection vers la région infundibulaire .

Les lésions préoptiques (rectangle) détruisent le tractus préoptico-infundibulaire à son origine et interrompent la voie préoptico-terminale à LH-RH destinée à l'organe vasculaire de la lame terminale (ovlt) . Les lésions rétrochiasmatices (carré) interrompent le tractus préoptico-infundibulaire .

APO: aire préoptique ; S: septum .

- (1): ● — : neurones à LH - RH.  
 (2): ● — : interneurons inhibiteurs .



la mise en jeu de leurs collatérales axoniques récurrentes (Fig. 46) .

## 2) La voie préoptico-infundibulaire à LH - RH chez le cobaye

Le tractus préoptico-infundibulaire peut-il être considéré comme le support anatomique d'une voie neurosécrétrice à LH - RH ? Chez le cobaye, d'après BARRY et Coll., (1973, a) la plus grande partie des fibres à LH - RH observées dans les lèvres ventrale et dorsale de l'infundibulum est originaires de l'hypothalamus rostral. Niée par SILVERMAN (1976) et SILVERMAN et KREY (1977), l'existence d'une voie préoptico-infundibulaire à LH - RH est finalement reconnue par les mêmes auteurs (KREY et SILVERMAN, 1978). Toutefois, ces derniers affirment que son importance quantitative est mineure. Elle n'est constituée que des seuls axones d'origine préoptique qui rejoignent la lèvre ventrale de l'éminence médiane. Les autres, qui traversent l'hypothalamus dorsal, poursuivent leur course vers les noyaux interpedunculaires. Nos résultats mettent l'accent sur la localisation préférentielle dans la région préoptique périventriculaire (caudale et suprachiasmatic) des corps cellulaires d'où sont issues les fibres atteignant la lèvre ventrale de l'éminence médiane. Si les affirmations de KREY et SILVERMAN (1978) sont exactes, cette région est le point de départ du tractus préoptico-infundibulaire à LH - RH. L'origine des fibres immunoréactives à LH - RH observées dans la lèvre dorsale de l'infundibulum reste mystérieuse. Nos résultats n'apportent pas de précision sur ce point, car les identifications ne sont réalisées qu'à partir de la lèvre ventrale. Des discussions subsistent quant à l'existence, chez le cobaye, d'un tractus tubéro-infundibulaire pouvant aboutir à la lèvre dorsale. Toutefois, rien ne laissant présumer la nature du produit de neurosécrétion élaboré par les neurones préoptico-infundibulaires identifiés, il est impossible d'affirmer qu'il s'agit exclusivement de neurones à LH - RH. Dans la région préoptique périventriculaire et dans la crête supra-optique prennent naissance d'autres voies neurosécrétrices (à somatostatine : DUBOIS et KOLDZIEJCZYK, 1975 ; à ocytocine : WEINDL et SOFRONIEW, 1978). Les corps cellulaires des neurones à LH - RH ne sont observés qu'occasionnellement dans la seconde structure.

La signification fonctionnelle de la voie préoptico-infundibulaire à LH - RH est énigmatique. Si elle traverse la région rétrochiasmatic, comme le supposent SILVERMAN et KREY (1978) et en accord avec les caractéristiques essentielles des projections descendantes de l'aire préoptique, nos résul-

tats démontrent que son interruption (par les lésions rétrochiasmiques: FIG. 46) n'a pas de conséquences sur l'ovulation. Ils sont à rapprocher de ceux obtenus par BUTLER et DONOVAN (1971) et KREY et SILVERMAN (1978) qui démontrent que son sectionnement et sa destruction électrolytique n'ont pas d'incidence sur la sécrétion tonique et cyclique des hormones gonadotropes.

### 3) Tractus préoptico-arqué

Chez le rat, l'importance de la relation préoptico-arquée est prépondérante au sein de l'axe gonadotrope car elle relie le "centre cyclique" mis en jeu périodiquement pendant la période critique et le noyau arqué dont l'activation accompagne la décharge pré-ovulatoire de LH. L'intégrité de cette relation est indispensable au maintien de l'ovulation. Chez le cobaye, nous apportons la preuve que la destruction complète de l'aire préoptique suprachiasmaticque supprime l'ovulation. Plusieurs interprétations sont avancées pour expliquer ce résultat. Des observations récentes (KREY et SILVERMAN, 1978) indiquent que la même intervention n'est pas suivie d'une modification de la sécrétion tonique des hormones gonadotropes. Comme chez le rat, l'aire préoptique médio-basale peut donc être impliquée dans le contrôle de leur sécrétion cyclique. Toutefois, il n'apparaît pas que ses relations avec le noyau arqué puissent constituer le support anatomique du rôle qu'elle joue dans ce contrôle. Les lésions postérieures (rétrochiasmaticques) n'ont pas d'effet notable sur l'ovulation. Il est possible que la relation préoptico-arquée se réalise en partie par des fibres traversant l'hypothalamus de manière plus latérale (PHELPS et SAWYER, 1977). A l'encontre de cette hypothèse vient le fait que l'isolement total de l'hypothalamus médio-basal ne provoque pas de perturbation de la sécrétion cyclique de LH (BUTLER et DONOVAN, 1971). Les résultats obtenus par les méthodes d'identification ne signalent pas l'existence d'une relation importante entre l'aire préoptique suprachiasmaticque et la partie rostrale du noyau arqué. Il faut noter qu'il n'excluent pas la possibilité que les régions postérieures et dorsales de ce noyau ne reçoivent les efférences de la région préoptique. Qu'une relation existe entre cette dernière et les neurones tubéro-infundibulaires (élaborant LH - RH ou influençant son stockage et sa cession ?) reste plausible (KREY et SILVERMAN, 1978), mais son rôle est inconnu.

En fait, chez le cobaye, la région préoptique suprachiasmatique est impliquée dans le contrôle de l'ovulation et il est vraisemblable que ce contrôle ne s'exerce pas par l'intermédiaire d'une relation préoptico-arquée. Comme chez le singe (NORMAN et Coll., 1976), le tractus préoptico-terminal à LH - RH peut jouer un rôle essentiel dans ce contrôle. Il est interrompu par les lésions de la région préoptique suprachiasmatique (Fig. 46). L'origine et la systématisation de ce tractus ne prêtent plus à discussion mais le rôle physiologique de LH - RH libérée au niveau de la lame terminale demeure inconnu. L'aire de distribution des neurones fixant les oestrogènes (WAREMBOURG, 1977) se superpose exactement à l'emplacement des lésions efficaces. Il n'est pas encore possible de déterminer si les neurones stéroïdo-sensibles sont les éléments effecteurs de leur rétroaction positive, s'ils entretiennent des relations avec les neurones à LH - RH du tractus préoptico-terminal ou s'ils correspondent à ces derniers.

Dans le cadre des discussions soulevées par l'existence et le rôle physiologique de la relation préoptico-arquée chez le cobaye, nos résultats laissent supposer qu'une telle relation est fonctionnelle au cours de la rétroaction inhibitrice de la prolactine. Les neurones de l'aire préoptique médiane y sont spécifiquement sensibles et répondent par une augmentation prolongée de leur fréquence de décharge. Par l'intermédiaire de leurs relations avec l'hypothalamus médio-basal, ils ont le pouvoir d'influencer l'activité des neurones dopaminergiques tubéro-infundibulaires, qui inhibent la sécrétion de l'hormone hypophysaire.

#### 4) Tractus septo-arqué

Ce tractus est principalement originaire des noyaux septaux médians et provient également des régions adjacentes ainsi que des noyaux du tractus diagonal de Broca. Il aboutit à la partie antérieure du noyau arqué (Fig. 46). L'hypothèse d'une projection directe des neurones septaux vers l'éminence médiane, pouvant être le support anatomique d'une voie neurosécrétoire à LH - RH, n'est pas étayée par nos résultats, en particulier par ceux obtenus grâce à la méthode d'identification neuroanatomique. Il est admis actuellement que les axones à LH - RH originaires du septum établissent des contacts à faible distance avec les vaisseaux sanguins traversant la région ou à longue distance avec les neurones de l'habenula et du noyau interpédonculaire (SILVERMAN et KREY, 1978 chez le cobaye, BARRY,

1978 chez le singe).

Le tractus septo-arqué intervient probablement dans la fonction gonadotrope, comme cela est supposé chez le rat (HAGINO et YAMAOKA, 1976). A l'appui de cette hypothèse vient le fait qu'une action inhibitrice de LH - RH s'adresse spécifiquement aux neurones de ce tractus. La nature exacte de son intervention dans la fonction LH ne peut être précisée actuellement.

En conclusion, ce travail apporte les données concernant les caractéristiques anatomiques de l'aire septopréoptique et les premiers éléments permettant de tracer les grandes lignes de la systématisation des relations septo préoptico-tubérales.

L'importance quantitative de la relation septo-arquée relègue à un second plan la relation classique préoptico-arquée, substratum du contrôle de l'ovulation chez le rat. L'étude de sa signification fonctionnelle reste à entreprendre.

L'importance potentielle de la région préoptique suprachiasmatique dans le contrôle des sécrétions préhypophysaires découle du fait qu'elle entretient une relation directe avec l'éminence médiane. Seule l'analyse simultanée par des techniques immunocytochimique, électrophysiologique et microiontophorétique permettra de définir l'identité neurosécrétoire et le conditionnement des neurones préoptico-infundibulaires. Cette région est probablement le lieu d'origine de la voie préoptico-infundibulaire à LH - RH ; le rôle de cette voie dans le contrôle des sécrétions tonique et cyclique des gonadotropines reste énigmatique.

La région préoptique périventriculaire est dans son ensemble le site d'action d'agents interférant avec la fonction LH (acétylcholine, prostaglandines  $E_2$  et  $F_{2\alpha}$ ). Cette action s'adresse vraisemblablement aux péricaryons des neurones à LH - RH ; certains d'entr'eux appartiennent au tractus préoptico-infundibulaire. D'autres se projettent dans différentes régions. Le rôle des neurones à LH - RH du tractus préoptico-terminal dans le contrôle de la rythmicité oestrale est supposé. La même région contient également des neurones sensibles à la prolactine. Son intervention dans les mécanismes nerveux conditionnant l'activité préhypophysaire est donc affirmée.

Enfin, le pouvoir neurorégulateur des hormones hypothalamique (LH - RH) et hypophysaire (prolactine) s'exerce au niveau de neurones disséminés dans

toute l'aire septopréoptique. La signification fonctionnelle des effets observés est inconnue. Ils laissent supposer que ces hormones peuvent intervenir par des actions de type "neurotransmetteur" dans le contrôle de certains circuits.

## BIBLIOGRAPHIE

ADAMS J.C., WARR W.B. (1976) Origins of axons in the cat's acoustic striae determined by injection of horseradish peroxidase into severed tracts. *J Comp Neurol* 170, 107-122.

ADVIS J.P., HALL T.R., HODSON C.A., MUELLER G.P., MEITES J. (1977) Temporal relationship and role of dopamine in "short-loop" feedback of prolactin. *Proc Soc Exp Biol Med* 155, 567-570.

ALONSO G., BALMEFREZOL M., ASSENMACHER I. (1978) Etude de l'innervation monoaminergique et peptidergique de l'éminence médiane du rat par une combinaison sur le même hypothalamus des techniques d'histofluorescence, d'immunocytochimie et de radioautographie. *C R Soc Biol (Paris)* 172, 138-148.

ANDY O.J., STEPHAN H. (1959) The nuclear configuration of the septum of Galago demidovii. *J Comp Neurol* 11, 503-545.

ANDY O.J., STEPHAN H. (1964) "The septum of the cat". Thomas C.C., ed, Springfield (Ill. USA).

ARAKAI T., TERZUOLO C.A. (1962) Membrane currents in spinal motoneurons associated with the action potential and synaptic activity. *J Neurophysiol* 25, 772-789.

AVANZINO G.L., BRADLEY P.B., WOLSTENCROFT J.H. (1966) Actions of prostaglandins E1, E2 and F2 $\alpha$  on brain stem neurones. *Br J Pharmacol* 27, 157-163.

BARKER J.L. (1977) Physiological roles of peptides in the nervous system. In : "Peptides in neurobiology". Gainer H., ed, Plenum Press (New-York - London) pp 295-343.

BARKER J.L., CRAYTON J.W., NICOLL R.A. (1971 a) Antidromic and orthodromic responses of paraventricular and supraoptic neurosecretory cells. *Brain Res* 33, 353-366.

BARKER J.L., CRAYTON J.W., NICOLL R.A. (1971 b) Noradrenaline and acetylcholine responses of supraoptic neurosecretory cells. *J Physiol (Lond)* 218, 19-32.

BARKER J.L., SMITH T.G. Jr (1976) Peptide regulation of neuronal membrane properties. *Brain Res* 103, 167-170.

BARNEA A., BEN-JONATHAN N., COLSTON C., JOHNSTON J.M., PORTER J.C. (1975) Differential sub cellular compartmentalization of thyrotropin releasing hormone (TRH) and gonadotropin releasing hormone (LRH) in hypothalamic tissue. *Proc Nati Acad Sci USA* 72, 3153-3157.

BARRACLOUGH C.A., YRARRAZAVAL S., HATTON R. (1964) A possible hypothalamus site of action of progesterone in the facilitation of ovulation in the rat. *Endocrinology* 75, 838-845.

BARRY J. (1956) Les voies extrahypophysaires de la neurosécrétion diencéphalique. *C R Ass Anat* 89, 264-276.

BARRY J. (1978) Septo-epithalamo-habenular LRF reactive neurons in monkeys. *Brain Res* 151, 183-187.

BARRY J., DUBOIS M.P. (1973) Etude en immunofluorescence des structures hypothalamiques à compétence gonadotrope. Ann Endocrinol (Paris) 34, 735-742.

BARRY J., DUBOIS M.P. (1974) Immunofluorescence study of the preoptico-LRF neurosecretory pathway of the guinea pig during the estrous cycle. Neuroendocrinology 15, 200-208.

BARRY J., DUBOIS M.P. (1976) Immunoreactive LRF neurosecretory pathways in mammals. Acta Anat 94, 497-503.

BARRY J., DUBOIS M.P., CARETTE B. (1974) Immunofluorescence study of the preoptico-infundibular LRF neurosecretory pathway in the normal, castrated or testosterone-treated male guinea-pig. Endocrinology 95, 1416-1423.

BARRY J., DUBOIS M.P., POULAIN P. (1973 a) LRF-producing cells of the mammalian hypothalamus. Z Zellforsch Mikrosk Anat 146, 351-366.

BARRY J., DUBOIS M.P., POULAIN P., LEONARDELLI J. (1973 b) Caractérisation et topographie des neurones hypothalamiques immunoréactifs avec des anticorps anti-LRF de synthèse. C R Acad Sci (D) (Paris) 276, 3191-3193.

BARRY J., POULAIN P. (1976) Etude en immunofluorescence des neurones à LH - RH du singe écureuil après administration de prolactine hautement purifiée. J Physiol (Paris) 72, 14.

BATTA S.K., PIVA F., MARTINI L. (1973) Effects of prostaglandins E1, E2 et F2 $\alpha$  on gonadotrophin-induced ovulation in immature female rats. In : "Advances in biosciences", vol. IX, Bergstrom S., ed, Pergamon Press (Vieweg) pp 723-730.

BATTA S.K., ZANISI M., MARTINI L. (1974) Prostaglandins and gonadotrophin secretion. Neuroendocrinology 14, 224-232.

BENNETT - CLARKE C. (1977) Immunocytochemical localization of LH - RH and SRIF in the rat CNS. Anat Rec 187, 536.

BENNETT M.V., FOX S. (1962) Electrophysiology of caudal neurosecretory cells in the skate and fluke. Gen Comp Endocrinol 2, 77-95.

BISHOP P.O., BURKE W., DAVIS R. (1962 a) The identification of single unit in central visual pathways. J Physiol (Lond) 162, 409-431.

BISHOP P.O., BURKE W., DAVIS R. (1962 b) Single unit recording from antidromically activated optic radiation neurones. J Physiol (Lond) 162, 432-450.

BISHOP P.O., BURKE W., DAVIS R. (1962 c) The interpretation of the extracellular response of single lateral geniculate cells. J Physiol (Lond) 162, 451-472.

BLOOM F.E. (1974) To spritz or not to spritz = the doubtful value of cumless iontophoresis. Life Sci 14, 1819-1834.

BOOTH J.E., DONOVAN B.T. (1974) Stimulation of the hypothalamus and ovulation in the guinea pig. J Physiol (Lond) 241, 373-388.



- BRAYER J., SONNENSCHNEIN C. (1975) Cytopathological effects of estradiol on the arcuate nucleus of the female rat. A possible mechanism for pituitary tumorigenesis. *Am J Anat* 144, 57-88.
- BRODY M.J., KADOWITZ P.J. (1974) Prostaglandins as modulators of the autonomic nervous system. *Fed Proc* 33, 48-60.
- BROWN-GRANT K., MURRAY M.A.F., RAISMAN G., SOOD M.C. (1977) Reproductive function in male and female rats following extra and intra-hypothalamic lesions. *Proc R Soc Lond (Biol)* 198, 267-278.
- BROWN-GRANT K., RAISMAN F. (1977) Abnormalities in reproductive function associated with the destruction of the suprachiasmatic nuclei in female rats. *Proc R Soc Lond (Biol)* 198, 279-296.
- BUNN J.P., EVERETT J.W. (1957) Ovulation in persistent estrous rats after electrical stimulation of the brain. *Proc Soc Exp Biol Med* 96, 369-371.
- BUNT A.H., HENDRICKSON A.E., LUND J.S., LUND R.D., FUCHS A.F. (1975) Monkey retinal ganglion cells: morphometric analysis and tracing of axonal projections, with a consideration of the peroxidase technique. *J Comp Neurol* 164, 265-285.
- BURGER H.G., FINK G., LEE V.W.K. (1972) Luteinizing-hormone-releasing-factor in ultrafiltrates of blood collected from the pituitary stalk of ovariectomized rats and rats subjected to electrical stimulation of the preoptic area. *J Endocrinol* 54, 227-234.
- BUTLER J.E., DONOVAN B.T. (1971) The effect of surgical isolation of the hypothalamus upon reproductive function in the female guinea pig. *J Endocrinol* 50, 507-514.
- CALIGARIS L., TALEISNIK S. (1977) Further evidence on the role of hypothalamic afferents on the estrogen-induced prolactin release. *Neuroendocrinology* 23, 323-329.
- CARETTE B. (1978) A new method of manufacturing multi-barelled micropipettes with projecting barrel. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 44, 248-250.
- CARLSON J.C., BARCIKOWSKI B., Mc CRACKEN J.A. (1973) Prostaglandin F<sub>2α</sub> and the release of LH in sheep. *J Reprod Fertil* 34, 357-361.
- CARLSON J.C., BARCIKOWSKI B., Mc CRACKEN J.A. (1974) Evidence for an obligatory role of prostaglandins in LH release. *Fed Proc* 33, 212.
- CARLSON J.C., WONG A.P., PERRIN D.G. (1977 a) The effects of prostaglandin and mating on release of LH in the female rabbit. *J Reprod Fertil* 51, 87-92.
- CARLSON J.C., WONG A.P., PERRIN D.G. (1977 b) Luteinizing hormone secretion in the rhesus monkey and a possible role for prostaglandins. *Biol Reprod* 16, 622-626.
- CARRER H.F., WHITMOYER D.I., SAWYER C.H. (1978) Effects of hippocampal and amygdaloid stimulation of the firing of preoptic neurons in the pro-oestrous female rat. *Brain Res* 142, 363-367.

- CHAPPEL S.C., BARRACLOUGH C.A. (1976) Hypothalamic regulation of pituitary FSH secretion. *Endocrinol* 98, 927-935.
- CHIAPPA S.A., FINK G., SHERWOOD N.M. (1977) Immunoreactive luteinizing-hormone-releasing-factor (LRF) in pituitary stalk plasma from female rats : effects of stimulating diencephalon, hippocampus and amygdala. *J Physiol (Lond)* 267, 625-640.
- CHOBSIENG P., NAOR Z., KOCH Y., ZOR U., LINDNER H.R. (1975) Stimulatory effect of prostaglandin E2 on LH release in the rat : evidence for hypothalamic site of action. *Neuroendocrinology* 17, 12-17.
- CLEMENS J.A., GALLO R.V., WHITMOYER D.I., SAWYER C.H. (1971 a) Prolactin responsive neurons in the rabbit hypothalamus. *Brain Res* 25, 371-379.
- CLEMENS J.A., MEITES J. (1968) Inhibition by hypothalamic prolactin implants of prolactin secretion, mammary growth and luteal function. *Endocrinology* 82, 878.
- CLEMENS J.A., SHAAR C.J., KLEBER J.W., TANDY W.A. (1971 b) Areas of the brain stimulatory to LH and FSH secretion. *Endocrinology* 88, 180-184.
- CLEMENS J.A., SHAAR C., KLEBER J.W., TANDY W.A. (1971 c) Reciprocal control by the preoptic area of LH and Prolactin. *Exp Brain Res* 12, 250-253.
- CLEMENS J.A., SMALSTIG E.B., SAWYER B.D. (1976) Studies on the role of the pre-optic area in the control of reproductive function in the rat. *Endocrinology* 99, 728-735.
- COCEANI F., VITI A. (1972) The release of prostaglandin E1 from micropipettes in vitro. *Brain Res* 45, 469-477.
- COLMAN D.R., SCALIA F., CABRALES E. (1976) Light and electron microscopic observations on the anterograde transport of horseradish peroxidase in the optic pathway in the mouse and rat. *Brain Res* 102, 156-163.
- CONRAD L.C.A., PFAFF D.W. (1975) Axonal projections of medial preoptic and anterior hypothalamic neurons. *Science* 190, 1112-1114.
- CONRAD L.C.A., 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., 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, 221-261.
- CONRAD L.C.A., PFAFF D.W. (1976 c) Autoradiographic tracing of nucleus accumbens efferents in the rat. *Brain Res* 113, 589-596.
- CONWAY C.J., BRADLEY W.E. (1969) Z - Axis modulation in neural spike display. *Electroencephalogr clin neurophysiol* 27, 199-200.

- COOK A.R. (1959) Effects of hypothalamic lesions on endocrine activity in female rats. *Tex Rep Biol Med* 17, 512-536.
- COOMBS J.C., CURTIS D.R., ECCLES J.C. (1957) The generation of impulses in motoneurons. *J Physiol (Lond)* 139, 232-249.
- CORBEN A., BEATIE C.W. (1976) Effect of luteinizing hormone releasing hormone (LH - RH) and an LH - RH antagonist on hypothalamic and plasma LH - RH of hypophysectomized rats. *Endocrinology* 98, 247-250.
- CRAMER O.M., BARRACLOUGH C.A. (1971) Effect of electrical stimulation of the preoptic area on plasma LH concentration in prooestrous rats. *Endocrinology* 88, 1175-1183.
- CRITCHLOW V. (1963) The role of light in neuroendocrine system. In "Advances in neuroendocrinology", Nalbandov A.V., ed, Univ Ill Press (Urbana) pp 377-402.
- CROSS B.A. (1974) The neurosecretory impulse. In : "Neurosecretion : the final neuroendocrine pathway", Knowles F., Vollrath L., eds, Springer-Verlag (Berlin) pp 115-128.
- CROSS B.A., DYER R.G. (1971 a) Unit activity in rat diencephalic islands : the effect of anaesthetics *J Physiol (Lond)* 212, 467-481.
- CROSS B.A., DYER R.G. (1971 b) Cyclic changes in neurones of the anterior hypothalamus during the oestrous cycle, and the effects of anesthesia. In : "Steroid hormones and Brain Function", Gorsky R., Sawyer C.H., eds, Univ California Press (Los Angeles) pp 95-102.
- CURTIS D.R. (1964) Microelectrophoresis. In : "Physical techniques in biological research", Vol V, Nastuk W.L., ed, Acad. Press (New York) pp 144-190.
- DAIKOKU S., MATSUMURA Y., SHINOHARA Y. (1976) Efferent projection of the nucleus preopticus medialis to the median eminence in rats. *Neuroendocrinology* 21, 130-178.
- DEFENDINI R., ZIMMERMAN E.A. (1978) The magnocellular neurosecretory system of the mammalian hypothalamus. In : "The hypothalamus" Reichlin M.D., Baldessarini R.J., Martin J.B., eds, Raven Press (New-York) pp 137-154.
- DE FRANCE J.F. (1976) A functional analysis of the septal nuclei. In : "The septal nuclei", De France J.F., ed, Plenum Press (New-York, London) pp 185-227.
- DE FRANCE J.F., YOSHIHARA H., CHRONISTER R.B. (1976) Electrophysiological studies of the septal nuclei : I. The lateral septal region. *Exp Neurol* 53, 399-419.
- DE FRANCE J.F., YOSHIHARA H., CHRONISTER R.B. (1978) Electrophysiological studies of the septal nuclei. II. The medial septal region. *Exp Neurol* 58, 14-31.
- DE VITO J.L., CLAUSING K.W., SMITH O.A. (1974) Uptake and transport of horseradish peroxidase by cut ends of the vagus nerve. *Brain Res* 82, 269-271.

- DE WIED D., GISPEN W.H. (1977) Behavioral effects of peptides. In : "Peptides in neurobiology", Gainer H., ed, Plenum Press (New-York, London) pp 397-434.
- DEY F.L. (1941) Changes in ovaries and uterus in guinea-pig with hypothalamic lesions. *Am J Anat* 69, 61-87.
- DEY F.L. (1943) Failure to induce ovulation in constant oestrous guinea-pigs. *Proc Soc Exp Biol Med* 52, 312-313.
- DEY F.L., FISHER C., BERRY C.M., RANSON S.W. (1940) Disturbances in reproductive functions, caused by hypothalamic lesions in female guinea-pigs. *Am J Physiol* 129, 39-46.
- DOLIVO M., MEURANT C., VERDAN C. (1977) Retrograde axonal flow depends on neuronal activity. *Experientia* 33, 778.
- DONOVAN B.I., HAAR M.B., PARVIZI N. (1977) Gonadotrophin secretion in the ovariectomized guinea-pig : effects of electrical stimulation of the hypothalamus and of LH - RH. *J Physiol (Lond)* 265, 597-614.
- DREIFUSS J.J., KELLY J.S. (1972 a) Recurrent inhibition of antidromically identified supraoptic neurones. *J Physiol (Lond)* 220, 87-103.
- DREIFUSS J.J., KELLY J.S. (1972 b) The activity of identified supraoptic neurones and their response to acetylcholine applied by iontophoresis. *J Physiol (Lond)* 220, 105-118.
- DUBOIS M.P., KOŁODZIEJCZYK E. (1975) Centres hypothalamiques du rat sécrétant de la somatostatine : répartition des péricaryons en systèmes magno et parvocellulaires (étude immunocytologique). *C R Acad Sci (D) (Paris)* 281, 1737-1740.
- DUDLEY C.A., MOSS R.L. (1976) Facilitation of lordosis in the rat by prostaglandin E2. *J Endocrinol* 71, 457-458.
- DUFY B., PARTOUCHE C., POULAIN D., DUBY-BARBE L., VINCENT J.D. (1976) Effects of estrogen on the electrical activity of identified and unidentified hypothalamic units. *Neuroendocrinology* 22, 38-47.
- DYBALL R.E.J., DYER R.G., DREWETT R.F. (1974) Chemical sensitivity of preoptic neurons which project to the medial basal hypothalamus. *Brain Res* 71, 140-143.
- DYBALL R.E.J., KOIZUMI K. (1969) Electrical activity in the supraoptic and paraventricular nuclei associated with neurohypophysial hormone release. *J Physiol (Lond)* 201, 711-722.
- DYBALL R.E.J., Mc PHAIL C.I. (1974) Unit activity in the supraoptic and paraventricular nuclei. Effects of anesthetics. *Brain Res* 67, 45-50.

- DYER R.G. (1973) An electrophysiological dissection of the hypothalamic regions which regulate the pre-ovulatory secretion of luteinizing hormone in the rat. *J Physiol (Lond)* 234, 421-442.
- DYER R.G. (1975) Characteristics of neurones projecting directly to the region of the median eminence. In : "Hypothalamic hormones : chemistry, physiology, pharmacology and clinical uses". Motta P.G., Crosignani P.G., Martini L., eds, Academic Press (London) pp 169-182.
- DYER R.G., CROSS B.A. (1972 a) Antidromic identification of units in the preoptic and anterior hypothalamic areas projecting directly to the ventromedial and arcuate nuclei. *Brain Res* 43, 254-258.
- DYER R.G., CROSS B.A. (1972 b) Location of preoptic neurons projecting to the medial basal hypothalamus. *J Anat* 114, 307-308.
- DYER R.G., DYBALL R.E.J. (1974) Evidence for a direct effect of LRF and TRF on single unit activity in the rostral hypothalamus. *Nature* 252, 486.
- DYER R.G., ELLENDORFF F., Mc LEOD N.K. (1976 a) Non random distribution of cell types in the preoptic and anterior hypothalamic areas. *J Physiol* 261, 495-504.
- DYER R.G., Mc LEOD N.K., ELLENDORFF F. (1976 b) Electrophysiological evidence for sexual dimorphism and synaptic convergence in the preoptic and anterior hypothalamic areas of the rat. *Proc R Soc Lond (Biol)* 193, 421-440.
- DYER R.G., PRITCHETT C.J., CROSS B.A. (1972) Unit activity in the diencephalon of female rats during the oestrous cycle. *J Endocrinol* 53, 151-160.
- ECCLES J.C. (1957) "The physiology of nerve cells". John Hopkins Press (Baltimore).
- ECCLES J.C. (1964) "The physiology of synapses". Springer-Verlag (Berlin) pp 101-113.
- EDINGER H., SIEGEL A. (1976) Functional aspects of the hippocampal - septal axis. In : "The septal nuclei", De France J.F., ed, Plenum Press (New-York, London) pp 241-250.
- EIKENBURG D.C., RAVITZ A.J., GUDELSKY G.A., MOORE K.E. (1977) Effects of estrogen on prolactin and tuberoinfundibular dopaminergic neurons. *J Neural Transm* 40, 235-244.
- ELLENDORFF F., Mc LEOD K., DYER R.G. (1976) Bipolar neurons in the rostral hypothalamus. *Brain Res* 101, 549-553.
- ENJALBERT A., MOOS F., CARBONELL L., PRIAM M., KORDON C. (1977) Prolactin inhibiting activity of dopamine-free subcellular fractions from rat mediobasal hypothalamus. *Neuroendocrinology* 24, 147-161.
- ESKAY R.L., MICAL R.S., PORTER J.C. (1977) The relationships between the concentration of LH RH in hypophysial portal blood and LH release in intact, castrated and electrochemical stimulated rats. *Endocrinology* 100, 263-270.

- ESKAY R.L., WARBERG J., MICAL R.S., PORTER J.C. (1975) Prostaglandin - E2 - induced release of LH - RH into hypophysial portal blood. *Endocrinology* 97, 816-823.
- ESKAY R.L., WARBERG J., PORTER J.C. (1977) Inhibition of prostaglandin - enhanced release of LH by antiserum to luteinizing hormone releasing hormone. *Neuroendocrinology* 24, 353-358.
- EVERETT J.W. (1964 a) Electrolytic irritative lesions in the hypothalamus and other forebrain areas : effect on luteinizing hormone release and the ovarian cycle. In : "Hormonal steroids", Martini L., Pecile A., eds, Academic Press (New-York, London) pp 235-250.
- EVERETT J.W. (1964 b) Preoptic stimulative lesions and ovulation in the rat : "threshold" and LH release time in late diestrus and proestrus. In : "Major problems in neuroendocrinology", Bajusz Jasmin, eds, Karger (Basel) pp 346-366.
- EVERETT J.W. (1965) Ovulation in rats from preoptic stimulation through platinum electrodes : importance of duration and spread of stimulus. *Endocrinology* 76, 1195-1201.
- EVERETT J.W., KREY L.C., TYREY L. (1973) The quantitative relationship between electrochemical preoptic stimulation and LH release in proestrous versus late diestrous rats. *Endocrinology* 93, 947-953.
- EVERETT J.W., RADFORD H.M. (1961) Irritative deposits from stainless steel electrodes in the preoptic rat brain causing release of pituitary gonadotropin. *Proc Soc Exp Biol Med* 108, 604-609.
- FELDBERG W., SAXENA P.N. (1971) Further studies on prostaglandins E1 fever in cats. *J Physiol (Lond)* 219, 739-745.
- FENSKE M., ELLENDORFF F., WUTTKE W. (1975) Response of medial preoptic neurons to electrical stimulation of the medio-basal hypothalamus, amygdala and mesencephalon in normal, serotonin or catecholamine deprived female rats. *Exp Brain Res* 22, 495-507.
- FICHERA S. (1976) Projections of the medial preoptic area and the nucleus of the diagonal band in the rat. *Anat Rec* 184, 402.
- FIORINDO R.P., JUSTO G., MOTTA M., SIMONOVIC I., MARTINI L. (1975) Cholinergic mechanisms and the control of gonadotropin-releasing hormone secretions. In : "Anatomical neuroendocrinology. Int. Conf. Neurobiology of CNS - Hormone interactions". Karger (Basel) pp 435-444.
- FLAMENT-DURAND J. (1965) Observations on pituitary transplants into the hypothalamus of the rat. *Endocrinology* 77, 446-457.
- FLERKO B. (1959) Ueber die Bedeutung dienzephaler Strukturen bei der Regelung der luteotrophinsekretion. *Acta Physiol Acad Sci Hung* 16, 108-109.
- FLERKO B. (1962) Hypothalamic control of hypophyseal gonadotrophic function. In : "Hypothalamic control of the anterior pituitary" Szentagothai J., Flerko B., Mess B., Halasz B., eds, Publ House Hung Acad Sci (Budapest) pp 192-265.

- FLERKO B. (1966) Control of gonadotropin secretion in the female. In : "Neuroendocrinology", Martini L., Ganong W.F., eds, Academic Press (New-York, London) pp 613-625.
- FLERKO B. (1967) Brain mechanisms controlling gonadotrophin secretion and their sexual differentiation. In : "Symposium on reproduction", Lissak K., ed, Akademiai Kiado (Budapest) pp 11-37.
- FLERKO B., SETALO G., VIGH S., ARIMURA A., SCHALLY A.V. (1978) The luteinizing hormone releasing hormone (LH - RH) neuron system in the rat and rabbit. In : "Neural hormones and reproduction", Scott D.E., Kozlowski G.P., Weindl A., eds, S. Karger (Basel) pp 108-116.
- FINK G., JAMIESON M.G. (1976) Immunoreactive luteinizing hormone : releasing factor in rat pituitary stalk blood : effects of electrical stimulation of the medial preoptic area. *J Endocrinol* 68, 71-87.
- FREUND-MERCIER M.J., RICHARD Ph. (1977) Spontaneous and reflex activity of paraventricular nucleus units in cycling and lactating rats. *Brain Res* 130, 505-520.
- FULLER J.H., SCHLAG J.D. (1976) Determination of antidromic excitation by the collision test : problems of interpretation. *Brain Res* 112, 283-298.
- FUORTES M.G.F., FRANK K., BECKER M.C. (1957) Steps in the production of motoneurons spikes. *J Gen Physiol* 42, 735-752.
- FURSTMAN L., SAPORTA S., KRUGER L. (1975) Retrograde axonal transport of horseradish peroxidase in sensory nerves and ganglion cells of the rat. *Brain Res* 84, 320-324.
- FUXE F., HOKFELT T. (1974) The effects of hormones and psychoactive drugs on the tuberoinfundibular neurons. In : "Some aspects of hypothalamic regulation of endocrine functions", Schattauer, ed, Verlag (Stuttgart) pp 51-61.
- FUXE K., HOKFELT T., ENEROTH P., GUSTAFSSON J.A., SKETT P. (1977) Prolactin-like immunoreactivity : localization in nerve terminals of rat hypothalamus. *Science* 196, 899-900.
- FUXE F., HOKFELT T., LOFSTROM A., JOHANSSON O., AGNATI L., EVERITT B., GOLDSTEIN M., JEFFCOATE S., WHITE N., ENEROTH P., GUSTAFSSON J.A., SKETT P. (1976) On the role of neurotransmitters and hypothalamic hormones and their interactions in hypothalamic and extrahypothalamic control of pituitary function and sexual behavior. In : "Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology" Naftolin F., Ryan J., Davies J., eds, Elsevier Sc Publ Comp (Amsterdam) pp 193-246.
- GARDNER C.R., CARR C. (1977) The role of the stria terminalis as an efferent amygdaloid pathway. *Neuroscience letters* 4, 93-97.
- GARDNER C.R., PHILLIPS S.W. (1977 a) The influence of the amygdala on the basal septum and preoptic area of the rat. *Exp Brain Res* 29, 249-263.
- GARDNER C.R., PHILLIPS S.W. (1977 b) Neuronal circuitry in the basal septum and preoptic area of the rat. *Brain Res* 133, 95-106.

- GISPEN W.H., REITH M.E.A., SHOTMAN P., WIEGANT V.M., ZWIERS H., DE WIED D. (1977) CNS and ACTH-like peptides : neurochemical responses and interaction with opiates. In : "Neuropeptide influence on the brain and behavior", Miller L.H., Sandman C.A., Kastin A.J., eds, Raven Press (New-York) pp 61-80.
- GLOWINSKI J. (1970) Metabolism of catecholamines in the central nervous system and correlation with hypothalamic function. In : "The hypothalamus", Martini L., ed, Academic Press. (New-York, London) pp 139-152.
- GOODMAN R.L. (1978) The site of positive feedback action of estradiol in the rat. *Endocrinology* 102, 151-159.
- GRAHAM R.C. Jr., KARNOVSKY M.J. (1966) The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney : ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J Histochem Cytochem* 14, 377-388.
- GRAY G.D., SODERSTEN P., TALLENTIRE D., 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.
- GREENGARD P. (1976) Possible role for cyclic nucleotides and phosphorylated membrane proteins in postsynaptic actions of neurotransmitters. *Nature* 260, 101-108.
- GUDELSKY G.A., SIMPKINS J., MUELLER G.P., MEITES J., MOORE K.E. (1976) Selective actions of prolactin on catecholamine turnover in the hypothalamus and on serum LH and FSH. *Neuroendocrinology* 22, 206-215.
- GUTNICK M., FELDMAN S. (1977) Effects of hippocampal and hypothalamic afferents on neuronal activities in the rat septum. *Exp Neurol* 57, 212-230.
- HAGINO N. (1969) Site of positive feedback action upon the onset of puberty. In : "Brain function and reproduction", Kawakami M., ed, Kyodo Igaku Shoin Co (Tokyo).
- HAGINO N., KOSARAS B., FLERKO B. (1977) Septal projection to the arcuate nucleus of the hypothalamus. *Acta Biol Acad Sci Hung* 28, 235-238.
- HAGINO N., YAMAOKA S. (1976) A neuroendocrinological approach to the investigation of septum. In : "The Septal nuclei", De France J.F., ed, Plenum Press (New-York, London) pp 283-334.
- HALASZ B. (1972) Hypothalamic mechanisms controlling pituitary function. In : "Progress in Brain Research" vol. 38, Ariens-Kappers J., Schadé J.P., eds, Elsevier Sc Publ Comp (Amsterdam) pp 97-122.
- HALASZ B., GORSKY R.A. (1967) Gonadotrophic hormone secretion in female rats after partial or total interruption of neural afferents to the medial basal hypothalamus. *Endocrinology* 80, 608-622.
- HALASZ B., PUPP L. (1965) Hormonal secretion of the anterior pituitary gland after physical interruption of all nervous pathways to the hypophysiotrophic area. *Endocrinology* 77, 553-562.



- HALASZ B., PUPP L., UHLARIK S. (1969) Hypophysiotrophic area in the hypothalamus. *J Endocrinol* 25, 147-154.
- HALASZ B., PUPP L., UHLARIK S., TIMA L. (1965) Further studies on the hormone secretion of the anterior pituitary transplanted into the hypophysiotrophic area of the rat hypothalamus. *Endocrinology* 77, 343-355.
- HALL N.R., LUTTGE W.G. (1977) Diencephalic site responsive to prostaglandin E2 facilitation of sexual receptivity in estrogen primed ovariectomized rats. *Brain Res Bull* 2, 203-207.
- HALL N.R., LUTTGE W.G., BERRY R.B. (1975) Intracerebral prostaglandin E2 : effects upon sexual behavior, open field activity and body temperature in ovariectomized female rats. *Prostaglandins* 10, 177-188.
- HALPERIN J.J., LA VAIL J.H. (1975) A study of the dynamics of retrograde transport and accumulation of horseradish peroxidase in injured neurons. *Brain Res* 100, 253-269.
- HARMS R.G., OJEDA S.R., Mc CANN S.M. (1973) Prostaglandin involvement in hypothalamic control of gonadotropin and prolactin release. *Science* 181, 760-761.
- HARMS P.G., OJEDA S.R., Mc CANN S.M. (1974) Prostaglandin induced release of pituitary gonadotrophins. Central nervous system and pituitary sites of action. *Endocrinol* 94, 1459-1464.
- HARMS P.G., OJEDA S.R., Mc CANN S.M. (1976) Failure of monoaminergic and cholinergic receptor blockers to prevent prostaglandin E2-induced luteinizing hormone release. *Endocrinology* 98, 318-323.
- HARRIS M.C., MAKARA G.B., SPYER K.M., (1971) Electrophysiological identification of neurones of the tuberoinfundibular system. *J Physiol (Lond)* 218, 86-87.
- HARRIS G.W., RUF K.B. (1970) Luteinizing - hormone - releasing - factor in the rat hypophysial portal blood collected during electrical stimulation of the hypothalamus. *J Physiol (Lond)* 208, 243-250.
- HARRIS M.C., SANGHERA M. (1974) Projection of the medial basal hypothalamic neurones to the preoptic anterior hypothalamic areas and the paraventricular nucleus in the rat. *Brain Res* 81, 401-411.
- HAYWARD J.N. (1974) Physiological and morphological identification of hypothalamic magnocellular neuroendocrine cells in goldfish preoptic nucleus. *J Physiol (Lond)* 239, 103-124.
- HAYWARD J.N. (1977) Functional and morphological aspects of hypothalamic neurons. *Physiol Rev* 57, 574-658.
- HEDQVIST P. (1973) Prostaglandin as a tool for local control of transmitter release from sympathetic nerves. *Brain Res* 62, 483-488.
- HEDREEN J.C., Mc GRATH S. (1977) Observations on labeling of neuronal cell bodies, axons and terminals after injection of horseradish peroxidase into rat brain. *J Comp Neurol* 176, 225-246.

- HEUSER J.E., REESE T.S. (1973) Evidence for recycling of synaptic vesicle membrane during transmitter release at frog neuromuscular junction. *J Cell Biol* 57, 315-344.
- HILLARP N.A. (1949) Studies on the localisation of hypothalamic centres controlling the gonadotrophic function of the hypophysis. *Acta endocrinol* 2, 11-23.
- HOFFER B.J., SIGGINS G.R., BLOOM F.E. (1969) Prostaglandins E1 and E2 antagonize norepinephrine effects on cerebellar Purkinje cells. Microelectrophoretic study. *Science* 166, 1418-1420.
- HOFFMAN G.E. (1976) Immunocytochemical localization of luteinizing hormone releasing hormone (LH - RH) in murine and primate brain. *Anat Rec* 184, 429-430.
- HOKFELT T., FUXE K. (1972) Effects of prolactin and ergot alkaloids on the tubero-infundibular dopamine (DA) neurons. *Neuroendocrinology* 9, 100-122.
- HOLTZMAN E., FREEMAN A.R., KASHNER L.A. (1971) Stimulation-dependent alterations in peroxidase uptake at lobster neuromuscular junctions. *Science* 173, 733-736.
- HORTON E.W. (1972) Prostaglandins. In : "Monographs on endocrinology", vol. VII, Gross, ed, Springer - Verlag (Berlin) pp 117-149.
- HYPPA M., MOTTA M., MARTINI L. (1971) "Ultrashort" feedback control of follicle stimulating hormone - releasing factor. *Neuroendocrinology* 7, 227-235.
- IBATA Y., NOJYO Y., MIZUKAWA K., SANO Y. (1977) Direct projection from the medial preoptic area to the median eminence of the cat. *Endocrinol Jpn* 24, 497-502.
- ILLEI-DONHOFFER A., TIMA L., FLERKO B. (1970) Ovulation induced by hypothalamic lesions in persistent oestrous rats. *Acta Biol Acad Sci Hung* 21, 197-206.
- ISHIKAWA R., KOIZUMI K. (1975) A study of hypothalamic neurosecretory cells of bullfrogs in vitro. *J Physiol (Lond)* 253, 1-19.
- JANKOWSKA E., RASTAD J., WESTMAN J. (1976) Intracellular application of horseradish peroxidase and its light and electron microscopical appearance in spino-cervical tract cells. *Brain Res* 105, 557-562.
- JELL R.M., SWEATMAN P. (1977) Prostaglandin - sensitive neurones in cat hypothalamus : relation to thermoregulation and to biogenic amines. *Can J Physiol Pharmacol* 55, 560-567.
- JONES E.G. (1975) Possible determinants of the degree of retrograde neuronal labeling with horseradish peroxidase. *Brain Res* 85, 249-254.
- JONES E.G., LEAVITT R.Y. (1974) Retrograde axonal transport and the demonstration of nonspecific projections to the cerebral cortex and striatum from thalamic intralaminar nuclei in the rat, cat and monkey. *J Comp Neurol* 154, 349-378.

- JYUJO T., SATO T. (1976) Failure of neurotransmitter blockers to alter PGE<sub>2</sub> induced LH release. *Endocrinol Jpn* 23, 281-287.
- KAASJAGER W.A., WOODBURY D.M., VAN DIETEN J.A.M.J., 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.
- KALRA S.P., AJIKA K., KRULICH K., FAWCETT G.P., QUIJADA M., Mc CANN S.M. (1971) Effects of hypothalamic and preoptic electrochemical stimulation on gonadotropin and prolactin release in prooestrous rat. *Endocrinology* 88, 1150-1158.
- KALRA S.P., KRULICH L., Mc CANN S.M. (1973) Changes in gonatotropin - releasing factor content in the rat hypothalamus following electrochemical stimulation of anterior hypothalamic area and during the estrous cycle. *Neuroendocrinology* 12, 321-333.
- KALRA S.P., Mc CANN S.M. (1973 a) Effect of drugs modifying catecholamine synthesis on LH release from preoptic stimulation in the rat. *Endocrinology* 93, 356-362.
- KALRA S.P., Mc CANN S.M. (1973 b) Variations in the release of LH in response to electrochemical stimulation of preoptic area and of medial basal hypothalamus during the oestrous cycle of the rat. *Endocrinology* 93, 665-669.
- KANDEL E.R. (1964) Electrical properties of hypothalamic neuroendocrine cells. *J Gen Physiol* 47, 691-717.
- KAWAKAMI M., KIMURA F. (1976) Limbic - preoptic responses to estrogens and catecholamines in relation to cyclic LH secretion. In : "Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology". Naftolin F., Ryan K.J., Davies J., eds, Elsevier Sc Publ Comp (Amsterdam) pp 423-452.
- KAWAKAMI M., KIMURA F., KONNO T. (1973 a) Possible role of the medial basal prechiasmatic area in the release of LH and prolactin in rats. *Endocrinol Jpn* 20, 335-344.
- KAWAKAMI M., KONDA N., YOSHIOKA E., (1977) Stimulatory feedback action of estradiol and estrone on LH release in the ovariectomized rat : roles different between limbic system and preoptic area. *Endocrinol Jpn* 24, 163-172.
- KAWAKAMI M., KUBO K. (1971) Neuro-correlate of limbic - hypothalamic - pituitary - gonadal axis in the rat : change in limbic - hypothalamic unit activity induced by vaginal and electrical stimulation. *Neuroendocrinology* 7, 65-89.
- KAWAKAMI M., NEGORO H., KIMURA F., HIGUCHI T., ASAI T. (1975) Neural control of LH release in anterior periventriculo-median-eminence - pituitary system. *Neuroendocrinology* 19, 137-149.
- KAWAKAMI M., SAKUMA Y. (1974) Responses of hypothalamic neurons to the microiontophoresis of LH - RH, LH and FSH under various levels of circulating ovarian hormones. *Neuroendocrinology* 15, 290-307.
- KAWAKAMI M., SAKUMA Y. (1976) Electrophysiological evidences for possible participation of periventricular neurons in anterior pituitary regulation. *Brain Res* 101, 79-94.

- KAWAKAMI M., TERASAWA E. (1974) Role of limbic structure on reproductive cycles. In : "Biological rhythms in neuroendocrine activity". Kawakami M., ed, Jgaku Shoin Ltd (Tokyo) pp 197-219.
- KAWAKAMI M., TERASAWA E., KIMURA F., KUBO K. (1973 b) Correlated changes in gonadotropin release and electrical activity of the hypothalamus induced by electrical stimulation of the hippocampus in immature and mature rats. In : "Hormones and brain function", Lissak K., ed, Plenum Press (New-York, London) pp 347-374.
- KAWAKAMI M., TERASAWA E., KIMURA F., WAKABAYASHI K. (1973 c) Modulating effect of limbic structures on gonadotropin release. *Neuroendocrinology* 12, 1 - 16.
- KAWAKAMI M., TERASAWA E., SETO K., WAKABAYASHI K. (1971) Effect of electrical stimulation of the preoptic area on hypothalamic multiple unit activity in relation to LH release. *Endocrinol Jpn* 18, 13-21.
- KEEFER D.A., CHRIST J.F. (1976) Distribution of endogenous diamino-benzidine-staining cells in the normal rat brain. *Brain Res* 116, 312-316.
- KELLER P.J., LICHTENSTEIGER W. (1971) Stimulation of tubero-infundibular neurones and gonatotrophin secretion. *J Physiol (Lond)* 219, 385-401.
- KELLY M.J., MOSS R.L. (1976) Quantitative evaluation and determination of the biological potency of iontophoretically applied luteinizing hormone releasing hormone (LRH). *Neuropharmacology* 15, 325-328.
- KELLY M.J., MOSS R.L., DUDLEY C.A. (1977) The effects of microiontophoretically applied estrogen, cortisol and acetylcholine on medial preoptic-septal unit activity throughout the estrous cycle of the female rat. *Exp Brain Res* 30, 52-64.
- KELLY M.J., MOSS R.L., DUDLEY C.A. (1978) The effects of ovariectomy on the responsiveness of preoptic - septal neurons to microelectrophoresed estrogen. *Neuroendocrinology* 25, 204-211.
- KENNEDY G.C. (1964) Hypothalamic control of the endocrine and behavioural changes associated with estrus in the rat. *J Physiol (Lond)* 172, 383-392.
- KIRKPATRICK W.E., LOMAX P. (1970) Temperature changes following iontophoretic injection of acetylcholine into the rostral hypothalamus of the rat. *Neuropharmacology* 9, 195-202.
- KIZER J.S., PALKOVITS M., BROWNSTEIN M.J. (1976) Releasing factors in the circumventricular organs of the rat brain. *Endocrinology* 98, 311-317.
- KNIGGE K.M. (1962) Gonadotropic activity of neonatal pituitary glands implanted in the rat brain. *Am J Physiol* 202, 387-391.
- KNIGGE K.M., JOSEPH S.A. (1974) Thyrotrophin releasing factor (TRF) in cerebrospinal fluid of the 3rd ventricle of the rat. *Acta endocrinol* 76, 209-213.
- KOBAYASHI F., MIYAKE T. (1971) Acute effect of hypothalamic deafferentation on progesterone - induced ovulating hormone release in the rats. *Endocrinol Jpn* 18, 395-401.

- KOBAYASHI H., WADA M., UEMURA H., UECK M. (1972) Uptake of peroxidase from the third ventricle by ependymal cells of the median eminence. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 127, 545-551.
- KOIZUMI K., ISHIKAWA T., BROOKS Mc C. (1973) The existence of facilitatory axon collaterals in neurosecretory cells of the hypothalamus. *Brain Res* 63, 408-413.
- KOIZUMI K., YAMASHITA H. (1972) Studies of antidromically identified neurosecretory cells of hypothalamus by intracellular and extracellular recordings. *J Physiol (Lond)* 221, 683-705.
- KORDON C. (1967) Contrôle nerveux du cycle ovarien. *Arch Anat Microsc Morphol Exp* 56, 458-474.
- KORDON C., EPELBAUM J., ENJALBERT A., Mc KELLY J. (1976) Neurotransmitter interactions with neuroendocrine tissue. In : "Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology", Naftolin F., Ryan K.J., Davies J., eds, Elsevier Sc Publ Comp (Amsterdam) pp 167-184.
- KORITSANSZKY S., KOVES K. (1976) Data on the absence of medial preoptic area neurons in the surface zone of the median eminence. *J Neural Transm* 38, 159-167.
- KOVES K., HALASZ B. (1970) Location of the neural structures triggering ovulation in the rat. *Neuroendocrinology* 6, 180-193.
- KOVES K., RETHELYI M. (1976) Direct neural connection from the medial preoptic area to the hypothalamic arcuate nucleus of the rat. *Exp Brain Res* 25, 529-540.
- KREY L.C., SILVERMAN A.J. (1978) The luteinizing hormone releasing hormone (LH - RH) neuronal networks of the guinea-pig brain. II. The regulation of gonadotropin secretion and the origin of terminals in the median eminence. *Brain Res* 157, 247-255.
- KRIEG R.J., TANDON O.P., WHITMOYER D.I., SAWYER C.H. (1976) Differential effects of intraventricular luteinizing hormone releasing hormone (LH - RH) and norepinephrine on electrical activity of the arcuate nucleus in the proestrous rat. *Neuroendocrinology* 22, 152-163.
- KRIEGER M.S., MORREL J.I., PFAFF D.W. (1978) Neuroanatomical connections of steroid concentrating cell groups. In : "Neural hormones and Reproduction", Scott D.E., Kozlowski G.P., Weindl A., eds, Karger (Basel) pp 197-211.
- KRISCH B. (1978) The distribution of LH RH in the hypothalamus of the thrusting rat. A light and electron microscopic immunocytochemical study. *Cell Tissue Res* 186, 135-148.
- KRISTENSSON K., OLSSON Y. (1971) Retrograde axonal transport of protein. *Brain Res* 29, 363-365.
- KRISTENSSON K., OLSSON Y. (1974) Retrograde transport of horseradish peroxidase in transected axons. I. Time relationships between transport and induction of chromatolysis. *Brain Res* 79, 101-110.

- KRISTENSSON K., OLSSON Y. (1976) Retrograde transport of horseradish peroxidase in transected axons. III. Entry into injured axons and subsequent localization in perikaryon. *Brain Res* 115, 201-213.
- KUBO K., GORSKY R.A., KAWAKAMI M. (1975) Effects of estrogen on neuronal excitability in the hippocampal - septal - hypothalamic system. *Neuroendocrinology* 18, 176-191.
- LABHSETWAR A.P., ZOLOVICK A. (1973) Hypothalamic interaction between prostaglandins and catecholamines in promoting gonadotrophin secretion for ovulation. *Nature* 246, 55-56.
- LABRIE F., BORGEAT P., BARDEN N., BEAULIEU M., FERLAND L., DROUIN J., DE LEAN A., MORIN O. (1976) Role of cyclic AMP in neuroendocrine control. In : "Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology", Naftolin F., Ryan K.J., Davies J., eds, Elsevier Sc Publ Comp (Amsterdam) pp 391-406.
- LABRIE F., DROUIN J., FERLAND L., DE LEAN A., LAGACE L., BORGEAT P. (1977) Mechanism of action of hypothalamic hormones and modulation of their activity. In : "Endocrinology, Proc. V Int Congress of Endocrinol", James V.H.T., ed, Excerpta Med Found (Amsterdam - Oxford) pp 168-174.
- LAMOUR Y. (1976) Stimulation du faisceau médian du télencéphale chez le chat : réponses unitaires dans l'amygdale et le septum. *Brain Res* 107, 145-150.
- LA VAIL J.H. (1975) Retrograde cell degeneration and retrograde transport techniques. In : "The use of axonal transport for studies of neuronal connectivity", Cowan W.M., Cuenod M., eds, Elsevier (Amsterdam) pp 217-248.
- LA VAIL J.H., LA VAIL M.M. (1972) Retrograde axonal transport in the central nervous system. *Science* 176, 1416-1417.
- LA VAIL J.H., LA VAIL M.M. (1974) The retrograde intra-axonal transport of horseradish peroxidase in the chick visual system : a light and electron microscopic study. *J. Comp Neurol* 157, 303-358.
- LEE B.B., MANDL G., STEAN J.P.B. (1969) Microelectrode tip deposition marking in nervous tissue : a new dye method. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 27, 610-613.
- LEONARDELLI J. (1966) Etude histoenzymologique de l'hypothalamus du cobaye. I. Recherches sur les variations de l'acétylcholinestérase au cours du cycle oestral. *C R Soc Biol (Paris)* 160, 757-759.
- LEONARDELLI J. (1976 a) Effets du sulfate d'atropine sur les cellules à LH - RH de l'hypothalamus du cobaye. *C R Soc Biol (Paris)* 170, 602-605.
- LEONARDELLI J. (1976 b) Prolactine et cellules à LH-RH chez le cobaye. *J Physiol (Paris)* 72, 14-15.
- LEONARDELLI J., BARRY J., DUBOIS M.P. (1973) Mise en évidence par immunofluorescence d'un constituant immunologiquement apparenté au LH - RF dans l'hypothalamus et l'éminence médiane chez les mammifères. *C R Acad Sci (D) (Paris)* 276, 2043-2046.

LEONARDELLI J., DUBOIS M.P. (1974) Commandes aminergique et cholinergique des cellules hypothalamiques élaboratrices de LH - RH chez le cobaye. *Ann Endocrinol* 35, 639-645.

LEONARDELLI J., DUBOIS M.P. (1975) Catecholaminergic, cholinergic and serotonergic control of LH - RH secreting neurons in the guinea-pig hypothalamus. In : "Symposium of the international society of psychoneuroendocrinology" Akadémiai Kiado (Budapest) pp 89-110.

LEONARDELLI J., DUBOIS M.P., POULAIN P. (1974) Effect of exogenous serotonin on LH - RH secreting neurons in the guinea-pig hypothalamus as revealed by immunofluorescence. *Neuroendocrinology* 15, 69-72.

LEFRANTH C.S., SCHIEBLER T.H. (1974) Über die Aufnahme von peroxidase aus dem 3 - ventrikel der ratte. Elektronenmikroskopische Untersuchungen. *Brain Res* 67, 1 - 11.

LEWIS P.R., SHUTE C.D.D. (1967) The cholinergic limbic system : projections to hippocampal formation, medial cortex, nuclei of the ascending cholinergic reticular system and the subfornical organ and supraoptic crest. *Brain* 90, 521-540.

LIBERTUN C., Mc CANN S.M. (1973) Blockade of the release of gonadotropins and prolactin by subcutaneous or intraventricular injection of atropin in male and female rats. *Endocrinology* 92, 1714-1724.

LINCOLN D.W., KELLY W.A. (1972) The influence of urethane on ovulation in the rat. *Endocrinology* 90, 1594-1599.

LITCHY W.J. (1973) Uptake and retrograde transport of horseradish peroxidase in frog Sartorius nerve in vitro. *Brain Res* 56, 377-381.

LÖFSTRÖM A.G., JONSSON G., FUXE K. (1976) Microfluorimetric quantitation of catecholamine fluorescence in rat median eminence I. Aspects on the distribution of dopamine and norepinephrine nerve terminals. *J Histochem Cytochem* 24, 415-429.

LYNCH G., DEADWYLER S., GALL C. (1974) Labeling of central nervous system with extracellular recording electrodes. *Brain Res* 66, 337-341.

Mc CANN S.M., MOSS R.L. (1975) Putative neurotransmitters involved in discharging gonadotropin-releasing neurohormones and the action of LH - releasing hormone on the CNS. *Life Sci* 16, 833-852.

Mc KENNA O., ARNOLD G., HOLTZMAN E. (1976) Microperoxysome distribution in the central nervous system in the rat. *Brain Res* 117, 181-194.

MAKARA G.B., HARRIS M.C., SPYER K.M., (1972) Identification and distribution of tubero-infundibular neurones. *Brain Res* 40, 283-290.

MAKARA G.B., HODACS L. (1975) Rostral projections from the hypothalamic arcuate nucleus. *Brain Res* 84, 23-29.

MALVEN P.V. (1975) Prolactin release induced by electrical stimulation of the hypothalamic preoptic area in unanesthetized sheep. *Neuroendocrinology* 18, 65-71.

MARRAZZI M.A., DAUGHERTY J.H. (1977) Effects of prostaglandin F<sub>2α</sub> on cerebral cortical evoked potentials. Prostaglandins 14, 501-511.

MAZZUCA M., POULAIN P. (1974) Identification en microscopie électronique des terminaisons nerveuses monoaminergiques dans l'émence médiane du cobaye. Brain Res 68, 281-295.

MEIBACH R.C., SIEGEL A. (1977) Efferent connections of the septal area in the rat : an analysis utilizing retrograde and anterograde transport methods. Brain Res 119, 1-20.

MEITES J., CLEMENT J.A. (1972) Hypothalamic control of prolactin secretion. Vitam Horm 30, 165-221.

MEITES J., LU K.H., WUTTKE W., WELSCH C.W., NAGASAWA H., QUADRI S.K. (1972) Recent studies on functions and control of prolactin secretion in rats. Recent Prog Horm Res 28, 471-526.

MENSAH P., FINGER T. (1976) Neuromelanin : a source of possible error in HRP material. Brain Res 98, 183-188.

MOSS R.L. (1976) Unit responses in preoptic, and arcuate neurons related to anterior pituitary function. In : "Frontiers in neuroendocrinology" vol IV, Martini L., Ganong W.F., eds, Raven Press (New-York) pp 95-128.

MOSS R.L. (1977) Role of hypophysiotropic neurohormones in mediating neural and behavioral events. Fed Proc 36, 1978-1983.

MOSS R.L., DUDLEY C.A. (1978) Changes in responsiveness of medial preoptic neurons to the microelectrophoresis of releasing hormones as a function of ovarian hormones. Brain Res 149, 511-515.

MOSS R.L., FOREMAN M.M. (1976) Potentiation of lordosis behavior by intra-hypothalamic infusion of synthetic luteinizing hormone releasing hormone. Neuroendocrinology 20, 176-181.

MOSS R.L., KELLY M.J., DUDLEY C. (1975 a) Responsiveness of medial preoptic neurons to releasing hormones and neurohumoral agents. Fed Proc 34, 219

MOSS R.L., KELLY M.J., DUDLEY C.A. (1978) Chemosensitivity of hypophysiotropic neurons to the microelectrophoresis of biogenic amines. Brain Res 139, 141-152.

MOSS R.L., KELLY M.J., RISKIND P. (1975 b) Tuberoinfundibular neurons : dopaminergic and norepinephrinergetic sensitivity. Brain Res 89, 265-277.

MOSS R.L., LAW O.T. (1971) The oestrous cycle : its influence on single unit activity in the forebrain. Brain Res 30, 435-438.

MOSS R.L., Mc CANN S.M. (1973) Induction of mating behavior in rats by luteinizing hormone releasing factor. Science 181, 177-179.

MOSS R.L., Mc CANN S.M., DUDLEY C.A. (1975 c) Releasing factors and sexual behavior. In : "Progress in Brain Research" vol. 42, Gispen W.H., Van Wimersa-Greidanus T.B., Bohus B., de Wied D., eds, Elsevier Sc Publ Comp (Amsterdam) pp 37-46.



- MOSS R.L., RISKIND P. (1973) Some electrical and chemical properties of arcuate neurones antidromically identified by stimulation of median eminence. Proc 3rd Annu Neuroscience Meet 3, 31
- NAIK D.V. (1975) Immunoreactive LH - RH neurons in the hypothalamus identified by light and fluorescent microscopy. Cell Tissue Res 157, 423-436.
- NAIK D.V. (1976) Immuno-histochemical localization of LH - RH during different phases of estrus cycle of rat, with reference to the preoptic and arcuate neurones and the ependymal cells. Cell Tissue Res 173, 143-166.
- NAUTA H.J.W., PRITZ M.B., LASEK R.J. (1974) Afferents to the rat caudoputamen studied with horseradish peroxidase. An evaluation of a retrograde neuroanatomical research method. Brain Res 67, 219-238.
- NEGORO H., HOLLAND R.C. (1972) Inhibition of unit activity in the hypothalamic paraventricular nucleus following antidromic activation. Brain Res 42, 385-402.
- NICOLL R.A., BARKER J.L. (1971) The pharmacology of recurrent inhibition in the supraoptic neurosecretory system. Brain Res 35, 501-511.
- NORMAN R.L., RESKO J.A., SPIES H.G. (1976) The anterior hypothalamus: how it affects gonadotropin secretion in the rhesus monkey. Endocrinology 99, 59-71.
- NOVIN D., DURHAM R. (1973) Orthodromic and antidromic activation of the paraventricular nucleus of the hypothalamus in the rabbit. Exp Neurol 41, 418-430.
- NOVIN D., SUNDSTEN J.W., CROSS B.A. (1970) Some properties of antidromically activated units in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. Exp Neurol 26, 330-341.
- OJEDA S.R., JAMESON H.E., Mc CANN S.M. (1977 a) Hypothalamic areas involved in prostaglandin (PG) induced gonadotropin release. 1. Effects of PGE 2 and PGF<sub>2</sub> $\alpha$  implants on luteinizing hormone release. Endocrinology 100, 1585-1594.
- OJEDA S.R., JAMESON H.E., Mc CANN S.M. (1977 b) Hypothalamic areas involved in Prostaglandin (PG) induced gonadotropin release. 2. Effects of PGE<sub>2</sub> and PGF<sub>2</sub> $\alpha$  implants on follicle stimulating hormone release. Endocrinology 100, 1595-1605.
- OJEDA S.R., WHEATON J.E., Mc CANN S.M. (1975) Prostaglandin E<sub>2</sub> - induced release of luteinizing hormone releasing factor (LRF). Neuroendocrinology 17, 283-287.
- ONDO J.G., ESKAY R.L., MICAL R.S., PORTER J.C. (1973) Release of LH by LRF injected into the SCF : a transport role for the median eminence. Endocrinology, 93, 231-237.
- PARENT A. (1976) Striatal afferent connections in the turtle (Chrysemys picta) as revealed by retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. Brain Res 108, 25-36.
- PERKINS M.N., DEMAINE C., WHITEHEAD S.A. (1977) Electrophysiological and pharmacological studies of amygdalo-hypothalamic connections in the rat. Neuroendocrinology 23, 200-211.

- PFAFF D.W. (1973) Luteinizing hormone - releasing factor potentiates lordosis behavior in hypophysectomized ovariectomized female rats. *Science* 182, 1148-1149.
- PHELPS C.P., LENGVARI I., CARRILLO A.J., SAWYER C.H. (1978) Changes in diurnal fluctuation of plasma thyroid stimulating hormone and corticosterone following anterior hypothalamic deafferentation in the rat. *Brain Res* 141, 283-292.
- PHELPS C.P., SAWYER C.H. (1977) Electrochemically stimulated release of luteinizing hormone and ovulation after surgical interruption of lateral hypothalamus connections in the rat. *Brain Res* 131, 335-344.
- POULAIN P. (1969) Effets produits par la destruction électrolytique des régions hypothalamiques supra et rétro-chiasmatisques chez le cobaye femelle. *Arch Anat Microsc Morphol Exp* 58, 319-338.
- POULAIN P. (1971) Atlas stéréotaxique de l'hypothalamus du cobaye de 400 grammes; systématisation et connexions des noyaux hypothalamiques. Thèse de 3ème Cycle. U.E.R. Biologie Lille I. n° d'ordre : 241.
- POULAIN P. (1974 a) L'hypothalamus et le septum du cobaye de 400 grammes en coordonnées stéréotaxiques. *Arch Anat Microsc Morphol Exp* 63, 37-50.
- POULAIN P. (1974 b) Excitation des neurones de la région préoptico-septale par application iontophorétique d'acétylcholine. *C R Acad Sci (D) (Paris)* 279, 1773-1775.
- POULAIN P. (1977) Septal afferents to the arcuate - median eminence region in the guinea pig : correlative electrophysiological and horseradish peroxidase studies. *Brain Res* 137, 150-153.
- POULAIN P., CARETTE B. (1974) Iontophoresis of prostaglandins on hypothalamic neurons. *Brain Res* 79, 311-314.
- POULAIN P., CARETTE B. (1976) Actions of iontophoretically applied prolactin on septal and preoptic neurons in the guinea pig. *Brain Res* 116, 172-176.
- POULAIN P., CARETTE B. (1977 a) Septal afferents to the arcuate - median eminence region in the guinea pig : microiontophoretically applied LRF effects. *Brain Res* 79, 311-314.
- POULAIN P., CARETTE B. (1977 b) Existence de neurones sensibles à la prolactine dans les régions préoptiques et septales du cobaye : étude par microiontophorèse. *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 17, 473-476.
- POULAIN P., PARTOUCHE C. (1973) Relations des neurones de la région préoptique et du septum avec le noyau arqué et l'éminence médiane. *C R Acad Sci (D) (Paris)* 277, 737-739.
- QUINN D.L. (1969) Neural activation of gonadotropic hormone release by electrical stimulation in the hypothalamus of the guinea-pig and the rat. *Neuroendocrinology* 4, 254-263.

- QUINN D.L. (1970) Hypothalamic mechanisms involved in the control of gonadotropic hormone secretion in the guinea-pig : evidence of elevated brain thresholds to electrical stimulation in the medial preoptic - anterior hypothalamic region during "early" diestrus. *Endocrinology* 87, 343-349.
- QUINN D.L. (1974) Comparative aspects of premature ovulation in the guinea-pig and the rat following electrochemical stimulation of the hypothalamus. *Endocrinology* 95, 926-936.
- RAISMAN G. (1966) The connections of the septum. *Brain* 89, 317-348.
- RAISMAN G., BROWN-GRANT K. (1977) The "suprachiasmatic syndrome" : endocrine and behavioural abnormalities following lesions of the suprachiasmatic nuclei in the female rat. *Proc R Soc Lond (Biol)* 198, 297-314.
- RAISMAN G., FIELD P.M. (1971) Anatomical considerations relevant to the interpretation of neuroendocrine experiments. In : "Frontiers in neuroendocrinology" Martini L., Ganong W.F., eds, Oxford Univ Press (New-York) pp 3 - 44.
- RAMIREZ V.D., KORDON C. (1975) Studies on luteinizing hormone - releasing hormone (LH - RH). In : "Hypothalamic hormones : chemistry, physiology, pharmacology and clinical uses", Motta P.G., Crosignani P.G., Martini L., eds, Academic Press (London) pp 57-74.
- RATNER A., WILSON M.C., STRIVASTAVA L., PEAKE G.T. (1974) Stimulatory effects of prostaglandin E1 on rat anterior pituitary cyclic AMP and luteinizing hormone release. *Prostaglandins* 5, 165-171.
- RENAUD L.P. (1976 a) An electrophysiological study of amygdalo-hypothalamic projections to the ventromedial nucleus of the rat. *Brain Res* 105, 45-58.
- RENAUD L.P. (1976 b) Tuberoinfundibular neurons in the basomedial hypothalamus of the rat : electrophysiological evidence for axon collaterals to hypothalamic and extrahypothalamic areas. *Brain Res* 105, 59-72.
- RENAUD L.P. (1976 c) Influence of amygdala stimulation on the activity of identified tuberoinfundibular neurones in the rat hypothalamus. *J Physiol (Lond)* 260, 237-252.
- RENAUD L.P. (1976 d) Tuberoinfundibular neurones : electrophysiological studies on afferent and efferent connections. *The Physiologist* 19, 338.
- RENAUD L.P. (1976 ,e) Electrophysiological evidence for axon collaterals in the tuberoinfundibular system of the rat. *J Physiol (Lond)* 254, 20-21.
- RENAUD L.P. (1977) Influence of medial preoptic - anterior hypothalamic area stimulation on the excitability of mediobasal hypothalamic neurones in the rat. *J Physiol (Lond)* 264, 541-564.
- RENAUD L.P., BLUME H.W., PITTMAN Q.J. (1978) Neurophysiology and neuropharmacology of the hypothalamic tuberoinfundibular system. In : "Frontiers in neuroendocrinology" Vol V, Ganong W.F., Martini L., eds, Raven Press (New-York) pp 135-162.

- RENAUD L.P., MARTIN J.B. (1975) Electrophysiological studies of connections of hypothalamic ventromedial nucleus neurons in the rat : evidence for a role in neuroendocrine regulation. *Brain Res* 93, 145-151.
- RENAUD L.P., MARTIN J.B., BRAZEAU P. (1975) Depressant effect of TRH, LH - RH and somatostatin on activity of central neurons. *Nature* 255, 233-235.
- RETHELYI M., HALASZ B. (1970) Origin of the nerve endings in the surface zone of the median eminence of the rat hypothalamus. *Exp Brain Res* 11, 145-158.
- ROBERTS J.S., CRACKEN J.A. Mc (1975) Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  production by the brain during estrogen - induced secretion of luteinizing hormone. *Science* 190, 894.
- RODRIGUEZ E.M. (1976) The cerebrospinal fluid as a pathway in neuroendocrine integration. *J Endocrinol* 71, 407-443.
- ROTSZTEJN W.H., CHARLI J.L., PATTOU E., 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.
- SAKAI K., TOURET M., SALVERT D., LEGER L., JOUVET M. (1977) Afferent projections to the cat locus coeruleus as visualized by the horseradish peroxidase technique. *Brain Res* 119, 21-41.
- SAKAR D.K., CHIAPPA S.A., FINK G., SHERWOOD N.M. (1976) Gonadotropin - releasing hormone surge in pro - oestrus rats. *Nature* 264, 461.
- SALMOIRAGHI G.C., STEFANIS C.N. (1967) A critique of iontophoretic studies of central nervous system neurons. *Int Rev Neurobiol* 10, 1-30.
- SANGHERA M., HARRIS M.C., MORGAN R.A. (1978) Effects of microiontophoretic and intravenous application of gonadotrophic hormones on the discharge of medial basal hypothalamic neurones in rats. *Brain Res* 104, 63-74.
- SATO T., TAYA K., JYUJYO T., HIRONO M., IGARASHI M. (1974) The stimulatory effect of prostaglandins on luteinizing hormone release. *Am J Obstet Gynecol* 118, 875-876.
- SAWAKI Y. (1977) Retinohypothalamic projection : electrophysiological evidence for the existence in female rats. *Brain Res* 120, 336-341.
- SAWAKI Y., YAGI K. (1973) Electrophysiological identification of cell bodies of the tubero-infundibular neurones in the rat. *J Physiol (Lond)* 230, 75-85.
- SAWAKI Y., YAGI K. (1976) Inhibition and facilitation of antidromically identified tuberoinfundibular neurones following stimulation of the median eminence in the rat. *J Physiol (Lond)* 260, 447-460.
- SAWYER C.H. (1975) Some recent developments in brain - pituitary - ovarian physiology. *Neuroendocrinology* 17, 97-124.
- SAWYER C.H. (1977) Brain catecholamines and pituitary ovarian function. *Acta Biol Acad Sci Hung* 28, 11-23.

- SAWYER C.H., CRITCHLOW B.W., BARRACLOUGH C.A. (1955) Mechanism of blockade of pituitary activation in the rat by morphine, atropine and barbiturates. *Endocrinology* 57, 345-354.
- SAWYER C.H., MARKEE J.E., TOWNSEND B.F. (1949) Cholinergic and adrenergic components in the neurohumoral control of the release of LH in the rabbit. *Endocrinology* 44, 18-37.
- SCHWARTZ N.B., Mc CORMACK C.E. (1972) Gonadal function and its regulation. *Annu Rev Physiol* 34, 425-472.
- SEGAL M., LANDIS S.C. (1974) Afferents to the septal area of the rat studied with the method of retrograde transport of horseradish peroxidase. *Brain Res* 82, 263-268.
- SETALO G., VIGH S., SCHALLY A.V., ARIMURA A., FLERKO B. (1976) Immunohistological study of the origin of LH - RH containing nerve fibres of the rat hypothalamus. *Brain Res* 103, 597-602.
- SHAAR C.J., CLEMENS J.A. (1974) The role of catecholamines in the release of anterior pituitary prolactin in vitro. *Endocrinology* 95, 1202-1212.
- SILVERMAN A.J. (1976) Distribution of luteinizing hormone releasing hormone (LH RH) in guinea-pig brain. *Endocrinology* 99, 30-41.
- SILVERMAN A.J., KREY L.C. (1977) LH - RH networks in the guinea-pig hypothalamus and their role in tonic gonadotropin secretion. *Endocr Soc Meet, Abstract* 261.
- SILVERMAN A.J., KREY L.C. (1978) The luteinizing hormone - releasing hormone (LH - RH) neuronal networks of the guinea-pig brain. I. Intra and extra-hypothalamic projections. *Brain Res* 157, 233-246.
- SINGER W.I., HOLLANDER H., VANEGAS H. (1977) Decreased peroxidase labelling of lateral geniculate neurons following deafferentation. *Brain Res* 120, 133-137.
- STARKE K., TAUBE H.D., BOROWSKI E. (1977) Presynaptic receptor systems in catecholaminergic transmission. *Biochem Pharmacol* 26, 259-268.
- STERNBERGER L.A., HOFFMAN G.E. (1978) Immunocytochemistry of luteinizing hormone releasing hormone. *Neuroendocrinology* 25, 111-128.
- SUNDSTEN J.W., NOVIN D., CROSS B.A. (1970) Identification and distribution of paraventricular units excited by stimulation of the neural lobe of the hypophysis. *Exp Neurol* 26, 316-329.
- 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., COWAN W.M. (1975) The efferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus. *J Comp Neurol* 160, 1-12.
- SZENTAGOTHAJ J. (1964) The parvicellular neurosecretory system. *Prog Brain Res* 5, 1-32.

- TALEISNIK S., Mc CANN S.M. (1961) Effects of hypothalamic lesions on the secretion and storage of hypophysial luteinizing hormone. *Endocrinology* 68, 263-272.
- TALEISNIK S., VELASCO M.E., ASTRADA J.J. (1970) Effect of hypothalamic deafferentation on the control of luteinizing hormone secretion. *J Endocrinol* 46, 1-7.
- TASAKI I. (1949) The excitatory and recovery processes in the nerve fibre as modified by temperature changes. *Biochim Biophys Acta* 3, 498-509.
- TERASAWA E., SAWYER C.H. (1969 a) Electrical and electrochemical stimulation of the hypothalamo-adenohypophyseal system with stainless steel electrodes. *Endocrinology* 84, 918-925.
- TERASAWA E., SAWYER C.H. (1969 b) Changes in electrical activity in the rat hypothalamus related to electrochemical stimulation of adenohypophyseal function. *Endocrinology* 85, 143-149.
- TERASAWA E., SAWYER C.H. (1970) Diurnal variation in the effects of progesterone on multiple unit activity in the rat hypothalamus. *Exp Neurol* 27, 359-374.
- TERASAWA E., TIMIRAS P.S. (1968) Electrical activity during the oestrous cycle of the rat ; cyclic changes in limbic structures. *Endocrinology* 83, 207-216.
- TERASAWA E., TIMIRAS P.S. (1969) Cyclic changes in electrical activity of the rat midbrain reticular formation during the oestrous cycle. *Brain Res* 14, 189-198.
- TERASAWA E., WHITMOYER D.I., SAWYER C.H. (1969) Effects of luteinizing hormone (LH) on multiple unit activity in the rat hypothalamus. *Am J Physiol* 217, 1119-1126.
- TIMA L., FLERKO B. (1974) Ovulation induced by norepinephrine in rats made anovulatory by various experimental procedures. *Neuroendocrinology* 15, 346-354.
- TINDAL J.S. (1974) Hypothalamic control of secretion and release of prolactin. *J Reprod Fertil* 39, 437-462.
- TINDAL J.S., KNAGGS G.S. (1971) Determination of the detailed hypothalamic route of the milk-ejection reflex in the guinea-pig. *J Endocrinol* 50, 135-152.
- TINDAL J.S., KNAGGS G.S. (1972) Pathways in the forebrain of the rabbit concerned with the release of prolactin. *J Endocrinol* 52, 253-262.
- TINDAL J.S., KNAGGS G.S. (1977) Pathways in the forebrain of the rat concerned with the release of prolactin. *Brain Res* 119, 211-221.
- TSAFIRI A., KOCH Y., LINDNER H.R. (1973) Ovulation rate and serum LH level in rats treated with indomethacine or prostaglandin E2. *Prostaglandins* 3, 461-467.
- TURGEON J., BARRACLOUGH C.A. (1973) Temporal pattern of LH release following graded preoptic electrochemical stimulation in proestrous rats. *Endocrinology* 92, 755-761.

TURNER P.T., HARRIS A.B. (1974) Ultrastructure of exogenous peroxidase in cerebral cortex. Brain Res 74, 305-326.

VANDESANDE F., DIERICKX K., DE MEY J. (1977) The origin of the vasopressinergic and oxytocinergic fibres of the external region of the median eminence of the rat hypophysis. Cell Tissue Res 180, 443-452.

VANEGAS H., HOLLANDER H., DISTEL H. (1978) Early stages of uptake and transport of horseradish peroxidase by cortical structures and its use for the study of local neurons and their processes. J Comp Neurol 177, 193-212.

VELASCO M.E., TALEISNIK S. (1969) Release of gonadotropins induced by amygdaloid stimulation in the rat. Endocrinology 84, 132-139.

WAGNER M.J., PILGRIM C. (1974) Extracellular and transcellular transport of horseradish peroxidase (HRP) through the hypothalamic tanycyte ependyma. Cell Tissue Res 152, 477-491.

WALBERG F., BRODAL A., HODDEVIK G.H. (1976) A note on the method of retrograde transport of horseradish peroxidase as a tool in studies of afferent cerebellar connections, particularly those from the inferior olive, with comments on the orthograde transport in Purkinje cell axons. Exp Brain Res 24, 383-401.

WARBERG J., ESKAY R.L., PORTER J.C. (1976) Prostaglandin - induced release of anterior pituitary hormones : structure - activity relationships. Endocrinology 98, 1135-1141.

WAREMBOURG M. (1977) Radioautographic localization of estrogen-concentrating cells in the brain and pituitary of the guinea-pig. Brain Res 123, 357-362.

WEINDL A., SOFRONIEW M.V. (1978) Neurohormones and circumventricular organs. An immunohistochemical investigation. In : "Neural hormones and reproduction", Scott D.E., Kozolowski G.P., Weindl A., eds, S. Karger (Basel) pp 117-137.

WEINER R.O., TERKEL J., BLAKE C.A., SCHALLY A.V., SAWYER C.H. (1973) Changes in serum luteinizing hormone following intraventricular and intravenous injections of luteinizing releasing hormone in the rat. Neuroendocrinology 10, 261-272.

WELLMAN W., SCHWABE V. (1973) Effects of prostaglandins E1, E2 and F2 $\alpha$  on cyclic AMP levels in brain in vivo. Brain Res 59, 371-378.

WHITEHEAD S.A., RUF K.B. (1974) Responses of antidromically identified preoptic neurons in the rat to neurotransmitters and to estrogen. Brain Res 79, 185-198.

WILLIAMS J.W., RUDY T.A., YAKSH T.L., VISWANATHAN C.T. (1977) An extensive exploration of the rat brain for sites mediating prostaglandin - induced hyperthermia. Brain Res 120, 251-262.

WUTTKE W. (1974) Preoptic unit activity and gonadotropin release. Exp Brain Res 19, 205-216.

- WUTTKE W. (1976) Neuroendocrine mechanisms in reproductive physiology. Rev Physiol Biochem Pharmacol 76, 59-102.
- YAGI K., IWASAKI S. (1977) Electrophysiology of the neurosecretory cell. Int Rev Cytol 48, 141-186.
- YAGI K., IWASAKI S., SAWAKI Y., SATOW Y. (1971) Electrophysiological studies on the neurosecretory neuron. Med J Osaka Univ 21, 75-90.
- YAGI K., SAWAKI Y. (1970 a) Neuronal mechanism in the rat hypothalamus. J Physiol Soc Jpn 32, 496.
- YAGI K., SAWAKI Y. (1970 b) On the localization of neurosecretory cells controlling adenohipophysial function. J Physiol Soc Jpn 32, 621-622.
- YAGI K., SAWAKI Y. (1971) Changes in the electrical activity of the hypothalamus during sexual cycle and the effect of castration on it in the female rat. J Physiol Soc Jpn 33, 546-547.
- YAGI K., SAWAKI Y. (1975) Recurrent inhibition and facilitation : demonstration in the tuberoinfundibular system and effects of strychnine and picrotoxin. Brain Res 84, 155-159.
- YAGI K., SAWAKI Y. (1977) Medial preoptic nucleus neurons : inhibition and facilitation of spontaneous activity following stimulation of the median eminence in female rats. Brain Res 120, 342-346.
- YAGI K., SAWAKI Y. (1978) Electrophysiological characteristics of identified tubero-infundibular neurons. Neuroendocrinology 26, 50-64.
- YAMADA Y. (1975) Effects of iontophoretically applied prolactin on unit activity of the rat brain. Neuroendocrinology 18, 263-271.
- YAMASHITA H., KOIZUMI K., BROOKS C. Mc C. (1970) Electrophysiological studies of neurosecretory cells in the cat hypothalamus. Brain Res 20, 462-466.
- ZIEGLGANSBERGER W., SOTHMANN G., HERZ A. (1974). Iontophoretic release of substances from micropipettes in vitro. Neuropharmacology 13, 417-422.
- ZOR U., KANEKO T., SCHNEIDER H.P.G., Mc CANN S.M., FIELD J.B. (1970) Further studies of stimulation of anterior pituitary cyclic adenosine 3',5' monophosphate formation by hypothalamic extracts and prostaglandins. J. Biol Chem 245, 2883.
- ZUCKER I., RUSAK B., KING R.G. Jr (1975) Neural bases of circadian rhythms in rodent behavior . In : "Advances in psychobiology", Newton, Riesin, eds, Wiley (New-York) pp 35-74.