

50376
1990
164

50376
1990
164

THESE

PRÉSENTÉE À L'UNIVERSITÉ DE LILLE 1

N° d'ordre 520

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
EN SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

Mention NEUROSCIENCES

par

Lionel HARY



**CONTROLE MULTIFACTORIEL
DE LA FONCTION CORTICOTROPE
DE L'HYPOPHYSE DU RAT NOUVEAU-NÉ**

Soutenue le 26 avril 1990 devant la commission d'examen

Président	M. DUPOUY J.P.	Professeur à l'Université de LILLE 1
Examineurs	M. ANDRÉJAK M.	Professeur à l'Université de PICARDIE
	M. CHATELAIN A.	Professeur à l'Université de LILLE 1 <i>Rapporteur</i>
	M. HARICHAUX P.	Professeur à l'Université de PICARDIE
	M. KOCH B.	Directeur de Recherches au CNRS STRASBOURG <i>Rapporteur</i>
	M. SZAFARCZYK A.	Professeur à l'Université de MONTPELLIER 2 <i>Rapporteur</i>

SCD LILLE 1



D 030 317383 1

50376
1990
164

69187

50376
1990
164

AVANT-PROPOS

Je suis particulièrement heureux que Monsieur J.P. DUPOUY, Professeur de Physiologie à l'Université de LILLE 1 préside ce jury. En effet il m'a d'abord accueilli au Laboratoire de Physiologie Animale de l'U E R des Sciences Exactes et Naturelles d'AMIENS dont il était directeur et où j'ai commencé ces recherches avec l'aide précieuse de ses conseils et connaissances. Il m'a ensuite permis de continuer les recherches au sein du Laboratoire de Neuroendocrinologie du Développement à LILLE. Je tiens à le remercier vivement pour l'aide qu'il m'a accordée sur le plan matériel tout au long de ces années et pour la réalisation de ce mémoire.

Je remercie Monsieur A. CHATELAIN, Professeur à l'Université de LILLE 1, d'avoir accepté de juger ce travail. Je peux ainsi lui exprimer combien je lui suis redevable de toute l'aide qu'il m'a apportée avec autant de gentillesse depuis le début de mes travaux à AMIENS.

Monsieur B. KOCH, Directeur de recherches au CNRS, me fait l'honneur de juger ce travail; je l'en remercie vivement et je tiens à lui exprimer combien j'ai apprécié l'amical accueil qu'il m'a réservé à STRASBOURG pour l'initiation aux techniques de marquage des récepteurs vasopressinergiques de l'hypophyse.

Je remercie particulièrement Monsieur A. SZAFARCZYK, Professeur de Physiologie à MONTPELLIER 2, de me faire l'honneur de juger ce travail et de participer au jury de cette thèse.

Monsieur M. ANDRÉJAK, professeur de Pharmacologie à l'Université de PICARDIE et dont je suis devenu le collaborateur, a accepté de participer au jury de cette thèse. J'en suis très heureux et je l'en remercie ainsi que pour les facilités qu'il m'a accordées pour terminer ce travail.

Je suis également heureux de remercier Monsieur P. HARICHAUX, Professeur de Physiologie à l'Université de PICARDIE,

de participer à ce jury et d'avoir permis de mettre en route ces recherches alors que je travaillais avec lui .

Je suis très redevable à Monsieur J.P. POZZO DI BORGO et à Madame B. CORRELA (AMIENS) ainsi qu' à Mesdames S. DELOOF, V. DUPONT-MONTEL et C. GUICHARD (LILLE) des concours techniques qu'ils m'ont apportés. Je remercie Mesdames O. BOLLET et M. PRUDHOMME pour leur collaboration dans la réalisation matérielle de ce mémoire.

À ma famille.

Le présent travail a fait l'objet de publications et de communications

Publications

- L. HARY, J.P. DUPOUY et A. CHATELAIN
Pituitary response to bilateral adrenalectomy, metyrapone treatment and ether stress in the newborn rat.
Biol. Neonate, 1981, 39, 28-36.
- L. HARY, J.P. DUPOUY et A. CHATELAIN
Effect of norepinephrine on the pituitary adrenocorticotrophic activation by ether stress and on the in vitro release of ACTH by the adenohipophysis of male and female newborn rat.
Neuroendocrinology, 1984, 39, 105-113.
- L. HARY, J.P. DUPOUY et I. GREGOIRE
Effects of castration and testosterone on the pituitary and adrenal responses of the newborn rat to ether inhalation.
Neuroendocrinology, 1986, 42, 137-142.
- J.P. DUPOUY, L. HARY, J.D. LALAU, I. GREGOIRE et A. CHATELAIN
Influence périnatale des hormones sexuelles sur l'activation différentielle de la fonction corticotrope au cours d'un stress chez le mâle et la femelle.
Ann. Endocrinol., 1987, 48, 385-392.

COMMUNICATIONS

- L. HARY et J.P. DUPOUY
Potentialisation par la noradrénaline de la réponse de l'hypophyse du nouveau-né de rat à un stress à l'éther.
Réunion de l'Association des Physiologistes, Rouen, 29-30 janvier 1982.
J. Physiol. (Paris), 1982, 78, (1), 16 A.
- L. HARY et J.P. DUPOUY
Cinétique de la réponse au stress à l'éther du nouveau-né de rat. Influences des hormones sexuelles.
Régulations cellulaires multi-hormonales et neuro-endocrinologie, Colmar, septembre 1982.
INSERM, 110 (TIXIER-VIDAL, A. et RICHARD, P., EDS 1983).
- J.P. DUPOUY, L. HARY, J.D. LALAU, I. GREGOIRE et A. CHATELAIN
Influence périnatale des hormones sexuelles sur l'activation différentielle de la fonction corticotrope au cours d'un stress chez le mâle et la femelle.
XVIème Colloque de la Soc. Neuroend. Exp.
11-13 Septembre 1986, Marseille.
- L. HARY, J.P. DUPOUY et A. CHATELAIN
Sécrétion d'ACTH in vitro par le lobe antérieur de l'hypophyse du rat nouveau-né : influence du CRF et de l'ocytocine en fonction du sexe.
Actes du Congrès de Physiologie (Limoges), 6-7 novembre 1986, Elsevier, 13 - 14 A (1987).

L. HARY, J.P. DUPOUY, A. CHATELAIN

Unlike vasopressin, oxytocin potentiation of the ACTH releasing activity of rCRF41 in newborn rats is sex dependent.
First European Congress of Endocrinology, Copenhagen, 21-25 juin 1987.

L. HARY, J.P. DUPOUY, A. CHATELAIN

In vitro effects of vasopressin-agonists and - antagonists on ACTH secretion from anterior pituitary lobes of newborns rats.
Réunion commune Franco-Hollandaise de Pharmacologie,
Paris 2-3 mars 1989.

PLAN

1 INTRODUCTION GÉNÉRALE	p 1
2 MATÉRIELS ET TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES	p 3
2-1 Animaux	p 3
2-2 Prélèvements sanguins et tissulaires	p 3
2-3 Incubation des lobes antérieurs et des lobes neurointermédiaires d'hypophyses	p 4
2-4 Préparation des tissus et du plasma en vue du dosage radioimmunologique de l'AVP et de l'ocytocine	p 4
2-5 Dosages radioimmunologiques de l'ACTH	p 5
2-6 Dosages radioimmunologiques de l'AVP et de l'ocytocine	p 5
2-7 Dosages radioimmunologiques de la testostérone et de l'œstradiol	p 6
2-8 Stress à l'éther	p 7
2-9 Castration des nouveau-nés mâles	p 7
2-10 Dosage de la corticostérone surrénalienne	p 7
2-11 Analyse statistique	p 7
3 RÉPONSE DE L'HYPOPHYSE DU RAT DE 8 JOURS, MALE ET FEMELLE, À UNE INHALATION DE VAPEURS D'ÉTHÉR	p 8
3-1 Introduction	p 8
3-2 Protocole expérimental	p 9
3-3 Résultats	p 9
3-4 Discussion	p 10

4	ROLE DES HORMONES SEXUELLES SUR LA SÉCRÉTION D'ACTH <i>IN VIVO</i> LORS DU STRESS À L'ÉTHÉR, ET <i>IN VITRO</i>	p 12
4-1	Introduction	p 12
4-2	Protocoles expérimentaux	p 16
4-2-1	Détermination des taux plasmatiques de testostérone et d'œstradiol par dosages radioimmunologiques	p 16
4-2-2	Incubation du lobe antérieur de l'hypophyse de rat de 8 jours avec de la testostérone et de l'œstradiol	p 16
4-2-3	Effet de la température sur l'évolution de la testostérone plasmatique des nouveau-nés mâles à la naissance	p 16
4-2-4	Castration bilatérale des nouveau-nés mâles délivrés par césarienne	p 16
4-2-5	Injection de testostérone aux nouveau-nés femelles	p 17
4-2-6	Stress à l'éther et prélèvements	p 17
4-3	Résultats	p 18
4-3-1	Taux de testostérone et d'œstradiol chez les nouveau-nés de 8 jours	p 18
4-3-2	Sécrétion, <i>in vitro</i> , d'ACTH par le lobe antérieur d'hypophyse de rat de 8 jours en présence de testostérone et d'œstradiol	p 18
4-3-3	Effets de la température du milieu ambiant sur l'évolution postnatale de la testostérone plasmatique du nouveau-né mâle	p 18
4-3-4	Effet de la castration (chez le mâle) ou de l'injection de testostérone (chez la femelle) à la naissance sur la réponse au stress à l'éther à l'âge de 8 jours	p 20
4-4	Discussion	p 22

5	INFLUENCES ADRÉNERGIQUES ET SÉROTONINÉRIQUES SUR LA SÉCRÉTION D'ACTH PAR L'HYPOPHYSE DE RATS DE 8 JOURS, MALES ET FEMELLES <i>IN VIVO</i> LORS DU STRESS À L'ÉTHÉR ET <i>IN VITRO</i>	p 26
5-1	Introduction	p 26
5-2	Protocoles expérimentaux	p 36
5-2-1	Injection de noradrénaline à des animaux normaux	p 36
5-2-2	Stress à l'éther chez des mâles et chez des femelles ayant préalablement reçu une injection d'un bloquant adrénérgique et de noradrénaline	p 36
5-2-3	Stress à l'éther chez les mâles et chez les femelles ayant préalablement reçu une injection de sérotonine et/ou de cyproheptadine	p 37
5-2-4	Incubation de lobes antérieurs d'hypophyses d'animaux mâles et femelles en présence de noradrénaline ou de sérotonine, seules ou associées à du CRF	p 37
5-2-5	Incubation de lobes neurointermédiaires d'hypophyses en présence de noradrénaline ou de sérotonine	p 38
5-3	Résultats	p 39
5-3-1	Effet de la noradrénaline sur le taux d'ACTH plasmatique chez des rats de 8 jours des deux sexes	p 39
5-3-2	Effet de la noradrénaline et de bloquants adrénérgiques sur la sécrétion d'ACTH lors d'un stress à l'éther chez des rats de 8 jours mâles ou femelles	p 40
5-3-3	Sécrétion d'ACTH à la suite d'un stress à l'éther chez des rats de 8 jours mâles et femelles ayant reçu une injection de sérotonine et/ou de cyproheptadine	p 42
5-3-4	Effet de la noradrénaline et de la sérotonine sur la sécrétion d'ACTH <i>in vitro</i>	p 44
5-4	Discussion	p 48

6	SÉCRÉTION <i>IN VITRO</i> D'ACTH PAR LE LOBE ANTÉRIEUR DE L'HYPOPHYSE DE RATS NOUVEAU-NÉS MALES ET FEMELLES:	p 54
	- EFFET DU CRF, DE L'AVP, DE L'OCYTOCINE SEULS OU EN ASSOCIATION	
	- EFFETS D'AGONISTES ET D'ANTAGONISTES VASOPRESSINERGIQUES ET D'UN AGONISTE OCYTOCINERGIQUE SEULS OU ASSOCIÉS À DU CRF, DE L'AVP OU DE L'OCYTOCINE	
6-1	Introduction	p 54
6-2	Protocoles expérimentaux	p 58
6-2-1	Détermination des contenus de l'hypothalamus, du lobe neurointermédiaire et du plasma périphérique en AVP et ocytocine	p 58
6-2-2	Incubations de lobes antérieurs d'hypophyses	p 58
6-2-3	Analyses statistiques	p 60
6-3	Résultats	p 61
6-3-1	AVP et ocytocine dans l'hypothalamus, le lobe neurointermédiaire et le plasma périphérique	p 61
6-3-2	Effet du rCRF, de l'AVP et de l'ocytocine sur la sécrétion, <i>in vitro</i> , d'ACTH par l'hypophyse antérieure	p 62
6-3-3	Effets de l'AVP et de l'ocytocine sur la réponse au CRF	p 64
6-3-4	Effets d'agonistes et d'antagonistes de l'AVP sur la réponse hypophysaire au rCRF et à l'AVP	p 66
6-3-5	Effets des antagonistes AVP sur la réponse hypophysaire à l'ocytocine chez la femelle	p 69
6-3-6	Effets d'un agoniste de l'ocytocine sur la sécrétion basale d'ACTH et sur celle induite par le rCRF	p 70
6-4	Discussion	p 71
7	DISCUSSION GÉNÉRALE	p 79
	BIBLIOGRAPHIE	p 81

1 INTRODUCTION GENERALE

1 Introduction générale

Le contrôle de l'activité corticotrope de l'hypophyse de l'adulte fait intervenir de nombreux facteurs: neurohormones hypothalamiques (CRF, AVP, ocytocine), neurotransmetteurs centraux (noradrénaline, sérotonine, GABA, acétylcholine et histamine) hormones circulantes (catécholamines, angiotensine, cholécystokinine, facteur natriurétique atrial,...), (revues récentes in TUOMISTO et MÄNNISTÖ, 1985 ; ANTONI, 1986 a; RIVIER et PLOTSKY, 1986 ; LABRIE et coll. 1987 ; PLOTSKY, 1987 a ; AL DAMLUJI, 1988 ; JONES et GILLHAM, 1988). Pour certains facteurs une dualité d'origine associée à un mode de libération dans un espace plus ou moins restreint leur confère le caractère de neurotransmetteur et/ou de neurohormone et/ou d'hormone. L'un des exemples les plus typiques est celui des catécholamines: - d'origine centrale et agissant comme neurotransmetteur ou neurohormone selon que la libération s'effectue dans un espace synaptique neuro-neuronique ou dans le sang porte hypophysaire - d'origine périphérique (médullo-surrénale) et agissant comme hormone.

L'activité corticotrope fait l'objet d'un rétrocontrôle périphérique majeur par les glucocorticoïdes sécrétés par la cortico-surrénale, glande cible privilégiée de l'ACTH hypophysaire (in KELLER-WOOD et DALLMAN, 1984).

D'autres stéroïdes d'origine gonadique paraissent influencer l'activité corticotrope hypophysaire puisque lors d'un stress la sécrétion hypophysaire d'ACTH est, chez le rat, plus forte chez la femelle que chez le mâle (KITAY, 1961; GRAY, 1971; LE MEVEL et coll. 1982); ce fait est cependant peu ou pas rapporté dans les revues précitées.

Chez le rat nouveau-né, au cours des 15 premiers jours post-partum, l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien est faible à l'état basal ou dans une situation de stress, à tel point que SCHAPIRO et coll. (1962) ont proposé de désigner par "stress-non-responsive-period" la période de la vie post-natale au cours de laquelle l'axe hypophyso-surrénalien paraissait réfractaire au pouvoir stressant de nombreux agents; l'existence et la durée de cette période ont été controversées (revues in HARY et coll. 1981; HARY, 1982 et in SAPOLSKY et MEANEY, 1986). La plupart des données relatives à la fonction corticotrope concernent la production et la sécrétion des glucocorticoïdes, peu concernent la sécrétion d'ACTH, critère plus direct de l'activité hypophysaire.

Le but du présent travail a été de quantifier (par une méthode radio-immunologique) l'aptitude de l'hypophyse du rat nouveau-né à sécréter l'ACTH. Nous avons choisi de réaliser cette étude à l'âge de 8 jours qui se situe en plein dans la période où l'activité hypothalamo-hypophyso-surrénalienne est au plus bas. Nous avons décidé de la réaliser distinctement chez des mâles et des femelles pour savoir si les différences sexuelles observées chez l'adulte sont inhérentes à la maturité sexuelle des animaux ou leur sont antérieures.

Nous avons recherché quels pouvaient être, sur la sécrétion d'ACTH, les effets

- d'une inhalation d'éther
- des hormones sexuelles, aussi bien *in vivo* que *in vitro*, sur le lobe antérieur de l'hypophyse
- de la noradrénaline et de la sérotonine *in vitro* séparément sur le lobe antérieur et sur le lobe neuro-intermédiaire, ainsi que de ces amines, d'un antagoniste des récepteurs α -adrénergiques et d'un antagoniste des récepteurs sérotoninergiques *in vivo*
- du CRF *in vitro* sur le lobe antérieur et sur le lobe neuro-intermédiaire, ainsi que du CRF, de la vasopressine, de l'ocytocine, d'agonistes et d'antagonistes des récepteurs vasopressinergiques, d'un agoniste des récepteurs ocytocinergiques, *in vitro* sur le lobe antérieur.

Nous avons également abordé l'étude du nombre et de l'affinité des récepteurs à l'AVP sur des membranes isolées du lobe antérieur de l'hypophyse.

Un chapitre particulier à chacune des études précitées comprend une introduction, les protocoles expérimentaux propres, les résultats et la discussion. Préalablement un chapitre est dévolu à la description générale des matériels et techniques expérimentales utilisés. Une conclusion générale termine ce mémoire.

Dans le but de faciliter la lecture du mémoire, les tableaux sont insérés dans le texte, et les figures sont situées sur la page de gauche en face de la première référence les concernant ou sur une page immédiatement suivante dans le cas où plusieurs figures sont appelées dans une même page de texte.

2 MATERIELS ET TECHNIQUES EXPERIMENTALES

2 Matériels et techniques expérimentales

2-1 Animaux

Les expériences ont été réalisées sur des rats WISTAR élevés au laboratoire (cycle lumière - obscurité, 12 h - 12 h ; température $22 \pm 2^\circ \text{C}$) avec accès libre à la nourriture et à l'eau. Des femelles sont mises en présence d'un mâle durant toute une nuit (de 18 h à 8 h). Le jour suivant est considéré comme 1er jour de gestation si des spermatozoïdes sont trouvés le matin dans le frottis vaginal. Les femelles gestantes sont transférées dans des cages individuelles 24 à 48 h avant la naissance présumée. Quelques fœtus ont été prélevés in utéro, par césarienne, au 22ème jour de gestation; l'âge gestationnel de ces animaux est en moyenne $21 \text{ j} \pm 7 \text{ h}$. Le jour de naissance est J0; il correspond à une naissance ayant eu lieu généralement dans la nuit précédente ou éventuellement dans la journée. Les nouveaux-nés âgés de 8 jours sont utilisés à J8 le matin entre 8 h et 12 h, période de la journée au cours de laquelle ont été réalisées les expériences et/ou les prélèvements de tissus et de sang. Les animaux sont rapidement sacrifiés par section des carotides ou décapitation.

2-2 Prélèvements sanguins et tissulaires

Le sang est prélevé sur EDTA (2 μl d'EDTA 5 % pour 100 μl de sang), centrifugé à 4°C (15 min, 3500 g), et congelé à -20°C ou -80°C (en présence d'aprotinine (ZYMOFREN*, 10 unités, soit 1 μl pour 100 μl de plasma), jusqu'au moment des dosages hormonaux.

Les tissus hypothalamiques et les hypophyses sont rapidement prélevés après décapitation des animaux.

Le fragment hypothalamique prélevé, incluant l'éminence médiane et la tige hypophysaire est délimité à l'avant par le chiasma optique et à l'arrière par les corps mamillaires. Il est immédiatement congelé dans l'azote liquide puis stocké à -80°C jusqu'à son utilisation pour le dosage de neurohormones.

Pour les hypophyses, les lobes antérieurs et neuro-intermédiaires sont séparés sous loupe binoculaire à l'aide d'aiguilles d'acier. Ces lobes hypophysaires sont utilisés soit immédiatement pour les expérimentations *in vitro* (incubation), soit congelés dans l'azote liquide puis stockés à -80°C afin d'être utilisés ultérieurement (étude de récepteurs sur le lobe antérieur, dosages hormonaux sur le lobe neuro-intermédiaire).

2-3 Incubation des lobes antérieurs et des lobes neuro-intermédiaires d'hypophyse

Les lobes antérieurs (LA) d'hypophyses de rats nouveau-nés de 8 jours sont pré-incubés (1 LA par tube) 2 fois 1 heure dans 1 ml de tampon Krebs-Ringer-bicarbonate (pH 7,40) contenant 0,2 % de glucose, 0,006 % d'acide ascorbique, 0,3 % d'albumine sérique humaine. L'incubation a lieu à 37° C sous une atmosphère de carbogène (95% O₂ / 5% CO₂). Dans ces conditions nous avons montré au cours d'expériences préliminaires l'existence d'une sécrétion basale d'ACTH. Ces LA d'hypophyses sont alors incubés 2 fois 1 heure en présence de différentes substances pharmacologiques et/ou hormonales dont la nature et les doses seront mentionnées lors de chaque étude). Le milieu d'incubation est renouvelé à la fin de chaque période d'incubation d'une heure. Des fractions aliquotes en sont collectées puis stockées à - 80 °C.

Les lobes neuro-intermédiaires (LNI) sont incubés dans les mêmes conditions à raison de 2 LNI pour 0,5 ml de tampon par tube.

2-4 Préparation des tissus et du plasma en vue du dosage radioimmunologique de l'AVP et de l'ocytocine

Après décongélation, les hypothalamus et les lobes neuro intermédiaires sont broyés et centrifugés 15 min à 4000 g. L'AVP et l'ocytocine contenues dans les lobes neuro-intermédiaires et les hypothalamus sont directement dosées dans le surnageant, sans extraction préalable.

Pour le plasma, ces deux hormones sont extraites

(1) selon la technique de WILLIAMS et coll. (1985) après acidification des échantillons (plasma / acide formique 0,1 M ; 500/1500 ; v/v) à l'aide de cartouches chromatographiques Sep Pak C18 WATERS. Après passage de l'échantillon la cartouche est lavée par l'acide formique 0,1 M, puis les hormones peptidiques fixées sont éluées par un mélange méthanol / acide formique 0,1 M (95/5; v/v) ou par le méthanol pur. L'éluat est évaporé à 44° C (Speed Vac Concentrateur SAVANT); le résidu est dissous dans le tampon de dosage RIA (cf. 2-6), si nécessaire le pH est ajusté à 7,4 avec NaOH 1N.

(2) par l'acétone à 4° C (plasma / acétone; 500/1500 ; v/v). Le surnageant est séparé par centrifugation (4000 g, 15 min, 4° C) puis évaporé et dissous comme précédemment.

Les rendements d'extraction mesurés avec ¹²⁵I-ocytocine sont de 77,59 ± 2,43 % (n=7) (méthanol 95 % / acide formique 0,1 M 5%), 78,95 ± 2,54 % (n=7) (méthanol 100 %) pour l'extraction par phase solide sur Sep Pak C18, et de 78,39 ± 0,59 % (n=7)

pour l'extraction liquide avec acétone. Des rendements tout à fait comparables sont obtenus pour ^{125}I -AVP, ainsi que pour l'AVP et l'ocytocine non marquées ajoutées à du plasma. Compte tenu de ces résultats les extractions ont été réalisées en pratique avec l'acétone vu leur rapidité, juste avant la mise en route des dosages radioimmunologiques.

2-5 Dosages radioimmunologiques de l'ACTH

Le dosage de l'ACTH dans le plasma a été réalisé à l'aide d'un kit provenant du Commissariat à l'Energie Atomique (Saclay, France).

Le dosage de l'ACTH dans les milieux d'incubation hypophysaires ont été réalisés selon une technique développée dans le laboratoire (CHATELAIN et coll, 1981). Brièvement, de l'ACTH synthétique humaine a été marquée avec de l'iode 125 (Amersham, Angleterre). L'antisérum (gracieusement fourni par le Dr C. Oliver, Marseille) a été dilué (1/500.000) dans du tampon véronal 0,02 M, pH 8,2, additionné de 0,2 % de mercaptoéthanol et de 0,3 % d'albumine sérique humaine. Aucun croisement n'a été observé avec les hormones mélanotropes (α -MSH, β -MSH), lipotrope (β -LPH), le CLIP ("Corticotropin-like intermediate-lobe peptide") ou les fragments 4-10, 11-24, 25-39 d'ACTH porcine. Le pourcentage de croisement avec l'ACTH 1-39 humaine est de 100 % (40 % et 20 % respectivement pour les fragments 1-24 et 1-16). Après 2 jours d'incubation à 4° C, la séparation ACTH liée à l'anticorps - ACTH libre est réalisée à l'aide de 0,4 ml d'une suspension d'un mélange charbon actif-dextran (500 mg de charbon actif Sigma et 50 mg de dextran, clinical grade, Sigma dans 100 ml de tampon véronal). Le pourcentage de liaison en l'absence de compétition est de $44,6 \pm 1,6$ % (n=78) ; la limite de détection est de 20 pg/ml plasma. La variabilité est de 3,22 % (n=18) intra-essai et de 9,62 % (n=15) inter-essai. Les concentrations d'ACTH sont déterminées à partir d'une courbe standard qui représente le pourcentage de liaison de l'ACTH en fonction de sa concentration. Cette courbe est linéarisée selon un modèle Logit - Log (méthode des moindres carrés).

2-6 Dosages radioimmunologiques de l'AVP et de l'ocytocine

Les immunosérums anti vasopressine et anti ocytocine ont été gracieusement fournis par le Dr P. Czernichow (Hôpital Necker Paris).

Le sérum anti AVP a été dilué au 1/200.000 et de l'AVP marquée à l'iode 125 (NEN Research Products, Angleterre; ref. NET 800, 67,7 Ci /mmol) a été utilisée comme traceur. Le tampon d'incubation utilisé est un tampon phosphate 0,05 M additionné de NaCl (0,15 M) et d'albumine sérique humaine (0,2 %) à pH 7,40. Après 48 h de préincubation à 4° C sans AVP marquée, et 14 h d'incubation avec l' ^{125}I -AVP, la séparation a été réalisée avec un

tampon phosphate 0,022 M pH 8,40 contenant du plasma de rat et du polyéthylène glycol 6000 (95/5/25 ; v/v/p).

Le sérum anti AVP croise à 100 % avec l'AVP et à 0,0049 % avec l'ocytocine. La liaison spécifique de ^{125}I -AVP est $49,83 \pm 2,02$ % (n=26). Le coefficient de variation est de 6,23 % (n=10) intra-essai et de 7,81% (n=12) inter-essai.

Le sérum anti ocytocine a été dilué au 1/25000 et le traceur utilisé est ^{125}I -ocytocine (NEN Research Products, Angleterre; ref. NET 858, 39,3 Ci/mmol). Les séquences de préincubation, incubation et extraction sont identiques à celles mentionnées pour l'AVP.

Le sérum anti-ocytocine croise à 100 % avec l'ocytocine et à 0,012 % avec l'AVP. La liaison spécifique est de $30,50 \pm 1,33$ % (n=29). Le coefficient de variation est de 4,95 % (n=10) intra-essai et de 5,69% (n=17) inter-essai.

2-7 Dosages radioimmunologiques de la testostérone et de l'oestradiol

Les dosages de la testostérone et de l'oestradiol ont été réalisés avec les kit DIRIA-TESTOK et DIRIA-ESTRK (CEA-SORIN, Gif sur Yvette). Après 4 h d'incubation (37° C pour la testostérone, température ambiante pour l'oestradiol) la séparation hormone liée - hormone libre est effectuée par précipitation avec du polyéthylène-glycol et des anti-immunoglobines de lapin.

Le sérum anti-testostérone croise à 100 % avec la testostérone, 7,2 % avec la 5 dihydrotestostérone, 0,01 % avec l'androsténone, 0,036 % avec la déhydro-épiandrostérone, 0,030 % avec le 5α androstane 3α , 17β diol et 0,020 % avec les autres stéroïdes tels que l'androstérone, la progestérone, l'oestrone, l'oestrodol, l'oestriol. Le coefficient de variation est de 1,63 % (n = 12) intra-essai et de 1,78% (n=10) inter-essai).

Le sérum anti oestradiol croise à 100 % avec l'oestradiol, 0,7 % avec l'oestrone, 0,55 % avec l'oestriol, 0,007 % avec la 20-hydroxy-progestérone, 0,002 % avec les autres stéroïdes sexuels tels que la progestérone, la 17α -hydroxyprogestérone, la prégnenolone, l'androsténone, la testostérone et divers glucocorticoïdes tels que la corticostérone et le cortisol. Le coefficient de variation est de 6,40 % (n=10) intra essai et de 8,53% inter-essai (n=10).

2-8 Stress à l'éther

Dans une enceinte de verre de 0,5 l est placé du coton hydrophile imbibé de 10 ml d'éther à la température du laboratoire. Les animaux sont placés pendant deux minutes dans cette enceinte. Cette durée d'exposition aux vapeurs d'éther a été choisie compte tenu de l'anesthésie complète observée au terme de ces deux minutes et du caractère léthal d'une exposition de 2,5 minutes ou plus.

2-9 Castration d'animaux mâles

Les nouveau-nés, prélevés par césarienne au 22e jour de gestation, sont immédiatement placés au réfrigérateur sur un lit de glace pour la cryo-anesthésie. Après la castration, réalisée toujours sur un lit de glace dans les 30 minutes suivant la naissance, les animaux sont réchauffés puis placés avec une mère nourricière dont les propres nouveau-nés ont été préalablement retirés.

2-10 Dosage de la corticostérone surrénalienne

Elle est réalisée par méthode fluorimétrique (GUILLEMIN et Coll. 1959).

2-11 Analyse statistique

Les comparaisons entre groupes expérimentaux ont été réalisés à l'aide d'un test t de Student.

Le test d'analyse de variance et de régression a été utilisé pour tester la linéarité et le parallélisme de relations effets-doses (BOLTON, 1984).

**3 REPONSE DE L'HYPOPHYSE DU RAT DE 8 JOURS, MALE ET
FEMELLE, A UNE INHALATION DE VAPEURS D'ETHER**

3 Réponse de l'hypophyse du rat de 8 jours, mâle et femelle, à une inhalation de vapeurs d'éther

3-1 Introduction

L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien du rat nouveau-né semble être très réfractaire à la stimulation par différents types de stress (Revue in MILKOVIC et MILKOVIC, 1969 ; HARY, 1982 ; SAPOLSKY et MEANEY, 1986; JONES et GILLHAM, 1988).

Parmi les critères variés retenus pour apprécier l'activation de la fonction corticostimulante de l'hypophyse par un stress, la mesure des taux plasmatiques d'ACTH est l'un des meilleurs; elle a été utilisée chez des rats nouveau-nés soumis à une inhalation de vapeurs d'éther (TANG et PHILLIPS, 1977 ; GUILLET et MICHAELSON, 1978 ; WALKER et coll. 1986). Ce type de stress n'est pas capable d'accroître significativement la sécrétion d'ACTH chez les nouveau-nés âgés de moins de 14 jours (GUILLET et MICHAELSON, 1978; WALKER et coll. 1986). Par contre, selon TANG et PHILLIPS (1977) une augmentation du taux plasmatique d'ACTH survient chez des femelles de 7 jours mais non chez les mâles de même âge. La discordance entre ces résultats expérimentaux peut être liée (1) à la méthode de dosage utilisée par les auteurs: dosage biologique dans un cas (TANG et PHILLIPS, 1977), dosage radioimmunologique dans les deux autres (GUILLET et MICHAELSON, 1978; WALKER et coll. 1986), (2) au regroupement d'animaux des deux sexes (GUILLET et MICHAELSON, 1978; WALKER et coll. 1986), les uns susceptibles d'être plus réactifs que les autres, le sexe des nouveau-nés n'ayant pas été précisé dans les travaux de ces auteurs. Par ailleurs les mesures des taux plasmatiques ont été faites à des intervalles de temps variables et peu nombreux après la fin de la période d'inhalation d'éther.

Le but de ce travail a été de suivre le décours temporel de l'activité corticostimulante de l'hypophyse du rat nouveau-né de 8 jours, séparément chez les mâles et chez les femelles des mêmes portées soumis à une inhalation d'éther en prenant comme critère d'activité hypophysaire le taux d'ACTH plasmatique déterminé par un dosage radioimmunologique.

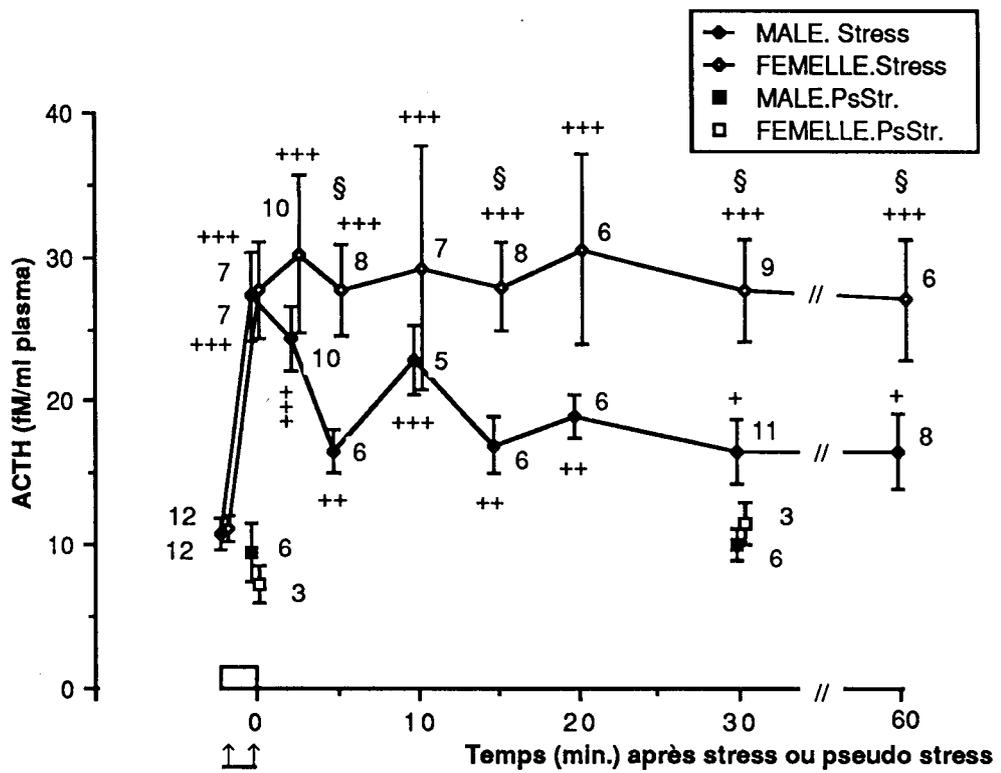


Figure 1: ACTH plasmatique chez des rats mâles et femelles de 8 jours avant et à la suite d'un pseudo-stress (PsStr.) ou d'un stress à l'éther de 2 minutes (↑↑).

moyennes ± e.s.m.

Comparaisons	p<0,05	p<0,01	p<0,001
- Stress vs Avant stress	+	++	+++
- mâles vs femelles	§		

3-2 Protocole expérimental

Des animaux de 8 jours, mâles et femelles des mêmes portées, ont été exposés pendant 2 minutes à des vapeurs d'éther dans une enceinte de verre close. Ils ont été sacrifiés soit à la fin de la période d'inhalation, soit 2,5 - 5 - 10 - 15 - 20 - 30 ou 60 minutes après celle-ci. Parallèlement des animaux de mêmes portées ont subi un pseudo-stress consistant en un séjour de même durée dans une enceinte identique dépourvue d'éther. Certains animaux des deux sexes ont été sacrifiés sans être soumis à un stress ou à un pseudo-stress pour déterminer le taux basal d'ACTH plasmatique (témoins, avant stress).

3-3 Résultats

Avant le stress, le taux d'ACTH plasmatique observé chez les mâles n'est pas significativement différent de celui observé chez les femelles (Figure 1).

Dès la fin de la période d'inhalation d'éther, le taux plasmatique d'ACTH est significativement et semblablement augmenté chez les mâles et chez les femelles. La teneur du plasma en ACTH est alors environ 2,5 fois plus importante chez les animaux stressés que chez les pseudo-stressés ou les témoins avant le stress. Par la suite, la concentration du plasma en ACTH demeure élevée pendant au moins une heure chez les femelles alors qu'elle décroît irrégulièrement chez les mâles tout en restant plus élevée que chez les animaux pseudo-stressés ou les témoins avant stress (Figure 1).

3-4 Discussion

Le taux basal d'ACTH plasmatique observé chez des animaux témoins mâles et femelles, soit environ 50 pg ou 10 fM/ml de plasma, est tout à fait comparable à ceux observés chez des rats de 7 ou 10 jours par WALKER et coll. (1986).

Nos résultats mettent clairement en évidence une stimulation de la fonction corticotrope hypophysaire du rat nouveau-né de 8 jours soumis à un stress à l'éther. L'élévation du taux d'ACTH plasmatique dans nos conditions expérimentales d' inhalation d'éther peut parfaitement rendre compte de celle de la corticostéronémie observée chez le nouveau-né entre 7 et 9 jours (GRAY, 1971; SCHOENFELD et coll. 1980). Cette réponse hypophysaire au stress à l'éther met certainement en jeu le système nerveux central puisqu'elle est associée à l'âge de 7 jours à une augmentation de l'activité CRF dans l'hypothalamus (HIROSHIGE et SATO, 1971). Il en est vraisemblablement de même à 8 et 9 jours.

La réponse hypophysaire au stress à l'éther est beaucoup plus faible chez le rat nouveau-né que chez l'adulte aussi bien chez le mâle (COOK et coll. 1973 ; MATSUYAMA et coll. 1971) que chez la femelle (CHATELAIN, communication personnelle) où le taux d'ACTH plasmatique est de 15 à 30 fois supérieur à ce qu'il était avant le stress. De même, l'élévation de l'activité CRF dans l'hypothalamus est plus faible chez le nouveau-né que chez l'adulte soumis à un stress à l'éther associé à une laparotomie (HIROSHIGE et SATO, 1971).

Au début de la vie extra-utérine cette capacité réduite de réponse à l'inhalation d'éther pourrait résulter, tout à la fois, d'une immaturité partielle des mécanismes neuroendocriniens centraux mis en jeu dans ce type de stress et/ou d'une grande sensibilité du complexe hypothalamo-hypophysaire à la rétroaction négative des corticostéroïdes, abondants à l'état libre en raison du tarissement de la source maternelle de transcortine (CBG) et de la mise en place progressive de la synthèse de celle-ci par le foie du nouveau-né, les taux sériques de CBG étant au plus bas vers 6-9 jours de vie extra-utérine (KOCH, 1969; VAN BAELEN et coll. 1977).

Nos résultats sont en contradiction avec ceux de GUILLET et MICHAELSON (1978) d'une part, de WALKER et coll. (1986) d'autre part, pour qui l'inhalation d'éther n'induit pas chez le nouveau-né de 8 jours d'augmentation significative de l'ACTH plasmatique. Il faut cependant préciser que GUILLET et MICHAELSON ont utilisé des animaux de 7 jours soumis à un stress dont la durée est inférieure à 1 minute, alors que dans nos conditions expérimentales elle est deux fois plus importante. En ce qui concerne WALKER et coll. (1986), ils ont étudié la réponse au stress 10 minutes après la fin de celui-ci chez des

animaux de 7 et 10 jours, sans préciser leur sexe; il apparait néanmoins que les taux plasmatiques de corticostérone sont significativement augmentés après l'inhalation d'éther.

Le décours temporel de la réponse au stress à l'éther diffère selon le sexe ; le taux d'ACTH plasmatique est comparable dans les deux sexes immédiatement après le stress, mais par la suite il se maintient à une valeur élevée chez les femelles, tandis qu'il décroît chez les mâles. TANG et PHILLIPS (1977) ont aussi décrit, dans des conditions semblables aux nôtres, une différence de réponse entre les deux sexes à l'âge de 7 jours : un stress à l'éther d'une durée de 2,5 ou de 15 minutes entraîne une augmentation de la teneur du plasma en ACTH chez les femelles, mais non chez les mâles.

Une différence dans la sécrétion d'ACTH ne peut s'expliquer par une différence dans le contenu hypophysaire de cette hormone dans la mesure où les contenus en ACTH du lobe antérieur et du lobe neuro-intermédiaire du rat de 8 jours sont comparables dans les deux sexes (HARY, 1982). Elle pourrait avoir pour origine un rétro-contrôle négatif rapide des corticostéroïdes sur la sécrétion d'ACTH moindre chez les nouveau-nés femelles que chez les mâles si des stéroïdes surrénaliens se trouvent à l'état libre dans le sang à concentration plus faible chez les premiers que chez les seconds ou bien si la sensibilité du système nerveux central et/ou de l'hypophyse au feed-back négatif des glucocorticoïdes est plus faible chez la femelle que chez le mâle. A l'appui de la première hypothèse, on peut rappeler qu'il faut un rythme plus élevé d'augmentation de la corticostérone plasmatique chez la femelle adulte que chez le mâle pour avoir un même effet inhibiteur sur la sécrétion d'ACTH lors d'une laparotomie, probablement à cause d'une plus grande richesse du plasma en CBG et d'une plus faible fraction libre de ce corticostéroïde chez la première (ABE et CRITCHLOW, 1977; KELLER-WOOD et DALLMAN, 1984). Une influence liée au sexe a été suggérée pour le rétro-contrôle négatif rapide (plus important chez le mâle) de la corticostérone sur la sécrétion d'ACTH lors d'un stress chez le rat adulte (LE MEVEL et coll. 1978). L'âge auquel apparait une différence pour la CBG entre mâle et femelle n'a pas, à notre connaissance, été précisé .

Il faut cependant noter que l'influence éventuelle des hormones sexuelles sur la fonction corticotrope de l'hypophyse ne semble pas avoir été recherchée chez le rat nouveau-né.

En conclusion, chez le rat nouveau-né de 8 jours, le complexe hypothalamo-hypophysaire est stimuable par un stress tel que l'inhalation d'éther et la réponse de l'hypophyse dépend du sexe des animaux. La cinétique de la réponse à ce stress pourrait donc être influencée par les hormones sexuelles.

**4 ROLE DES HORMONES SEXUELLES SUR LA SECRETION
D'ACTH**

"IN VIVO " LORS DU STRESS A L'ETHER, ET "IN VITRO "

4 Rôle des hormones sexuelles sur la sécrétion d'ACTH "in vivo " lors du stress à l'éther, et "in vitro "

4-1 Introduction

Chez le rat de 8 jours la réponse hypophysaire au stress à l'éther dépend du sexe. L'augmentation du taux d'ACTH plasmatique est plus prolongée chez les animaux femelles que chez les mâles alors que les contenus en ACTH du lobe antérieur et du lobe neuro-intermédiaire sont comparables dans les deux sexes à cet âge.

Chez le rat adulte, à la suite d'un stress, les augmentations des taux sanguins de l'ACTH (BARRETT et coll. 1957; LE MEVEL et coll. 1978; 1979; 1982) et de la corticostérone (KITAY 1961; LESCOAT et coll. 1970; GRAY, 1971; LE MEVEL et coll. 1978; 1979) sont plus importantes chez la femelle que chez le mâle. Les concentrations d'ACTH dans les lobes antérieur et neuro-intermédiaire sont plus élevées chez les mâles que chez les femelles adultes (BÉRAUD 1977). Cette différence apparaît à la puberté (entre 30 et 45 jours) pour le lobe antérieur et plus tardivement (vers l'âge de 60 jours) pour le lobe neuro-intermédiaire (BÉRAUD 1977). Ce n'est donc pas un moindre contenu hypophysaire en ACTH qui peut expliquer chez le mâle une sécrétion d'ACTH moins élevée lors d'un stress.

La sécrétion d'ACTH induite par un stress à l'éther est diminuée par l'ovariectomie COYNE et KITAY, 1969) et augmentée par l'orchidectomie (COYNE et KITAY, 1971) (dans les deux cas la castration est réalisée au moins 6 semaines plus tôt, les animaux étant alors âgés de 23 jours); ces effets sont abolis par administration respective d'oestradiol et de testostérone aux animaux castrés. La castration chez l'adulte diminue l'amplitude de la sécrétion de corticostérone provoquée par un stress émotionnel chez la femelle mais non chez le mâle (LESCOAT et coll. 1971). La castration à la naissance induit une réponse surrénalienne de type femelle chez le mâle orchidectomisé dès l'âge de 30 jours et de type mâle chez la femelle ovariectomisée, à partir de l'âge de 50 jours (MANIEY et coll. 1975). La castration pratiquée à la naissance chez des rats mâles induit également une plus forte sécrétion d'ACTH lors d'un stress neurotrope réalisé lorsque les animaux sont âgés de 60 jours (LESCOAT, 1981; 1984). Par ailleurs, des implants d'oestradiol dans l'hypothalamus de rats mâles augmentent la sécrétion de corticostéroïdes (TELEGDY et coll. 1964). La castration à l'âge adulte diminue, 30 jours plus tard, le contenu hypophysaire en ACTH du lobe antérieur et du lobe neuro-intermédiaire des mâles, alors qu'elle n'affecte pas le contenu en ACTH du lobe antérieur des femelles mais augmente celui du lobe neuro-intermédiaire (KRAICER et coll.

1977). Ces effets des hormones sexuelles sur la sécrétion de l'ACTH hypophysaire peuvent expliquer, en partie tout au moins, pourquoi l'élévation de la corticostéronémie induite par un stress est plus importante chez la femelle que chez le mâle.

De plus des variations du potentiel en hormones sexuelles chez l'adulte ont des effets sur les cellules corticotropes de l'adénohypophyse. L'orchidectomie induit une diminution de la densité et du nombre des cellules ACTH-immunoréactives; cet effet est aboli par l'administration de testostérone; de son côté l'ovariectomie diminue plus faiblement le nombre mais n'affecte pas la densité des cellules corticotropes (MALENDOWICZ et coll.1987). Selon ces mêmes auteurs, l'administration d'oestradiol aux femelles castrées augmente très fortement le nombre des cellules immunoréactives qui peuvent devenir plus abondantes que chez des femelles intactes.

Les variations de la sécrétion d'ACTH après gonadectomie pourraient être liées, en partie tout au moins, à des modifications de la sensibilité de l'hypophyse au CRF hypothalamique aussi bien à l'état basal qu'au cours d'une stimulation. En effet, les hormones sexuelles sont capables d'induire une modification de la sécrétion, *in vitro*, d'ACTH par des cellules isolées ou des fragments de lobe antérieur d'hypophyse. Ainsi l'hypophyse de femelle ovariectomisée a une capacité de sécrétion basale d'ACTH réduite qui peut être restaurée par des injections d'oestradiol après l'opération (SPINEDI et coll. 1988 a). La progestérone ($2,5 \cdot 10^{-7}$ mmol/l) réduit chez l'adulte mâle la sécrétion d'ACTH induite par des extraits hypothalamiques (BUCKINGHAM, 1982).

La testostérone est présente dans l'hypophyse adulte en quantité 10 fois plus importante chez les mâles que chez les femelles (MOREL et coll. 1984) et une influence directe des hormones sexuelles sur la sécrétion d'ACTH est d'autant plus envisageable que des sites récepteurs à des hormones sexuelles ont été mis en évidence chez l'adulte dans l'hypophyse. Certains fixent spécifiquement les oestrogènes dans le lobe antérieur de la femelle (SMANIK et coll. 1983; BRESSION et coll. 1986), les androgènes dans les hypophyses de mâles et de femelles (HANDA et coll. 1986), et la progestérone dans les hypophyses de rats des deux sexes (BOGIC et coll. 1988). Pour ce dernier groupe d'auteurs un traitement *in vivo* par l'oestradiol induit une augmentation du nombre de récepteurs à la progestérone. Néanmoins, compte tenu de l'hétérogénéité de la population cellulaire de l'hypophyse, ces sites de liaisons peuvent être localisés sur des cellules autres que corticotropes ou pas seulement corticotropes. Il n'y a pas à notre connaissance de preuve immunocytologique de l'association de ces récepteurs hormonaux aux cellules corticotropes.

Des récepteurs aux androgènes et aux œstrogènes sont également présents dans l'hypothalamus d'animaux mâles et femelles (RAINBOW et coll. 1982; SMANIK et coll. 1983; HANDA et coll. 1986; BOGIC et coll. 1988) et leur intervention dans le contrôle hypothalamique du fonctionnement hypophysaire pourrait être envisagé.

Chez le rat mâle la naissance s'accompagne d'une augmentation très rapide mais transitoire des taux sériques de LH (ROFFI et coll. 1977; CORBIER et coll. 1978; SLOB et coll. 1980) puis d'un accroissement des taux sanguins de testostérone (CORBIER et coll. 1978 ; PANG et coll. 1979 ; SLOB et coll. 1980; CORBIER et coll. 1981) et du poids des testicules (ROFFI et coll. 1977). Ces phénomènes se déroulent au cours des 2 à 4 premières heures de la vie extra-utérine. L'élévation de la concentration sérique de testostérone s'accompagne d'une augmentation parallèle des contenus de l'hypothalamus en testostérone (CORBIER et coll. 1981) et en oestradiol (RHODA et coll. 1983). L'orchidectomie à la naissance abolit cette augmentation postnatale du contenu de l'hypothalamus en testostérone et œstradiol (RHODA et coll. 1984). Au cours des premières heures de la vie post-natale, les variations des taux sériques et hypothalamiques de ces hormones sexuelles sont absentes chez le nouveau-né femelle (CORBIER et coll. 1981; RHODA et coll. 1983). Une activité aromatasase hypothalamique est présente dès le dix-septième jour de vie intra-utérine (GEORGE et OJEDA, 1982; WEISZ et coll. 1982); elle est bien développée chez les foetus mâles et femelles de 21 jours et chez les nouveau-nés de 1 jour (REDDY et coll. 1974); cette activité . Ainsi une aromatisation de la testostérone en oestradiol est susceptible de se produire dans l'hypothalamus du rat nouveau-né. A l'appui de cette hypothèse on peut signaler que l'injection de testostérone à des rats nouveau-nés femelles entraîne une apparition d'oestradiol dans l'hypothalamus (LIEBERBURG et MAC EWEN, 1975) analogue à celle observée naturellement chez le mâle après la naissance.

Vingt-quatre heures après la naissance une nouvelle augmentation des taux plasmatiques de testostérone est observée chez le nouveau-né mâle (SLOB et coll. 1980; ANDERSON et coll. 1982) associée à une augmentation plasmatique des taux de LH dans les deux sexes (SLOB et coll. 1980); cette dernière est vraisemblablement induite par l'ingestion de LH-RH présente dans le lait maternel (ANDERSON et coll. 1982). Pendant les 5 premiers jours de la vie extra-utérine, la testostéronémie est environ 3 fois plus élevée chez les mâles que chez les femelles alors que les taux d'oestrogènes circulants sont semblables dans les deux sexes (PANG et coll. 1979).

Pour déterminer si les hormones sexuelles peuvent avoir, au début de la période post-natale, une influence directe sur la sécrétion d'ACTH par l'hypophyse ou sur les voies neuro-endocriniennes impliquées dans la réponse hypophysaire au stress à l'éther, nous avons étudié :

- *in vitro*, les effets de la testostérone et de l'oestradiol sur la sécrétion de l'ACTH à l'état basal, ou sur celle induite par du CRF en utilisant le lobe antérieur de l'hypophyse prélevé sur des animaux mâles et femelles de 8 jours.
- *in vivo*, les réponses hypophysaires et surrénaliennes à l'inhalation d'éther, à l'âge de 8 jours
 - chez des animaux mâles nés par césarienne à terme et ensuite immédiatement castrés,
 - chez des animaux femelles qui ont reçu une injection de testostérone immédiatement après la naissance.

4-2 Protocoles expérimentaux

4-2-1 Détermination des taux plasmatiques de testostérone et d'oestradiol par dosages radioimmunologiques

Des rats de 8 jours sont sacrifiés immédiatement après avoir été retirés de leur cage. Les prélèvements sanguins sont effectués en vue du dosage de la testostérone chez les mâles et de l'oestradiol chez les femelles. (Cf. chapitre 2 pour les caractéristiques des dosages).

4-2-2 Incubation du lobe antérieur de l'hypophyse de rat de 8 jours avec de la testostérone et de l'oestradiol

Des adénohypophyses d'animaux de 8 jours, mâles ou femelles, sont incubées en présence de testostérone (1,73 - 3,47 - 10,41 nmol/l) ou d'oestradiol (0,36 - 0,73 - 1,46 nmol/l). D'autres lobes antérieurs de mâles et de femelles sont incubés en présence de CRF de rat (0,4 nmol/l) associée à de la testostérone (3,47 nmol/l) ou de l'oestradiol (0,73 nmol/l) (Cf. chapitre 2 pour les conditions d'incubation).

4-2-3 Effet de la température sur l'évolution de la testostérone plasmatique des nouveau-nés mâles à la naissance

Les nouveau-nés à terme sont prélevés in utéro par césarienne au 22e jour de gestation. Les mâles sont alors immédiatement sacrifiés, ou bien placés à 2° C (sacrifice 10 et 30 minutes plus tard), ou à 25° C (sacrifice 10, 30, 40, 60 minutes plus tard), ou à 25° C pendant 30 minutes puis à 2°C ensuite (sacrifice 40 et 60 minutes après la naissance, soit 10 et 30 minutes après la période d'exposition au froid).

4-2-4 Castration bilatérale des nouveau-nés mâles délivrés par césarienne

Des fœtus mâles à terme prélevés in utéro par césarienne sont immédiatement castrés ou pseudo-castrés sous anesthésie par le froid à 2° C. La castration, ou la pseudo-castration, est réalisée dans les 30 minutes qui suivent la naissance. Après cette opération les animaux sont réchauffés et confiés à une mère nourricière à qui on vient d'enlever ses propres nouveau-nés. L'acceptation par la nourrice de nouveau-nés étrangers et opérés n' a lieu avec succès que si ces derniers ont le même âge que les nouveau-nés écartés et si on prend un soin particulier pour occluser à l'aide d'un pansement microporeux de type "Micropore" les signes extérieurs de l'intervention chirurgicale.

4-2-5 Injection de testostérone aux nouveau-nés femelles

Les nouveau-nés femelles prélevés par césarienne *in utéro*, reçoivent une injection d'heptylate de testostérone, (Laboratoires THÉRAMEX, MONACO) (1 mg, par voie sous cutanée) en solution dans de l'huile d'olive. D'autres nouveau-nés femelles témoins reçoivent le même volume de solvant. Les injections sont réalisées dans les 5 minutes qui suivent la naissance; ces femelles sont ensuite mises avec une mère nourricière comme, précédemment, les mâles opérés.

4-2-6 Stress à l'éther et prélèvements

Les nouveau-nés mâles (castrés ou pseudo-castrés) et femelles (injectées de testostérone ou d'huile d'olive) ainsi que des animaux des deux sexes nés normalement à terme, sont soumis à l'âge de 8 jours à une inhalation d'éther pendant 2 minutes. Les animaux sont sacrifiés soit juste avant l'exposition aux vapeurs d'éther, soit 0 et 30 minutes après la fin de cette inhalation.

Du sang est collecté après section des carotides pour le dosage ultérieur de l'ACTH. Les animaux sont alors pesés. Les surrénales sont prélevées, pesées, puis congelées en prévision d'un dosage ultérieur de leur contenu en corticostérone.

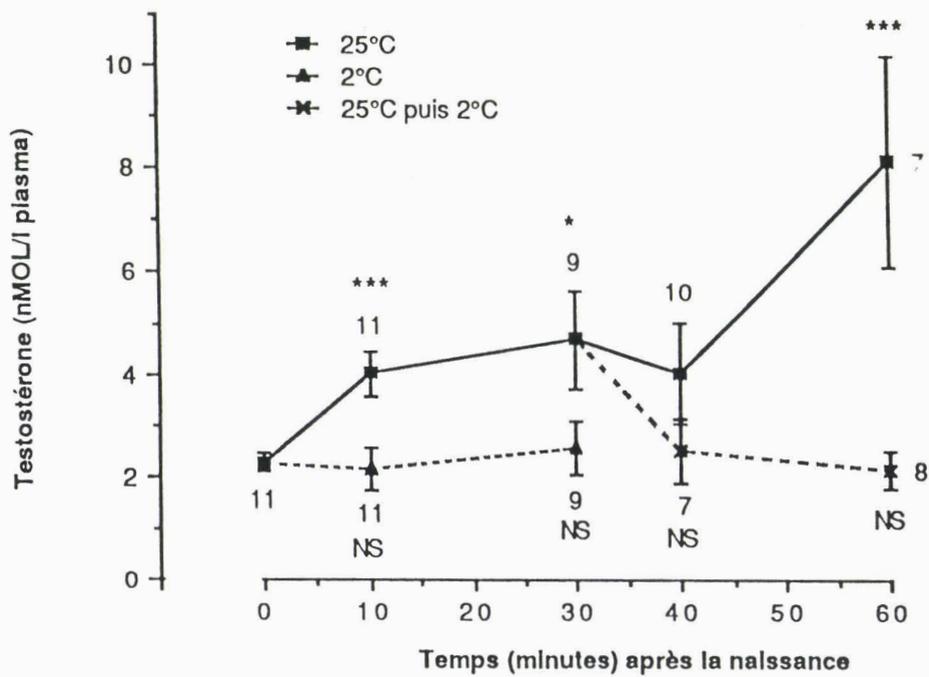


Figure 2: Effet de la température du milieu ambiant sur l'évolution postnatale du taux plasmatique de testostérone chez des rats mâles nés par césarienne à terme.

Moyennes \pm e.s.m.

Comparaisons vs temps 0

NS
p>0,05

*
p<0,05

p<0,001

4-3 Résultats

4-3-1 Taux de testostérone et d'oestradiol chez les nouveau-nés de 8 jours

Le taux plasmatique de testostérone relevé chez 12 mâles s'établit en moyenne à $1,70 \pm 0,41$ nmol/l. Chez 12 femelles de même âge le taux plasmatique moyen d'oestradiol est de $0,0288 \pm 0,0036$ nmol/l .

4-3-2 Sécrétion, *in vitro*, d'ACTH par le lobe antérieur d'hypophyse de rat de 8 jours en présence de testostérone ou d'oestradiol

La libération spontanée d'ACTH par les lobes antérieurs des animaux mâles et femelles n'est pas modifiée par l'adjonction de testostérone (1,73 - 3,47 ou 10,41 nmol/l), ni par celle d'oestradiol (0,36 - 0,73 ou 1,46 nmol/l) au milieu d'incubation (Tableau I).

La sécrétion d'ACTH induite par le CRF de rat (0,4 nmol/l) n'est pas significativement modifiée par la testostérone (3,47 nmol) ou l'oestradiol (0,73 nmol) ajoutés respectivement au milieu d'incubation de lobes antérieurs d'hypophyses de nouveau-nés mâles et femelles (Tableau I).

4-3-3 Effets de la température du milieu ambiant sur l'évolution postnatale de la testostérone plasmatique du nouveau-né mâle

Une rapide augmentation du taux plasmatique de testostérone est observée après la naissance par césarienne chez les nouveau-nés mâles placés à 25° C (Figure 2); par contre cette augmentation n'apparaît pas lorsqu'ils sont placés à 2° C (Figure 2). La testostérone plasmatique, qui a commencé à augmenter chez les animaux placés à 25° pendant la première 1/2 heure après la naissance, diminue rapidement dès qu'ils sont placés à 2° C ; les taux observés sont alors comparables à ceux relevés chez les animaux placés au froid dès leur naissance (Figure 2).

Tableau I

Sécrétion d'ACTH (fmol/lobe antérieur/heure) par l'adénohypophyse de rat mâle (M) et femelle (F) de 8 jours au cours de la première (A) et de la seconde (B) heure d'incubation en présence de CRF de rat et d'hormones sexuelles.

	MA	MB	FA	FB
Solvant	93,1±15,4 [18]	99,5±18,9 [18]	96,5±7,3 [15]	96,0±12,8 [16]
Testostérone				
1,73 nmol/l	113,2±15,6 [10]	101,7±13,0 [13]	103,9±24,4 [10]	78,4±12,8 [8]
3,47 nmol/l	96,5±10,8 [11]	88,1±11,0 [10]	113,0±13,9 [9]	86,8±17,6 [9]
10,41 nmol/l	112,3±19,6 [9]	107,5±21,6 [11]	98,2±13,7 [10]	99,3±23,6 [9]
Oestradiol				
0,36 nmol/l	98,4±15,0 [9]	74,9±13,0 [5]	103,5±12,1 [11]	107,0±12,6 [8]
0,73 nmol/l	116,0±17,8 [10]	95,6±26,9 [6]	100,0±10,1 [9]	98,4±14,1 [10]
1,46 nmol/l	97,6±12,3 [13]	81,5±13,7 [7]	96,5±8,6 [12]	96,9±14,1 [10]
rCRF				
0,4 nmol/l	219,8±28,0 [9]	236,5±27,3 [10]	246,4±40,1 [10]	265,7±23,1 [11]
rCRF + Testo.				
0,3 + 3,47 nmol/l	187,4±24,9 [11]	223,5±31,9 [11]		
rCRF + oest.				
0,3 + 0,73 nmol/l			245,1±13,9 [8]	250,6±19,4 [8]

moyennes ± e.s.m.

[] nombre de cas

Tous les résultats des incubations avec testostérone ou oestradiol ne sont pas significativement différents de ceux observés avec solvant ($p > 0,05$).

Tous les résultats des incubations avec du CRF de rat (r CRF) associé à la testostérone ou à l'oestradiol ne sont pas significativement différents de ceux observés avec le rCRF seul ($p > 0,05$).

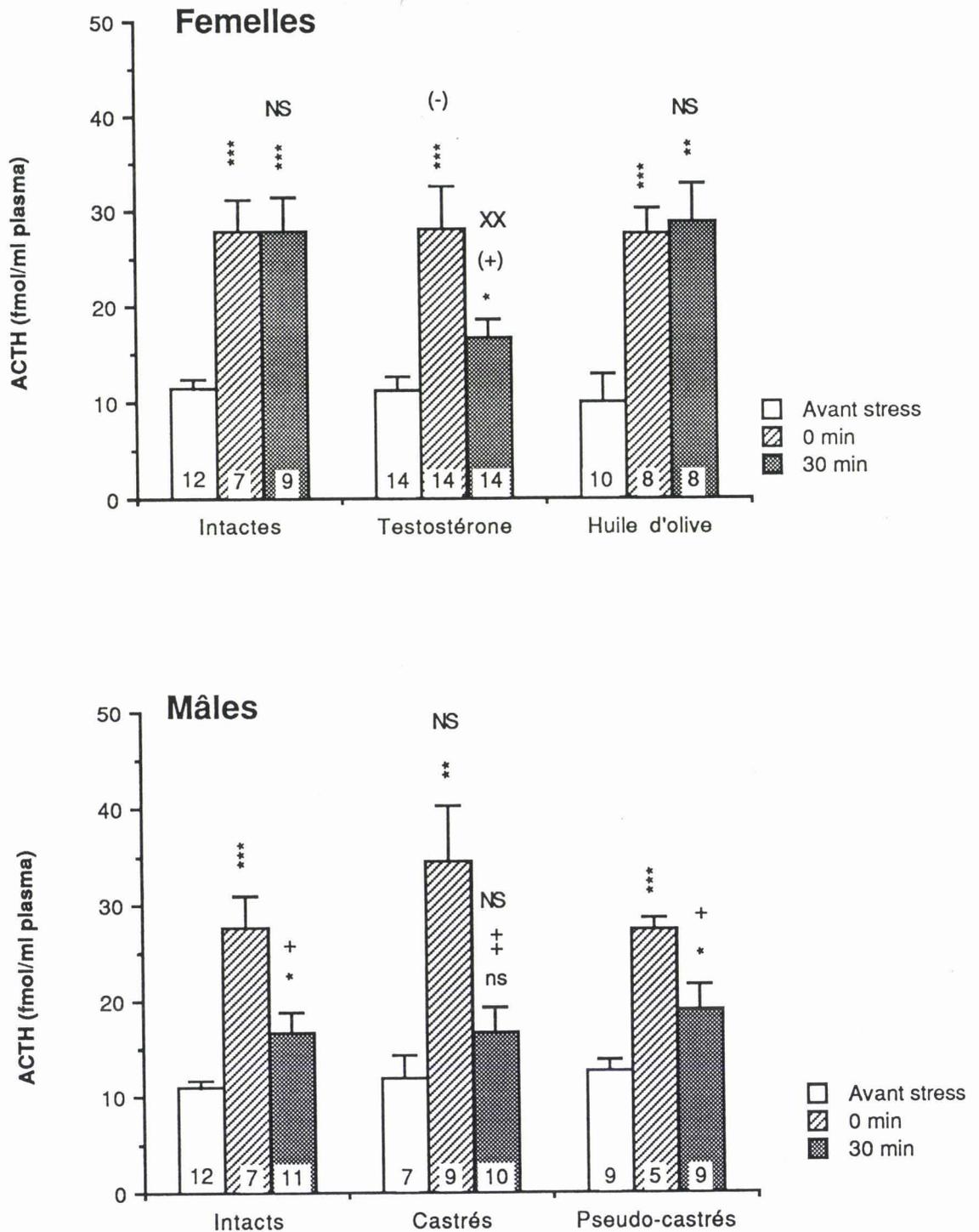


Figure 3: ACTH plasmatique chez des rats de 8 jours avant ou 0 et 30 minutes après la fin d'un stress à l'éther de 2 minutes.

- Tracé du haut: femelles intactes ou injectées de testostérone ou d'huile d'olive à la naissance
 - Tracé du bas: mâles intacts, castrés ou pseudo-castrés à la naissance
- Moyennes ± e.s.m.

Comparaisons	p>0,05	p<0,05	p<0,01	p<0,001
vs Avant stress	ns	*	**	***
vs Temps 0 après stress	NS	+	++	
vs intact(e)s et vs huile d'olive ou pseudo-castration	(-)		xx	

4-3-4 Effet de la castration (chez le mâle) ou de l'injection de testostérone (chez la femelle) à la naissance sur la réponse au stress à l'éther à l'âge de 8 jours

Le poids corporel des animaux castrés à la naissance est significativement plus faible que celui des animaux pseudo-castrés ou intacts. Le poids des surrénales est par contre comparable dans les trois groupes expérimentaux. Les nouveau-nés femelles ayant reçu de la testostérone ou de l'huile d'olive ont des surrénales dont le poids est généralement plus faible que celui relevé pour les animaux intacts (Tableau II).

Avant le stress à l'éther le contenu en corticostérone des surrénales des mâles, castrés ou pseudo-castrés et des femelles, injectées de testostérone ou d'huile d'olive, est plus faible que chez les animaux intacts correspondants. Cependant la différence n'est significative que pour les mâles (Tableau II).

Chez tous les animaux une augmentation du contenu surrénalien en corticostérone est observée 30 minutes après l'inhalation d'éther ; cette augmentation est plus importante chez les femelles intactes ou ayant reçu de l'huile d'olive que chez les femelles injectées de testostérone ou que chez les mâles (Tableau II).

A la fin d'une exposition à des vapeurs d'éther pendant 2 minutes, le taux plasmatique d'ACTH est augmenté de façon semblable chez les mâles et chez les femelles de 8 jours (Figure 3) par comparaison aux valeurs observées juste avant le stress ; 30 minutes plus tard, le taux d'ACTH est diminué chez les mâles, mais non chez les femelles (Figure 3).

L'injection d'huile d'olive à des animaux femelles ou la pseudo-castration des mâles à la naissance ne modifie pas à l'âge de 8 jours la sécrétion d'ACTH induite par l'exposition aux vapeurs d'éther, que ce soit immédiatement après ou 30 minutes plus tard, comparativement à ce qui est observé chez des animaux intacts de même sexe (Figure 3).

Chez les mâles castrés à la naissance la réponse au stress à l'éther est semblable à celle des animaux intacts ou pseudo-castrés (Figure 3).

L'injection de testostérone à la naissance à des nouveau-nés femelles modifie la réponse au stress à l'éther observée à l'âge de 8 jours. Le taux d'ACTH mesuré 30 minutes après la fin du stress est alors significativement plus faible que celui mesuré chez les femelles témoins ou injectées d'huile d'olive; il est comparable à celui observé au même moment chez les mâles (Figure 3).

Tableau II

Poids corporel, poids des surrénales et contenu des surrénales en corticostérone chez des rats de 8 jours mâles et femelles, après exposition à des vapeurs d'éther pendant 2 minutes (de - 2 à 0)

	Temps (min.)	MALES			FEMELLES		
		Intacts	Castrés	Pseudocastrés	Intactes	Testostérone	Huile d'olive
Poids corporel (g)	-2	16.29 ±0.60 [14]	11.43±1.59 [7] **	16.32±0.96 [6] ns	15.43±0.54 [10]	15.02±0.43 [16] ns	14.82±0.75 [10] ns
	0	17.55±0.64 [11] NS	11.76±1.65 [7] ** NS	16.00±0.85 [6] ns NS	16.61±1.09 [8] NS	15.31±0.37 [17] ns NS	15.10±0.62 [10] ns NS
	30	17.28±0.81 [10] NS	13.28±1.18 [10] * NS	15.72±1.02 [7] ns NS	16.70±0.67 [10] NS	14.61±0.40 [14] ** NS	14.80±0.68 [10] ns NS
Poids (mg) Surrénales	-2	3.75±0.20 [14]	3.34±0.43 [7] ns	3.67±0.36 [6] ns	3.74±0.16 [10]	2.94±0.21 [12] **	3.26±0.27 [10] ns
	0	4.14±0.32 [11] NS	3.26±0.27 [8] ns NS	3.86±0.30 [7] ns NS	3.94±0.24 [7] NS	2.93±0.15 [16] ** NS	3.08±0.27 [10] * NS
	30	3.65±0.28 [10] NS	3.16±0.19 [10] ns NS	3.32±0.29 [7] ns NS	4.14±0.14 [8] NS	2.77±0.15 [14] *** NS	3.10±0.19 [10] *** NS
Corticostérone surrénalienne (µg/g)	-2	11.41±1.43 [11]	6.68±1.24 [7] *	5.84±0.33 [6] *	10.95±1.91 [9]	7.44±1.00 [11] ns	8.57±0.83 [9] ns
	0	13.42±2.55 [7] NS	5.83±0.99 [5] * NS	6.24±1.50 [7] * NS	13.00±1.14 [9] NS	5.06±0.88 [15] *** NS	7.56±1.09 [7] ** NS
	30	15.32±1.82 [8] NS	9.46±1.08 [10] * NS	11.39±1.20 [6] ns §§	17.72±2.18 [8] §	8.76±0.95 [13] *** NS	15.12±2.22 [6] ns §§

moyennes ± e.s.m.

[] nombre de cas

Comparaisons

vs intacts

vs avant stress (temps - 2 minutes)

p > 0,05

ns

NS

p < 0,05

*

§

p < 0,01

**

§§

p > 0,001

4-4 Discussion

Le taux plasmatique de testostérone relevé chez les mâles de 8 jours, de l'ordre de 1 à 2 nmol/l, est comparable à celui observé chez des rats de 5, 7 ou 10 jours (PANG et coll. 1979 ; WEISZ et WARD, 1980 ; ANDERSON et coll. 1982). L'estimation d'un taux d'hormones sexuelles femelles est plus difficile car elle concerne potentiellement plusieurs molécules (pour le moins oestradiol, oestrone, progestérone) et peut être influencée par la spécificité du dosage. Le taux d'oestradiol, 0,03 nmol/l, que nous avons mesuré chez les femelles de 8 jours est plus faible que celui relevé par PANG et coll. (1979), 0,3 nmol/l (oestradiol + oestrone). Chez des femelles de 5 - 10 jours le taux plasmatique de progestérone est de l'ordre de 2 nmol/l (WEISZ et WARD, 1980). La technique de dosage utilisée ici est très spécifique de l'oestradiol et ne prend probablement pas en compte tout le potentiel oestrogénique des animaux femelles.

La sécrétion basale d'ACTH *in vitro* par l'hypophyse mâle ou femelle de rat de 8 jours n'est pas affectée par des hormones sexuelles (testostérone, oestradiol) présentes à des concentrations physiologiques dans le milieu d'incubation. De plus, la réponse de l'hypophyse antérieure à une stimulation par le CRF n'est pas modifiée par la testostérone chez le mâle ou l'oestradiol chez la femelle. Ces résultats permettent d'exclure une influence directe des hormones sexuelles (testostérone, oestradiol) sur la fonction corticotrope de l'hypophyse antérieure du rat nouveau-né de 8 jours. Récemment SPINEDI et coll. (1988 a) ont rapporté l'absence d'effet, *in vitro*, de l'oestradiol (0,1 à 10 nmol/l) sur la sécrétion basale d'ACTH par des cellules du lobe antérieur de l'hypophyse de rat adulte des deux sexes. Par ailleurs l'oestradiol, l'oestriol, l'oestrone (1 $\mu\text{mol/l}$) ou la testostérone, l'androstérone, l'androsténone (0,2 $\mu\text{mol/l}$), utilisées à des concentrations bien supérieures aux nôtres, ne modifient pas la capacité de l'adénohypophyse de rat adulte à sécréter de l'ACTH en présence d'extraits hypothalamiques (BUCKINGHAM, 1982).

L'augmentation du taux de testostérone plasmatique chez le nouveau-né mâle pendant les premières minutes qui suivent la naissance est conforme aux observations antérieures (CORBIER et coll. 1978, 1981 ; PANG et coll. 1979 ; SLOB et coll. 1980). Nos résultats montrent clairement que cette augmentation des concentrations plasmatiques de testostérone peut être empêchée en mettant le nouveau-né dans un environnement à basse température. L'augmentation observée chez des animaux laissés 30 min à 25° peut être stoppée par un brutal refroidissement corporel. Une diminution modérée de la température aux environs de 18 °C suffit également à bloquer l'élévation postnatale de la testostéronémie (ROFFI et coll. 1985). Selon ces derniers auteurs, l'augmentation de la testostérone sérique n'est pas

empêchée par le maintien des animaux à l'obscurité pendant la parturition et les heures qui suivent. Ces données montrent que l'augmentation du taux plasmatique de testostérone à la naissance est un événement thermo-dépendant, mais pas photo-dépendant (ROFFI et coll. 1985).

L'anesthésie par le froid prévient donc ce phénomène chez les animaux soumis à une castration à la naissance et doit donc le suspendre provisoirement chez les animaux soumis à une pseudo-castration. La conséquence hormonale de la castration néonatale est l'absence d'une rapide et importante augmentation des concentrations de testostérone à la fois dans le sérum et dans l'hypothalamus telles qu'on peut les observer chez les animaux indemnes (CORBIER et coll. 1981).

Alors qu'aucune différence concernant le poids corporel n'est observée entre les animaux mâles et femelles ou entre les femelles intactes et la grande majorité des femelles ayant reçu une injection de testostérone ou de solvant (huile d'olive), la diminution du poids corporel observée chez les rats mâles de 8 jours pourrait ne pas être due uniquement à l'absence de testostérone mais également, ou peut-être exclusivement, au traumatisme induit par l'acte chirurgical. En effet la castration est une opération relativement plus longue que la pseudo-castration et l'alimentation des animaux traités peut être fortement réduite durant les premières heures qui suivent l'opération. Nous avons remarqué que la mère nourricière semble moins se préoccuper des animaux opérés que des animaux intacts. La diminution du poids des surrénales observée chez les femelles traitées à la testostérone, aussi bien que chez la plupart de celles qui ont reçu de l'huile d'olive est assez surprenante. L'origine de cette diminution n'est probablement pas imputable à un effet sur la fonction corticotrope de l'hypophyse puisque le taux basal d'ACTH plasmatique avant l'exposition aux vapeurs d'éther n'est pas significativement différent de celui observé dans les autres groupes expérimentaux.

Le fait que la surrénale des animaux mâles castrés ou pseudo-castrés contienne moins de corticostérone que les animaux témoins n'est pas davantage compréhensible. Il faudrait y voir peut être les conséquences de la manipulation des animaux, en particulier leur maintien à une basse température proche de 0° C qui pourrait altérer le développement surrénalien néonatal.

L'augmentation du contenu surrénalien en corticostérone observée après l'inhalation d'éther est plus importante chez les animaux femelles intacts ou ayant reçu de l'huile d'olive que chez ceux qui ont reçu de la testostérone ou que chez les mâles. La réponse surrénalienne plus élevée chez ces femelles pourrait être liée au maintien d'un taux d'ACTH plasmatique élevé dans ces groupes expérimentaux; par contre, chez les femelles ayant reçu la

testostérone, aussi bien que chez les mâles, la réponse plus faible au niveau surrénalien pourrait être liée au fait que l'augmentation des taux d'ACTH plasmatique n'est que transitoire dans ces groupes.

La suppression de production endogène de testostérone chez des animaux mâles dans les minutes qui suivent la naissance ne modifie pas au 8e jour post-natal le taux basal d'ACTH sanguin et son évolution temporelle en réponse à l'inhalation d'éther. Par contre le traitement des femelles par la testostérone au moment de la naissance leur confère au 8e jour post-partum une réponse de type mâle à ce genre de stress.

Ces résultats suggèrent l'existence chez le mâle d'une différenciation prénatale des structures neuro-endocrines sensibles aux androgènes et impliquées dans le contrôle de la libération d'ACTH lors du stress à l'éther. Chez le nouveau-né femelle une administration unique de testostérone à la naissance est capable de "masculiniser" ou "déféminiser" les voies endocrines impliquées dans la libération d'ACTH lors d'une inhalation d'éther. La sensibilité de ces structures aux androgènes pourrait être observée sur toute une période périnatale dont la durée reste à déterminer.

La synthèse d'androgènes par le testicule du foetus de rat croît progressivement du 15e au 19e jour de gestation (NOUMURA et coll. 1966 ; HABERT et PICON, 1984). A ce stade le contenu des testicules en testostérone (WARREN et coll. 1973) et la sécrétion de testostérone *in vitro* (PICON 1976 ; WARREN et coll. 1975) atteignent un maximum. Chez le mâle *in vivo* le taux plasmatique de la testostérone est maximal à 18 ou 19 jours de gestation (WEISZ et WARD, 1980; LALAU et coll. 1990). A terme, il est plus élevé chez le mâle que chez la femelle (TURKELSON et coll. 1977). Ce pic transitoire de testostérone plasmatique observé chez le mâle pendant la vie foetale pourrait jouer un rôle important dans la différenciation des voies neuroendocriniennes impliquées dans la réponse hypophysaire au stress à l'éther. La "masculinisation" ou "déféminisation" de ces voies peut être induite à la naissance par administration de testostérone à la femelle. Ce traitement induit également chez la femelle de rongeur des altérations permanentes de la structure du système nerveux central et perturbe la fonction de reproduction (revue in ARNOLD et GORSKI 1984). L'action des androgènes s'exerce au niveau central; elle implique l'aromatisation des androgènes en oestrogènes (revue in ARNOLD et GORSKI, 1984).

L'augmentation du contenu de l'hypothalamus en oestradiol est parallèle à celle de la testostérone plasmatique chez le nouveau-né mâle au tout début de la période post-natale

(RHODA et coll. 1983). Cependant l'aromatation centrale des androgènes dans l'hypothalamus (RAYNAUD et coll. 1971 ; REDDY et coll. 1974) aussi bien que dans le système limbique (REDDY et coll. 1974) du fœtus mâle à terme apparaît avant la naissance. L'activité aromatasase dans le système limbique du fœtus mâle de 21 jours est faible comme celle de l'adulte mais elle augmente au cours des 5 premiers jours postpartum avant de diminuer pour atteindre le niveau observé chez l'adulte. Ces fluctuations de l'activité aromatasase pourraient être impliquées dans la différenciation prénatale androgéno-dépendante des voies neuro-endocriniennes mises en jeu pour la libération d'ACTH chez les mâles en réponse à une inhalation d'éther.

Par contre, chez le fœtus femelle de 21 jours, l'activité aromatasase du système limbique n'est pas détectable après la naissance; cette activité est comparable à celle observée chez l'adulte (REDDY et coll. 1974; NAFTOLIN et coll. 1975). Toutefois une activité aromatasase hypothalamique est présente chez le fœtus femelle à terme (NAFTOLIN et coll. 1975; REDDY et coll. 1974). La testostéronémie chez les femelles étant très inférieure à celle des mâles, la conversion de testostérone en oestradiol doit être bien plus faible chez les premières que chez ces derniers.

Ces observations plaident en faveur de l'existence de structures androgéno-sensibles dans le cerveau des rats femelles, aussi bien à la fin de la gestation qu'au tout début de la vie post-natale.

L'effet "masculinisant" ou "défeminisant" de la testostérone pourrait résulter de son aromatisation puisque l'administration d'oestradiol à la naissance à des nouveau-nés femelles leur confère, à l'âge de 30 jours, une réponse hypophysaire à l'inhalation d'éther de type mâle (DUPOUY et coll. 1987). La localisation de cet effet pourrait être l'hypothalamus où coexistent chez l'adulte des récepteurs sensibles aux androgènes et aux oestrogènes (MORRIS, 1976; CHAMNESS et coll. 1979) et au niveau duquel l'activité aromatasase atteint un maximum au 19^e jour de gestation avant de décliner rapidement dans la 1^{ère} semaine de vie extra-utérine (GEORGE et OJEDA, 1982).

Les mécanismes par lesquels les hormones sexuelles influencent la réponse hypophysaire au stress à l'éther chez le rat de 8 jours sont déjà en place chez le mâle à la fin de la vie intra-utérine, puisque la castration à la naissance ne modifie pas cette réponse. Ces mécanismes peuvent être modifiés au moment de la naissance chez la femelle puisque l'administration d'une dose unique de testostérone ou d'oestradiol leur confèrera ultérieurement une réponse de type mâle.

**5 INFLUENCES ADRENERGIQUES ET SEROTONINERGIQUES
SUR LA SECRETION D' ACTH PAR L'HYPOPHYSE
DE RATS DE 8 JOURS, MALES ET FEMELLES,
" IN VIVO" LORS DU STRESS A L' ETHER ET "IN VITRO"**

**5 Influences adrénérgiques et sérotoninergiques
sur la sécrétion d' ACTH par l'hypophyse
de rats de 8 jours, mâles et femelles
"in vivo" lors du stress à l' éther et "in vitro"**

5-1 Introduction

Parmi les causes potentielles de modification de la sécrétion d'ACTH chez le rat et chez d'autres espèces, l'influence de neuromédiateurs et particulièrement celle de la *noradrénaline* et de la *sérotonine* est fréquemment évoquée (revues in FULLER, 1981; TUOMISTO et MÄNNISTÖ, 1985; ANTONI, 1986 a; LABRIE et coll. 1987; PLOTSKY, 1987 a; JONES et GILLHAM, 1988; AL DAMLUJI, 1988).

L'influence du système adrénérgique sur l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien a fait l'objet de nombreuses investigations dont les résultats sont contradictoires. Bien que JONES et GILLHAM (1988) concluent à un effet inhibiteur de la *noradrénaline* sur la sécrétion d'ACTH, beaucoup d'auteurs lui attribuent un effet stimulant. Les études ont mis en œuvre des techniques expérimentales fort variées incluant essentiellement *in vivo*, l'utilisation de nombreux agents susceptibles de modifier l'activité adrénérgique (agonistes et antagonistes des récepteurs adrénérgiques, inhibiteurs enzymatiques...), la détermination de l'activité adrénérgique neuronale, la destruction de noyaux catécholaminérgiques et *in vitro*, la sécrétion par l'hypothalamus isolé de facteurs stimulant la sécrétion d'ACTH par l'hypophyse, ou la libération d'ACTH par l'hypophyse sous l'influence d'agonistes et/ou d'antagonistes des récepteurs adrénérgiques.

De nombreux auteurs rapportent des effets inhibiteurs adrénérgiques et/ou noradrénérgiques sur l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Ainsi *in vitro*, la *noradrénaline* réduit la sécrétion basale de CRF par l'hypothalamus isolé de rat (BUCKINGHAM et HODGES, 1977 ; SUDA et coll. 1987) et celle induite par la *sérotonine* (JONES et coll. 1976 ; BUCKINGHAM et HODGES, 1977) ou l'*acétylcholine* (HILLHOUSE et coll. 1975 ; JONES et coll. 1976 ; BUCKINGHAM et HODGES, 1977). Dans ce dernier cas l'effet inhibiteur de la *noradrénaline* est diminué après blocage des récepteurs α -adrénérgiques par la *phentolamine* * (HILLHOUSE et coll. 1975). L'effet inhibiteur de la

* Les agents pharmacologiques cités dans cette partie du mémoire sont regroupés par ordre alphabétique dans le tableau ci contre avec indication de leur principal effet pharmacologique.

noradrénaline sur la sécrétion de CRF par l'hypothalamus est complètement bloqué par le *propranolol*, β -adréno-lytique, et partiellement par la *phentolamine*, α -adréno-lytique (SUDA et coll. 1987).

Chez l'homme, une perfusion de *noradrénaline* diminue les taux sanguins d'ACTH et de corticostérone (WILCOX et coll. 1975) et la *guanfacine*, agoniste des récepteurs alpha-adrénergiques, réduit la sécrétion d'ACTH qui accompagne l'hypoglycémie insulinique (LANCRANJAN et coll. 1979). Chez le singe, par contre, une injection intra-veineuse de *clonidine*, stimulant des récepteurs alpha-adrénergiques, n'a pas d'effet sur la cortisonémie (CHAMBERS et BROWN, 1976). Chez le chien cette même substance, par voie intra-ventriculaire, inhibe la sécrétion de corticostéroïdes provoquée par une laparotomie (GANONG et coll. 1976) ; de même, par injection carotidienne, elle abaisse la teneur du plasma en ACTH (RUDOLPH et coll. 1980). Chez le rat, l'implantation de *noradrénaline* dans le noyau du raphé dorsal s'accompagne d'une diminution de la corticostéronémie (FEKETE et coll. 1978 a). Encore chez le rat la *clonidine*, par voie intraventriculaire, supprime l'augmentation de sécrétion de corticostérone induite par l'*alpha-méthyl-para-tyrosine*, inhibiteur de la tyrosine hydroxylase, donc de la synthèse des catécholamines; cet effet étant inhibé par la *yohimbine*, une action inhibitrice de type alpha-2 adrénérique est vraisemblable (ZACNY et BUGAJSKI, 1984).

Inversement une augmentation de la corticostéronémie est induite chez le rat après blocage des récepteurs alpha-adrénergiques par la *phentolamine* chez l'animal au repos (SCAPAGNINI et PREZIOSI, 1973), et par la *phénoxybenzamine* chez l'animal stressé à l'éther (EISENBERG, 1975) ; de plus, d'après ces auteurs, le *propranolol*, bloquant des récepteurs bêta-adrénergiques, administré seul est sans effet sur la corticostéronémie basale (SCAPAGNINI et PREZIOSI, 1973) ou sur son augmentation après un stress à l'éther (EISENBERG, 1975). Chez le rat, le taux d'ACTH plasmatique et l'activité CRF hypothalamique à l'état basal et lors d'un stress à l'éther sont augmentés en présence de *prazosine*, α_1 -bloquant adrénérique (BUCKINGHAM et COOPER, 1987). Par contre, la *phentolamine* n'empêche pas l'augmentation de sécrétion d'ACTH et de cortisol chez le porc lors d'une hypoglycémie insulinique (SPENCER et LISTER, 1983).

Toutes ces observations suggèrent donc que la noradrénaline exerce une action inhibitrice sur la fonction corticostimulante de l'hypophyse, par la mise en jeu de récepteurs alpha-adrénergiques. Les études faisant appel à l'utilisation de précurseurs métaboliques de la noradrénaline ou de substances pharmacologiques capables de modifier le potentiel catécholaminergique cérébral (inhibition ou stimulation des enzymes impliquées

dans leur bio-synthèse) suggèrent également une influence inhibitrice des catécholamines sur le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.

La *l-dopa*, précurseur métabolique direct de la *dopamine* et secondairement de la *noradrénaline*, diminue la réponse surrénalienne à un stress chez le chien (VAN LOON et coll. 1971 a; GANONG et coll. 1976). Cet effet est supprimé par la *phénoxybenzamine* mais non par la *phentolamine*, deux alpha-bloquants, ou par le *propranolol*, bêta-bloquant (GANONG et coll., 1976). Chez l'homme, l'administration intra-veineuse de *l-dopa* augmente le taux basal de cortisol (WILCOX et coll. 1975), alors que chez le singe, elle est sans effet sur la cortisolémie (CHAMBERS et BROWN, 1976). Les effets de la *l-dopa* paraissent donc varier d'une espèce à l'autre. Il faut préciser que la *dopamine* (précurseur de la *noradrénaline* mais aussi neuromédiateur) n'a pas d'effet stimulant sur le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien; en effet elle n'affecte pas *in vitro* la libération spontanée de CRF par l'hypothalamus isolé de rat (HILLHOUSE et coll. 1975 ; BUCKINGHAM et HODGES, 1977; FEHM et coll. 1980) ou d'ACTH par l'hypophyse (VAN LOON et KRAGT, 1970). De même *in vivo*, l'activité cortico-surrénalienne n'est pas modifiée ni après injection intra-ventriculaire de *dopamine* chez le rat (KAWA et coll. 1978), ni par stimulation des récepteurs dopaminergiques chez le chien, lors d'une laparotomie (GANONG et coll., 1976). Toutefois le blocage des récepteurs dopaminergiques conduit à une augmentation du contenu de l'hypothalamus en CRF (UPTON et CORBIN, 1975) et à une augmentation du taux d'ACTH sanguin (GIRAUD et coll. 1980).

Une augmentation du potentiel catécholaminergique chez le rat, suite à l'inhibition de la monoaminoxydase par la *pargyline*, réduit la teneur basale des surrénales et du plasma en corticostéroïdes (BHATTARACHARYA et MARKS, 1969 a) et la réponse cortico-surrénalienne à une inhalation d'éther ou à une laparotomie (BHATTARACHARYA et MARKS, 1969 a), ainsi qu'à une hypoxie ou une hypercapnie (MAROTTA et coll. 1976).

La diminution du potentiel catécholaminergique chez le rat conduit à une augmentation de l'activité cortico-stimulante de l'hypophyse. Cet effet est observé aussi bien en présence d'*alpha-méthyl-para-tyrosine*, inhibiteur de la tyrosine hydroxylase (SCAPAGNINI et coll. 1971; VAN LOON et coll. 1971 b; KAPLANSKI et coll. 1972 ; CUELLO et coll. 1973/74; SCAPAGNINI et coll. 1975 ; ZACNY et BUGAJSKI, 1984; BUCKINGHAM et COOPER, 1987) que du *FLA-63* inhibiteur de la dopamine β -hydroxylase (SCAPAGNINI et coll. 1971). Il en est de même quand le contenu cérébral en *noradrénaline* est diminué par la *6-hydroxy-dopamine* (CUELLO et coll., 1974) ou la *réserpine* (BHATTACHARYA et MARKS, 1969 b; HODGES et VELUCCI, 1974, 1975) qui provoquent respectivement une destruction des

terminaisons nerveuses catécholaminergiques (surtout noradrénergiques) et une forte diminution de leur contenu en neuro-mé debateur.

Un certain nombre d'expériences conduisant à une diminution du potentiel catécholaminergique ne mettent pas en évidence un rôle inhibiteur des catécholamines sur la fonction cortico-stimulante de l'hypophyse du rat. Ainsi, selon MAROTTA et coll. (1976) l'*α-méthyl-p-tyrosine* et le *FLA-63* n'affectent pas significativement la réponse surrénalienne du rat à un stress par hypoxie ou hypercapnie. Par ailleurs, la *6-hydroxydopamine* serait sans effet sur le contenu hypothalamique en noradrénaline (KAPLANSKI et SMELIK, 1973) et sur la variation circadienne du taux de corticostéroïdes dans le plasma (KRIEGER, 1975) ; elle entraîne même une diminution de la corticostéronémie (LIPPA et coll. 1973) et abaisse les taux de CRF dans le sang du système porte hypophysaire et d'ACTH dans la circulation systémique (GUILLAUME et coll. 1987). KAWA et coll. (1978) observent par ailleurs une hypersensibilité à la *noradrénaline* administrée par voie intraventriculaire chez des rats dont la teneur du système nerveux central en noradrénaline est fortement diminuée par un pré-traitement à la *6-hydroxydopamine* ; en effet, une même dose de *noradrénaline* qui n'a pas d'effet chez les animaux témoins est capable de stimuler la fonction corticostimulante de l'hypophyse des animaux traités. La *réserpine*, enfin, serait sans effet sur le taux basal de corticostérone plasmatique (CARR et MOORE, 1968) ou sur la réponse surrénalienne à un stress (MAROTTA et coll. 1976). Selon SCAPAGNINI et coll. (1976), lors d'un traitement par la *réserpine*, la corticosurrénale est initialement stimulée puis elle retrouve une activité normale alors que le contenu hypothalamique en noradrénaline reste faible; ces auteurs suggèrent qu'au cours de cette seconde phase l'inhibition noradrénergique du complexe hypothalamo-hypophysaire réapparaît par suite de la formation d'un pool fonctionnel de noradrénaline liée à une augmentation de l'activité de la tyrosine hydroxylase.

Si, exceptionnellement, a été mentionnée une absence d'effet de la *noradrénaline* sur la sécrétion de CRF par l'hypothalamus de rat *in vitro* (TATE et coll. 1983), des effets stimulants d'origine noradrénergique sur l'activité hypothalamo-hypophyso-surrénalienne ont été rapportés par un certain nombre d'auteurs. Ces observations sont donc en contradiction avec les précédentes.

Chez l'homme, une perfusion intra-veineuse de noradrénaline augmente la teneur du sang en ACTH et en corticostérone (FEW et coll. 1980), alors qu'un α -bloquant la *tolazoline*, diminue la sécrétion de cortisol qui accompagne l'hypoglycémie insulinique (JEZOVA-

REPCEKOVA et coll. 1979). Chez le rat, une augmentation de la corticostéronémie accompagne l'injection de *noradrénaline* dans l'hypothalamus postérieur (ENDROCZI et coll. 1963) ou dans le ventricule latéral (ABE et HIROSHIGE, 1974 ; ANICHKOV et coll. 1978 ; KAWA et coll. 1978 ; SZAFARCZYK et coll. 1987). Toujours chez le rat, la *clonidine* sympathomimétique α -adrénergique administrée par voie intra-ventriculaire, induit une sécrétion de corticostérone (BUGAJSKI, 1984), effet inverse de celui observé chez le chien (GANONG et coll., 1976). L'administration intra-ventriculaire de bloquants adrénergiques de type α_1 (*prazosine*) ou β (*propranolol*) diminue fortement la sécrétion d'ACTH induite chez le rat par un stress à l'éther (SZAFARCZYK et coll., 1987). Ces effets suggèrent qu'un mécanisme stimulant central impliquant l'adrénaline et/ou la noradrénaline est une composante essentielle de la réponse à ce stress.

L'administration de *6-hydroxydopamine* dans le faisceau noradrénergique ventral ascendant diminue les taux de noradrénaline et d'adrénaline dans le noyau paraventriculaire (NPV) et dans l'éminence médiane (EM) et induit à l'état basal une réduction concomitante des taux plasmatiques de CRF dans le sang portal et d'ACTH dans le sang périphérique ainsi qu'une sécrétion beaucoup plus faible d'hormone corticotrope à la suite d'un stress à l'éther (SZAFARCZYK et coll. 1988). Si la lésion de l'innervation catécholaminergique concerne uniquement le NPV (injection de *6-hydroxydopamine* à proximité de ce noyau) les taux de catécholamines sont également diminués dans le NPV mais inchangés dans l'EM, les taux sanguin de CRF et d'ACTH à l'état basal sont moins diminués que précédemment et la sécrétion d'ACTH à la suite du stress n'est pas modifiée (SZAFARCZYK et coll. 1988). Ces auteurs suggèrent que l'innervation catécholaminergique de l'hypothalamus exerce un contrôle stimulant sur la fonction corticotrope de l'hypophyse non seulement directement sur les neurones à CRF mais aussi au niveau d'autres sites hypothalamiques de l'innervation du faisceau noradrénergique ventral ascendant.

In vitro, la *noradrénaline* stimule la sécrétion de CRF par l'hypothalamus isolé de rat, mais le blocage des récepteurs α -adrénergiques par la *phentolamine* supprime cet effet (FEHM et coll. 1980). De plus, l'éminence médiane de rat mâle, stimulée électriquement, libère entre autre un agoniste α -adrénergique (BÉNY et BAERTSCHI, 1981). Sur des cultures cellulaires d'hypothalamus de rat nouveau-nés (âgés d'une semaine) la *noradrénaline* induit une augmentation de sécrétion de CRF; cet effet est bloqué par le *propranolol* (β -bloquant) mais non par la *prazosine* (α_1 -bloquant) (WIDMAIER et coll. 1989). La *noradrénaline* stimule également la libération d'ACTH aussi bien par le lobe antérieur (RAYMOND et coll. 1981) que par le lobe neuro-intermédiaire (VALE et coll., 1978 ; BRIAUD et coll. 1979). L'effet observé par ces derniers auteurs est aboli par un α -bloquant, la *phentolamine*.

Une autre technique d'investigation mise en oeuvre pour l'étude du contrôle hypothalamique de l'hypophyse implique la destruction chirurgicale ou pharmacologique des voies et centres nerveux.

C'est ainsi qu'à la suite de HALASZ et PUPP (1965) des techniques de désafférentation de l'hypothalamus ont permis de montrer que l'effet stimulant de la *réserpine* sur la sécrétion de CRF ne s'exerce pas directement sur l'hypothalamus médio-basal, mais nécessite l'intégrité des voies afférentes antérieures (LENGVARI et HALASZ, 1972). Des voies nerveuses intactes, pénétrant antérieurement ou latéralement dans l'hypothalamus médio-basal sont nécessaires pour que la sécrétion d'ACTH augmente après un stress à l'éther (KARTESZI et coll. 1980). La destruction du noyau supra-chiasmatique entraîne la diminution de sécrétion d'ACTH après un stress à l'éther (IXART et coll. 1985); il en est également ainsi après destruction du noyau paraventriculaire (MAKARA et coll. 1981, in MERMET et GONON, 1988; BRUHN et coll. 1984). Or le noyau paraventriculaire contient des neurones à CRF dont l'activité peut être facilitée par des afférences noradrénergiques (DAY et coll. 1985). Une libération de noradrénaline dans le noyau paraventriculaire a été signalée lors du stress à l'éther (MERMET et GONON, 1988); cependant, pour FELDMAN et coll. (1986), la déplétion en noradrénaline de ce noyau ne modifie pas la réponse corticosurrénalienne lors d'une inhalation d'éther. Par ailleurs, des lésions de l'éminence médiane dans sa partie antérieure diminuent fortement la stimulation corticosurrénalienne consécutive à l'injection de *pilocarpine*, agent stimulant les récepteurs cholinergiques muscariniques (SUZUKI et coll. 1975).

La lésion pharmacologique du noyau arqué a été également pratiquée par injection de *glutamate de sodium* au cours des premiers jours qui suivent la naissance (OLNEY, 1969). Ce noyau est en effet riche en catécholamines qui interviendraient dans la médiation de la sécrétion d'ACTH induite par un stress à l'éther (HEDGE et coll. 1976).

L'influence sérotoninergique sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien est bien moins documentée que la précédente.

La plupart des fibres sérotoninergiques hypothalamiques sont issues de neurones dont les corps cellulaires sont situés hors de l'hypothalamus, essentiellement dans les parties dorsale et centrale supérieure du noyau du raphé; la présence de neurones sérotoninergiques intrahypothalamiques a été également suggéré (revue in WEINER et GANONG, 1978). La sérotonine, présente dans l'hypothalamus ainsi que dans le lobe intermédiaire de l'hypophyse

(FRIEDMAN et coll. 1983; PALKOVITS et coll. 1986), est capable de stimuler la fonction corticotrope (FULLER 1981).

En effet la teneur du plasma en corticostérone augmente chez le rat après injection de sérotonine dans le ventricule latéral (ABE et HIROSHIGE, 1974) et chez le cobaye après injection dans différentes parties du cerveau, en dehors de l'hypothalamus (NAUMENKO, 1969). Chez le rat, l'accroissement de la sécrétion de sérotonine, provoquée par une injection intra-péritonéale de *para-chloro-amphétamine*, s'accompagne d'une augmentation de la corticostéronémie (FULLER et SNODDY, 1980 ; VAN DE KAR et coll. 1985) alors que le blocage de sa synthèse par la *para-chloro-phénylalanine* diminue la sécrétion d'ACTH induite par un stress à l'éther (IXART et coll. 1985). L'effet stimulant de la sérotonine sur la sécrétion de CRF n'est plus observé après blocage des récepteurs sérotoninergiques par le *méthysergide* (JONES et coll. 1976). Chez le rat, l'inhibition de recaptage de sérotonine par la *fluoxétine* entraîne une augmentation des taux de CRF et d'AVP dans le sang du système porte hypophysaire et d'ACTH dans la circulation périphérique (GIBBS et VALE, 1983).

In vitro la sérotonine stimule la sécrétion de CRF par l'hypothalamus de rat adulte (JONES et coll. 1976; BUCKINGHAM et HODGES, 1977, 1979). Toutefois FEHM et coll. (1980) n'ont pas confirmé ce résultat. Cette amine stimule également la sécrétion d'ACTH par le lobe neurointermédiaire (KRAICER et MORRIS, 1976; LAMBERTS et coll. 1983) mais non par l'hypophyse antérieure (KRAICER et MORRIS, 1976); toutefois SPINEDI et NEGRO-VILAR (1983) ont observé un effet stimulant direct de la *sérotonine* sur la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur du rat et une atténuation de l'effet hypophyso-stimulant d'un extrait de l'éminence médiane lorsque les récepteurs sérotoninergiques sont bloqués. La *cyproheptadine*, bloquant des récepteurs sérotoninergiques, a un effet inhibiteur direct sur la libération d'ACTH par le lobe neurointermédiaire mais non antérieur (LAMBERTS et coll. 1983). Cette substance inhibe la sécrétion basale d'ACTH par le lobe antérieur ainsi que celle induite par le CRF; elle inhibe de même la sécrétion basale de CRF par l'hypothalamus et celle induite par la sérotonine (NAKAGAMI et coll. 1986).

Cependant un certain nombre d'observations suggèrent que l'intervention de la sérotonine dans le contrôle hypothalamique de la fonction corticostimulante de l'hypophyse serait secondaire, voire négligeable. A l'inverse de résultats précités, pour certains auteurs, la *sérotonine* n'aurait pas d'effet *in vitro* sur la libération d'ACTH par le lobe neurointermédiaire (BRIAUD et coll. 1979) ou de CRF par l'hypothalamus (TATE et coll. 1983). *In vivo* chez le rat, la diminution du taux cérébral de sérotonine, par suite d'une carence alimentaire en tryptophane ou d'une inhibition de sa synthèse par la *p-chlorophénylalanine* ne modifie pas significativement la corticostéronémie basale ni

l'augmentation de celle-ci après administration intra-péritonéale de *réserpine* (DIXIT, 1971). La déplétion en sérotonine par la *5,7-dihydroxytryptamine* injectée dans le noyau du raphé n'affecte pas la réponse à une inhalation d'éther (FELDMAN et coll. 1984). Par ailleurs, toujours chez le rat, l'augmentation ou la diminution du potentiel sérotoninergique grâce à différentes substances pharmacologiques, ne modifie pas la réponse à d'autres types de stress comme l'hypoxie ou l'hypercapnie (MAROTTA et coll. 1976). Chez l'animal surrénalectomisé il n'a pas été mis en évidence de corrélation entre l'activité du système sérotoninergique central et la sécrétion d'ACTH induite par un stress à l'éther (KARTESZI et coll. 1981).

Enfin, selon certains auteurs la sérotonine exercerait un effet inhibiteur sur la fonction hypophyso-surrénaliennne. C'est en effet ce que concluent VERMES et TELEGDY (1977) après avoir observé une diminution de l'activité sérotoninergique hypothalamique lors d'un stress à l'éther. Par ailleurs, chez le mouton, l'administration intraventriculaire de sérotonine diminue temporairement la sécrétion d'ACTH lors d'un stress (FREY et MOBERG, 1981).

L'implication d'un système de neurotransmission hypothalamique de nature adrénnergique et/ou sérotoninergique lors du stress est également suggérée par des études relatives aux activités métaboliques neuronales. Chez le rat une diminution du contenu hypothalamique en noradrénaline est observée lors d'un choc électrique sur la queue (NAKAGAWA et coll. 1981). Le contenu en noradrénaline augmente et celui en sérotonine diminue dans certaines portions du noyau ventro-médian hypothalamique lors d'un stress par immobilisation (KISS et coll. 1981). Les observations de SMYTHE et coll. (1983) concluent à une activation du système noradrénnergique hypothalamique et à une réduction parallèle de l'activité du système sérotoninergique hypothalamique lors de la sécrétion d'ACTH induite par un stress à l'éther. SZAFARCYK et coll. (1985) suggèrent qu'une innervation noradrénnergique hypothalamique facilite la sécrétion d'ACTH induite par un stress à l'éther. Lors de ce type de stress chez le rat, le métabolisme noradrénnergique est accru dans tous les noyaux hypothalamiques alors que celui de la sérotonine est, selon les noyaux, augmenté, diminué ou inchangé (JOHNSTON et coll. 1985).

Nous nous sommes proposé d'étudier l'influence éventuelle de la noradrénaline et de la sérotonine sur l'activité corticotrope de l'hypophyse chez le rat de 8 jours. Le développement prénatal des structures cérébrales va de pair avec celui de la fonction

corticotrope hypophysaire. Dopamine et noradrénaline sont présentes dans le cerveau foetal dès le 15ème jour de gestation et leur quantité augmente d'un facteur 15 au cours de la dernière semaine in utero (COYLE et HENRY, 1973). De plus, selon ces auteurs, l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme de la dopamine et de la noradrénaline dans le cerveau foetal est susceptible d'être modifiée par voie pharmacologique dès le 18ème jour de gestation.

A la naissance, les neurones présumés contenir de la dopamine sont morphologiquement plus développés que ceux à noradrénaline ou à sérotonine (LOIZOU, 1972). La prolifération des terminaisons axoniques est importante durant les trois premières semaines postnatales pour les neurones à noradrénaline et à sérotonine et durant la quatrième semaine pour ceux à dopamine (LOIZOU, 1972). Cependant le développement est entièrement post-natal pour les corps cellulaires contenant des amines (catécholamines, sérotonine) dans diverses régions de l'hypothalamus et pour les terminaisons nerveuses dans la région de l'éminence médiane et de la neurohypophyse (LOIZOU, 1971). Selon cet auteur, les monoamines peuvent être révélées dès l'âge de 1 jour dans quelques terminaisons de la zone interne de l'éminence médiane et à 3 jours dans celles de la zone externe; vers 6-7 jours, elles sont plus abondantes dans la zone externe de l'éminence médiane et à la jonction processus-infundibulaire et pars intermedia de l'hypophyse.

Cette apparition des catécholamines dans l'éminence médiane vers le 5ème jour post-partum (HYPPÄ, 1969) va de pair avec le développement du système porte hypothalamo-hypophysaire (CAMPBELL, 1966; FINK et SMITH, 1971). Ce n'est qu'à 3 semaines que la répartition des monoamines est comparable à celle de l'adulte (LOIZOU, 1971). Dans la pars intermedia de l'hypophyse, LOIZOU (1971) note aussi quelques rares cellules à fluorescence monoaminergique à 1 ou 2 jours post-partum et des fibres seulement à partir de 7 jours .

Pendant les deux premières semaines de la vie postnatale, la barrière hémato-encéphalique du jeune rat n'est pas pleinement développée et les neurones monoaminergiques centraux peuvent capter les amines circulantes (LOIZOU, 1970). Cependant cette capture est variable selon les substances circulantes et l'âge des animaux. Ainsi, chez des rats de 2 jours, la capture de noradrénaline est forte et diffuse dans l'éminence médiane et l'infundibulum ; dans le lobe intermédiaire de l'hypophyse, elle intéresse les fibres mais non les cellules (LOIZOU, 1970). Après injection intra-veineuse de *l-dopa* (précuseur de catécholamines), la capture est diffuse dans l'éminence médiane pendant les 10 premiers jours de vie extra-utérine; dans les fibres du lobe intermédiaire elle est observée dès 6 jours (LOIZOU, 1971).

Si la pénétration de sérotonine dans le cerveau du rat de 2 jours est faible (LOIZOU, 1970) elle est très importante dans l'éminence médiane de l'hypophyse au cours des deux premières semaines de vie (LOIZOU, 1970).

Chez le rat nouveau-né la noradrénaline induit une augmentation de sécrétion de CRF par des cultures cellulaires d'hypothalamus d'animaux âgés de 1 semaine; cet effet est bloqué par le *propranolol* (antagoniste des récepteurs β), mais pas par la *prazosine* (inhibiteur des récepteurs α) (WIDMAIER et coll. 1989). L'objectif du travail présenté dans cette partie a été de voir les influence adrénergiques et sérotoninergiques sur la sécrétion d'ACTH par l'hypophyse antérieure de rats nouveau-nés de 8 jours.

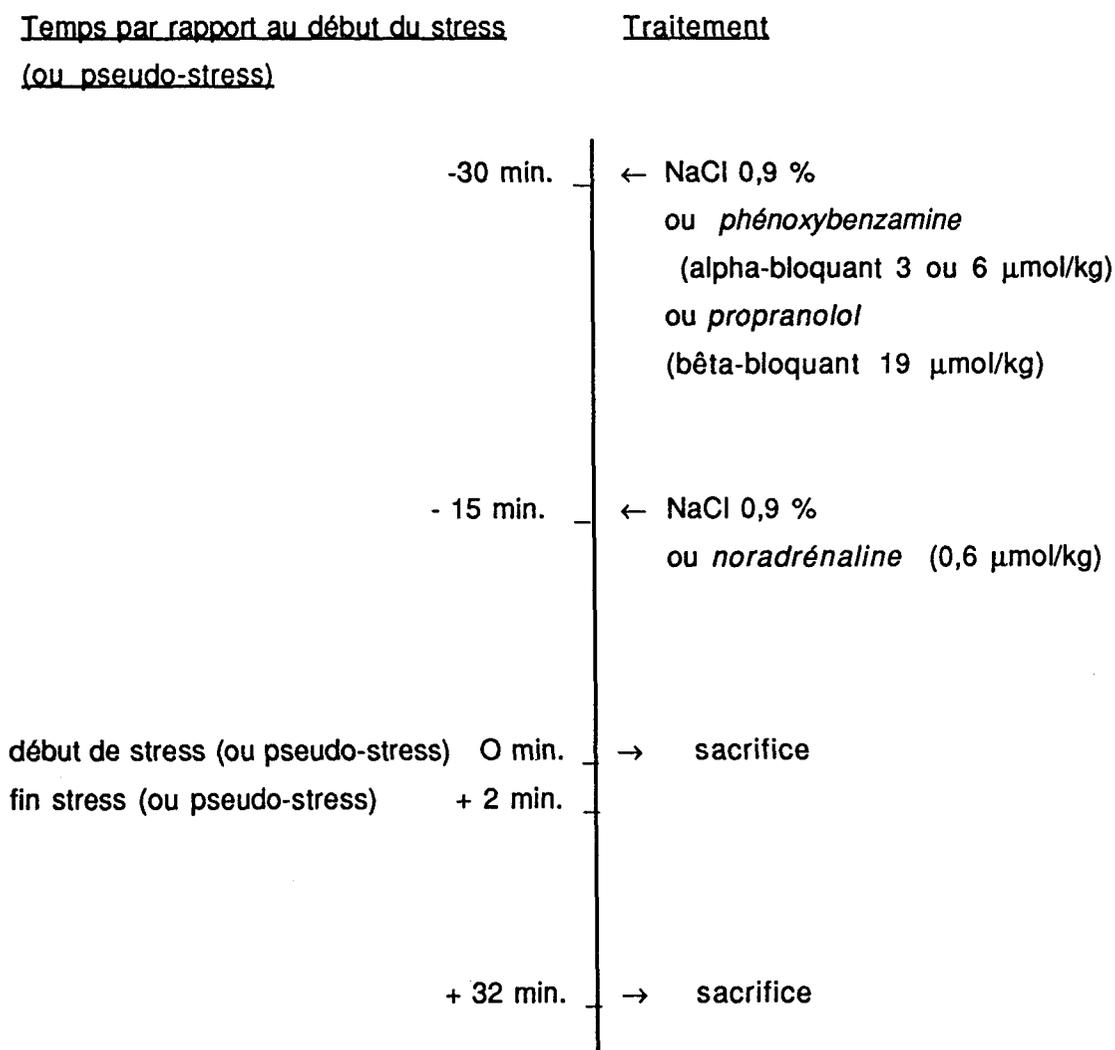
Pour cela nous avons cherché les effets de la noradrénaline et de substances pharmacologiques bloquant les récepteurs α -adrénergiques (*phénoxybenzamine*) ou β -adrénergiques (*propranolol*) ainsi que ceux de la sérotonine et d'un bloquant des récepteurs sérotoninergiques (*cyproheptadine*) sur la fonction corticotrope de l'hypophyse, *in vivo*, à l'état basal ou lors d'une activation par suite d'un stress à l'éther. Nous avons également recherché si, *in vitro*, la noradrénaline et la sérotonine pouvaient avoir une influence sur la sécrétion basale d'ACTH par le lobe antérieur et par le lobe neuro-intermédiaire de l'hypophyse ou sur celle induite par le CRF sur le lobe antérieur, chez des animaux mâles et femelles de 8 jours.

5-2 Protocoles expérimentaux

5-2-1 Injection de noradrénaline à des animaux normaux

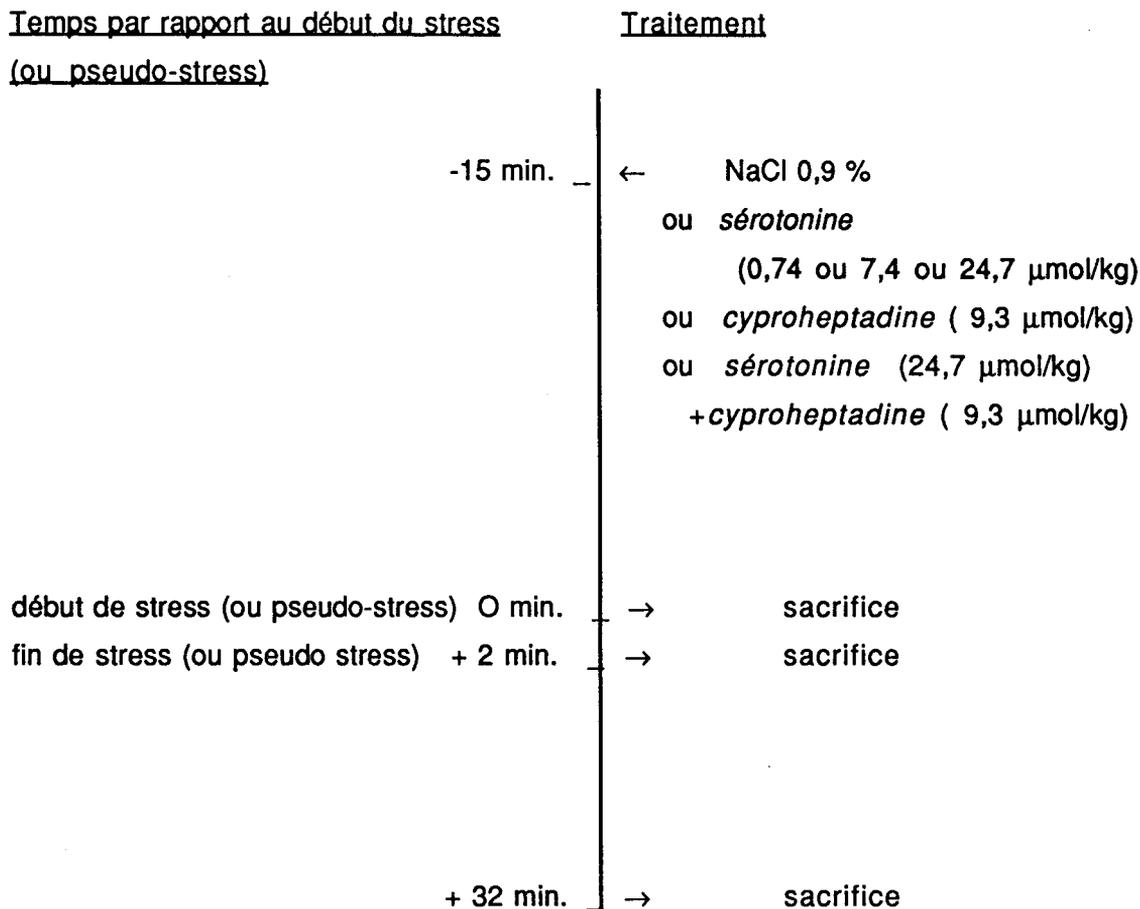
La *noradrénaline* (aux doses de 0,6 - 1,5 - 3 ou 15 $\mu\text{mol/kg}$) ou le solvant (NaCl 0,9 %) ont été injectés (100 μl) à des nouveau-nés de 8 jours mâles et femelles. Les animaux ont été sacrifiés 15 - 30 - 60 - 120 minutes après l'injection. Le sang a été recueilli sur EDTA en vue d'un dosage ultérieur de l'ACTH plasmatique.

5-2-2 Stress à l'éther chez des mâles et chez des femelles ayant préalablement reçu une injection d'un bloquant adrénergique et de noradrénaline



Le sang est recueilli chez les animaux sacrifiés en vue d'un dosage ultérieur d'ACTH plasmatique.

5-2-3 Stress à l'éther chez des mâles et chez des femelles ayant préalablement reçu une injection de sérotonine et/ou de cyproheptadine



Le sang est recueilli chez les animaux sacrifiés en vue d'un dosage ultérieur d'ACTH plasmatique.

5-2-4 Incubation de lobes antérieurs d'hypophyses d'animaux mâles et femelles en présence de noradrénaline ou de sérotonine, seules ou associées à du CRF ovin

Des lobes antérieurs (1 par tube, dans un volume de 1 ml) de nouveau-nés de 8 jours mâles et femelles sont mis en présence, pendant 2 fois 1 heure,

- de *noradrénaline* seule (15 - 30 - 90 - 600 - 3000 nmol/l) ou de *noradrénaline* (30 nmol/l) + CRF ovin (0,4 nmol/l),
- de *sérotonine* seule (24,7 - 74 - 247 - 740 - 2470 - 7400 nmol/l) ou de CRF de rat seul (0,2 nmol/l) ou de CRF de rat + *sérotonine* (247 nmol/l).

D'autres lobes antérieurs d'hypophyses sont incubés en parallèle en présence de CRF ovin (0,2 - 0,4 - 4 - 40 nmol/l).

5-2-5 Incubation de lobes neuro-intermédiaires d'hypophyses en présence de noradrénaline ou de sérotonine

Des lobes neurointermédiaires (2 par tube pour un volume d'incubation de 500 μ l) de nouveau-nés de 8 jours mâles et femelles sont mis en présence, pendant 2 fois 1 heure soit de *noradrénaline* (60 et 600 nmol/l) soit de *sérotonine* (247 et 7400 nmol/l).

5-3 Résultats

5-3-1 Effets de la noradrénaline sur le taux d'ACTH plasmatique chez des rats de 8 jours des deux sexes

La noradrénaline à la dose de 0,6 $\mu\text{mol/kg}$ n'a pas d'effet sur la sécrétion basale d'ACTH par l'hypophyse des rats nouveau-nés de 8 jours (Tableau IV).

Pour des doses supérieures, une augmentation de sécrétion dose-dépendante est observée (Tableau IV ci-dessous).

Tableau IV : ACTH plasmatique (fmol/ml) chez des rats de 8 jours des deux sexes, injectés de noradrénaline ou de chlorure de sodium :

Traitement	Délai (min.) entre l'injection et le sacrifice			
	15	30	60	120
Na Cl (0,9 %)	11,2 \pm 2,6 (6)	12,8 \pm 0,7 (6)	13,2 \pm 0,9 (5)	11,0 \pm 1,5 (10)
Noradrénaline ($\mu\text{mol/kg}$)				
0,6	12,1 \pm 1,8 (ns) (6)	14,5 \pm 0,8 (ns) (5)	13,0 \pm 2,2 (ns) (5)	
1,5		30,2 \pm 7,9 (ns) (5)	39,2 \pm 5,7** (5)	
3,0		44,3 \pm 6,8*** (5)	38,3 \pm 5,9** (5)	
15,0		407,4 \pm 111,4*** (5)	579,6 \pm 168,7*** (6)	
Moyenne \pm s.e.m () nombre de cas		Comparaisons vs Na Cl		(ns) p > 0,05 * p < 0,05 ** p < 0,01 *** p < 0,001

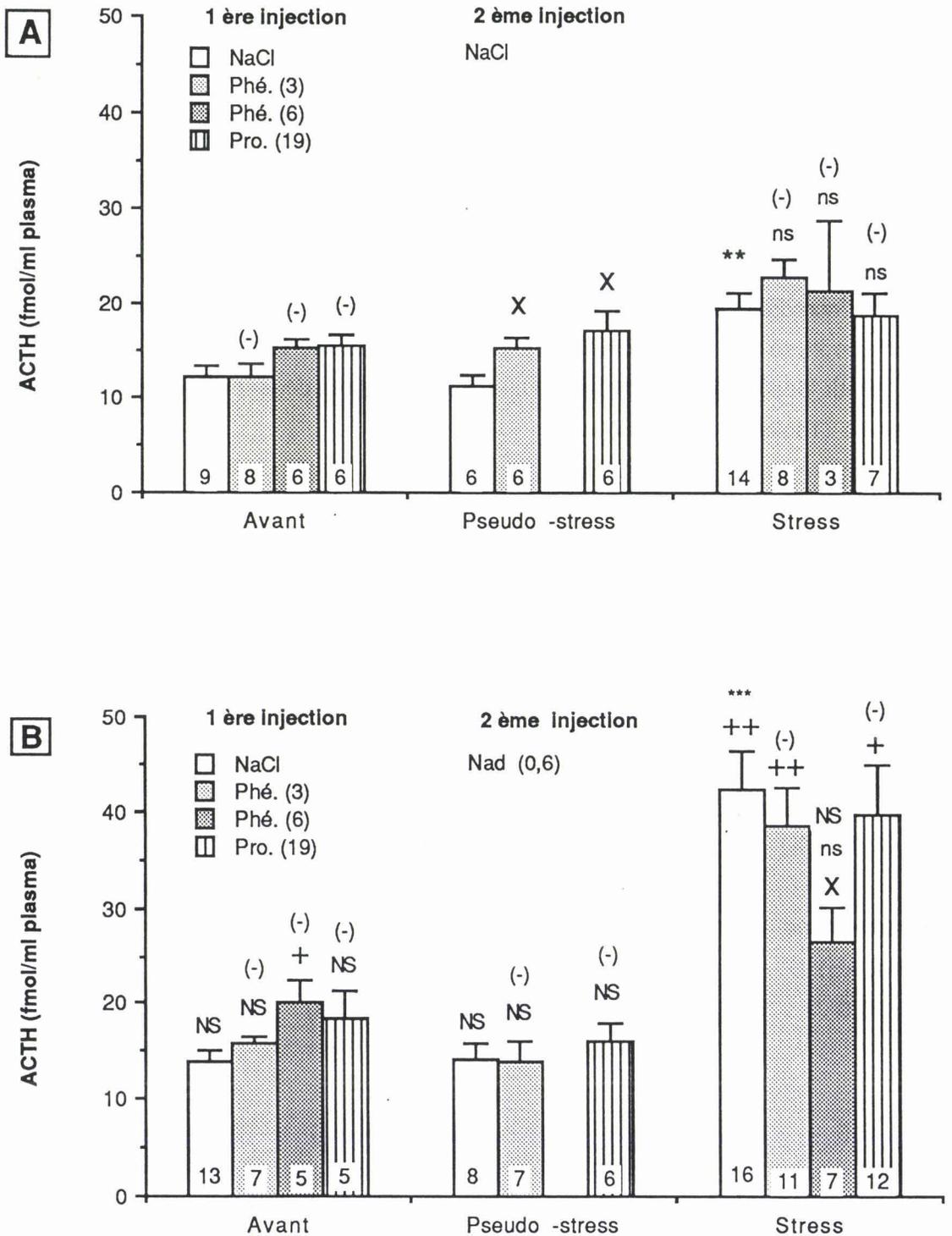


Figure 4: ACTH plasmatique chez des rats mâles de 8 jours avant ou 32 minutes après le début d'un pseudo-stress ou d'un stress à l'éther de 2 minutes. Les animaux sont prétraités 30 minutes (1 ère injection) et 15 minutes (2 ème injection) avant le stress ou pseudo-stress par NaCl:chlorure de sodium 0,9 %; Phé:phénoxybenzamine; Pro:propranolol; Nad:noradrénaline (doses en micromoles/ kg) Moyennes \pm e.s.m.

Comparaisons	p > 0.05	p < 0.05	p < 0.01	p < 0.001
Stress vs Ps-str (intra A ou intra B)	ns		**	***
B vs A	NS	+	++	
Phé ou Pro vs NaCl (intra A ou intra B)	(-)	X		

5-3-2 Effets de la noradrénaline et de bloquants adrénergiques sur la sécrétion d'ACTH lors d'un stress à l'éther chez des rats de 8 jours mâles ou femelles

Le stress à l'éther entraîne une augmentation significative du taux d'ACTH plasmatique chez des rats de 8 jours mâles (Figure 4 A) et femelles (Figure 5 A) ayant préalablement reçu deux injections de chlorure de sodium à 0,9 % ; l'augmentation est significativement plus importante chez les femelles que chez les mâles .

La noradrénaline (0,6 $\mu\text{mol/kg}$) potentialise la réponse au stress chez tous les animaux (Figures 4 B et 5 B). Les taux d'ACTH plasmatique mesurés 30 min après la fin de l'exposition aux vapeurs d'éther sont comparables chez les nouveau-nés mâles et femelles (Figures 4 B et 5 B).

La phénoxybenzamine (3 $\mu\text{mol/kg}$) ou le propranolol (19 $\mu\text{mol/kg}$), administrés préalablement au chlorure de sodium ont peu ou pas d'effet sur les taux d'ACTH mesurés avant ou 30 minutes après la fin du pseudo-stress.

Chez des animaux soumis à un stress à l'éther, le propranolol ne modifie pas la sécrétion d'ACTH, qu'ils aient ou non reçu de la noradrénaline (Figures 4 et 5). Il en est de même pour la phénoxybenzamine à la dose de 3 $\mu\text{mol/kg}$. A une plus forte dose (6 $\mu\text{mol/kg}$), cet alpha-bloquant diminue la sécrétion d'ACTH aussi bien chez les mâles (Figure 4) que chez les femelles (Figure 5) qui ont été injectés ultérieurement de noradrénaline.

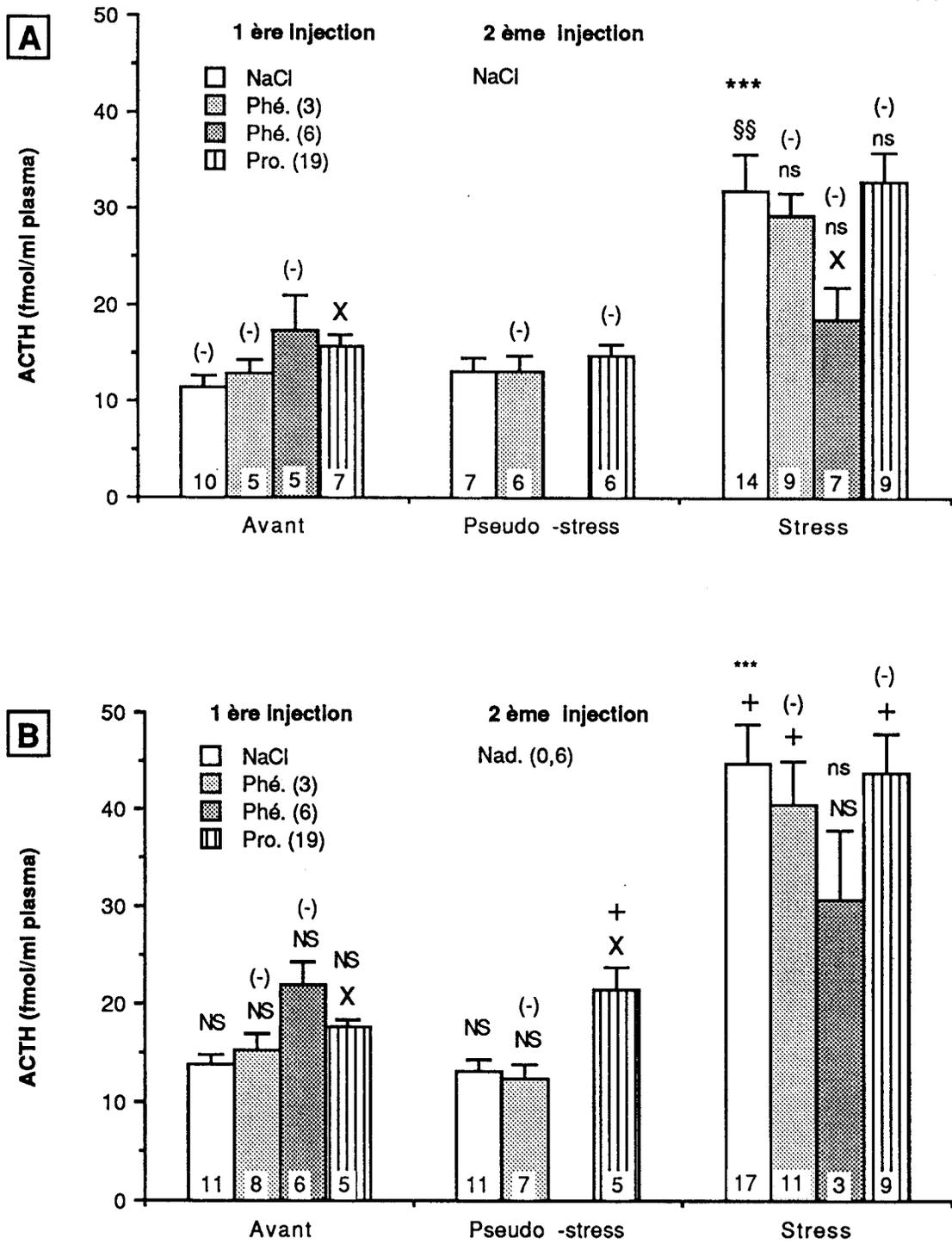


Figure 5: ACTH plasmatique chez des rats féelles de 8 jours avant ou 32 minutes après le début d'un pseudo-stress ou d'un stress à l'éther de 2 minutes. Les animaux sont prétraités 30 minutes (1 ère injection) et 15 minutes (2 ème injection) avant le stress ou pseudo-stress par NaCl:chlorure de sodium 0,9 %; Phé:phénoxybenzamine; Pro:propranolol; Nad:noradrénaline (doses en micromoles/ kg) Moyennes ± e.s.m.

Comparaisons	p > 0.05	p < 0.05	p < 0.01	p < 0.001
Stress vs Ps-str (intra A ou intra B)	ns			***
B vs A	NS	+		
Phé ou Pro vs NaCl (intra A ou intra B)	(-)	x		
Femelles vs mâles (cf. fig. 4)			§§	

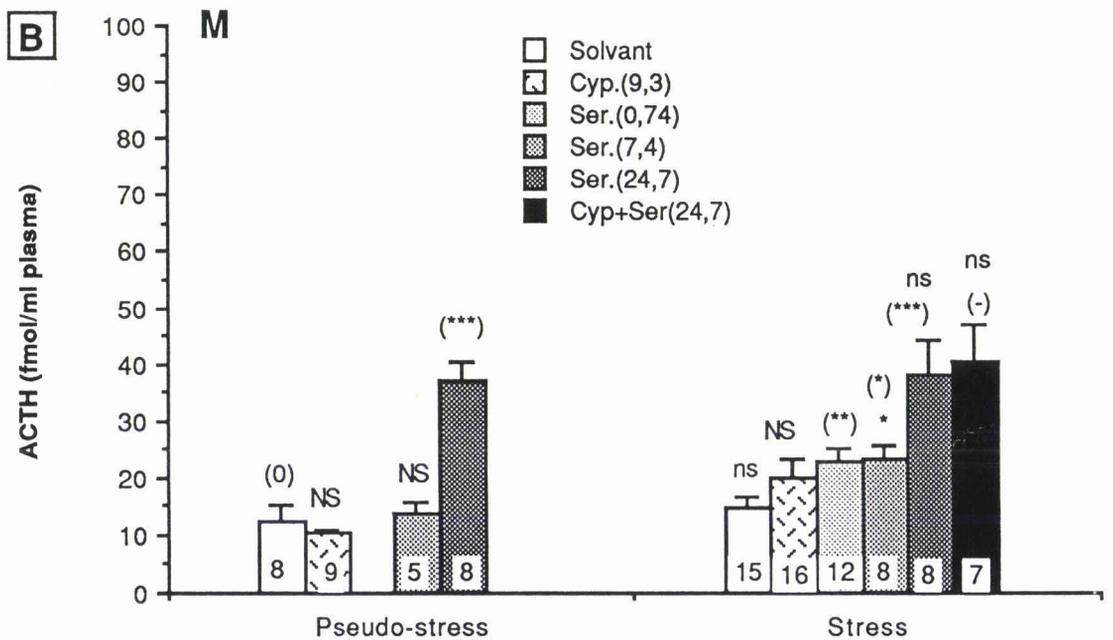
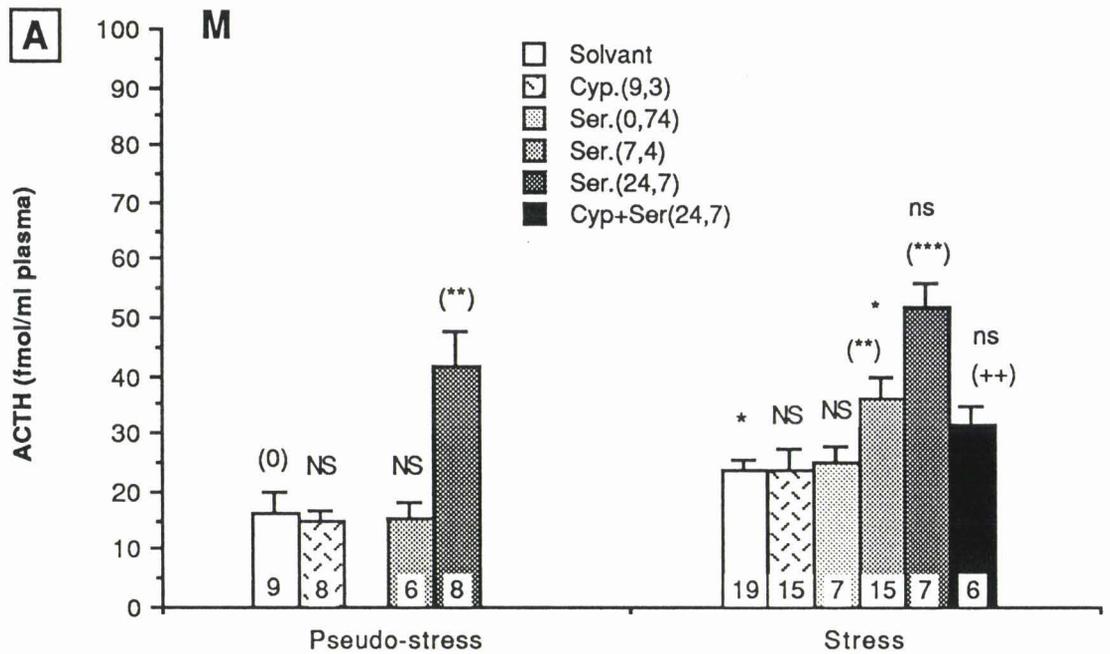


Figure 6: ACTH plasmatique chez des rats mâles de 8 jours 2 minutes (A) ou 32 minutes (B) après le début d'un pseudo-stress ou d'un stress à l'éther de 2 minutes. Les animaux étaient prétraités 15 minutes avant le stress ou pseudo-stress par Solvant: chlorure de sodium 0,9% , Cyp: cyproheptadine, Ser: sérotonine, (doses en micromoles / kg).

Moyennes \pm e.s.m.

Comparaisons	p>0.05	p<0.05	p<0.01	p<0.001
Stress vs Pseudo-stress	ns	*	**	
vs Ser.(24,7)	(-)	(+)	(++)	
vs Solvant	NS	(*)	(**)	(***)
vs avant stress (voir texte § 5-3-3)	(0)			

5-3-3 Sécrétion d'ACTH à la suite d'un stress à l'éther chez des rats de 8 jours mâles et femelles ayant reçu une injection de sérotonine et/ou de cyproheptadine

Les taux d'ACTH avant stress chez les animaux témoins sont de $15,0 \pm 2,3$ ($n = 5$) et $11,9 \pm 1,4$ ($n = 5$) fmol/ml de plasma respectivement pour les mâles et pour les femelles (différence non significative; $p > 0,05$). Chez les animaux pseudo-stressés injectés de solvant les taux mesurés à la fin du stress ne sont pas significativement différents de ceux observés chez les animaux témoins ($p > 0,05$; Figures 6 et 7, parties A et B).

La sérotonine, jusqu'à une dose de $7,4 \mu\text{mol/kg}$, n'a pas d'effet sur le taux plasmatique d'ACTH des animaux mâles et femelles pseudo-stressés (Figures 6 et 7). Par contre à la dose de $24,7 \mu\text{mol/kg}$ cette substance induit une augmentation de sécrétion d'ACTH (Figures 6 et 7).

La cyproheptadine ($9,3 \mu\text{mol/kg}$) n'a pas d'effet sur la sécrétion d'ACTH des animaux pseudo-stressés (Figures 6 et 7).

Chez les animaux stressés la sérotonine, dès la dose de $7,4 \mu\text{mol/kg}$, potentialise la sécrétion d'ACTH en réponse à l'inhalation d'éther (Figures 6 et 7).

Les effets de la sérotonine utilisée à la dose de $24,7 \mu\text{mol/kg}$, observés 30 minutes après la fin du stress, ne sont pas modifiés par la cyproheptadine. Mais, dès la fin du stress, une réponse différente existe entre mâles et femelles : l'effet de la cyproheptadine est inhibiteur chez les mâles (Figure 6 A) et légèrement potentialisateur chez les femelles (Figure 7 A) sur la sécrétion d'ACTH consécutive à l'inhalation d'éther pour ces animaux préalablement injectés de sérotonine (Figures 6 et 7).

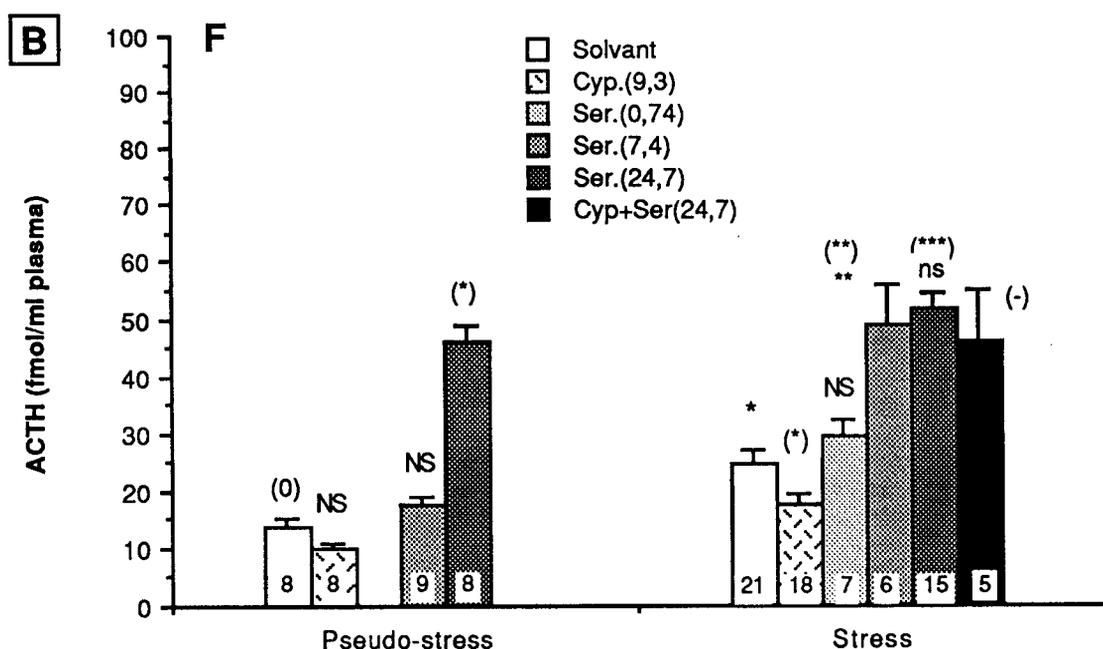
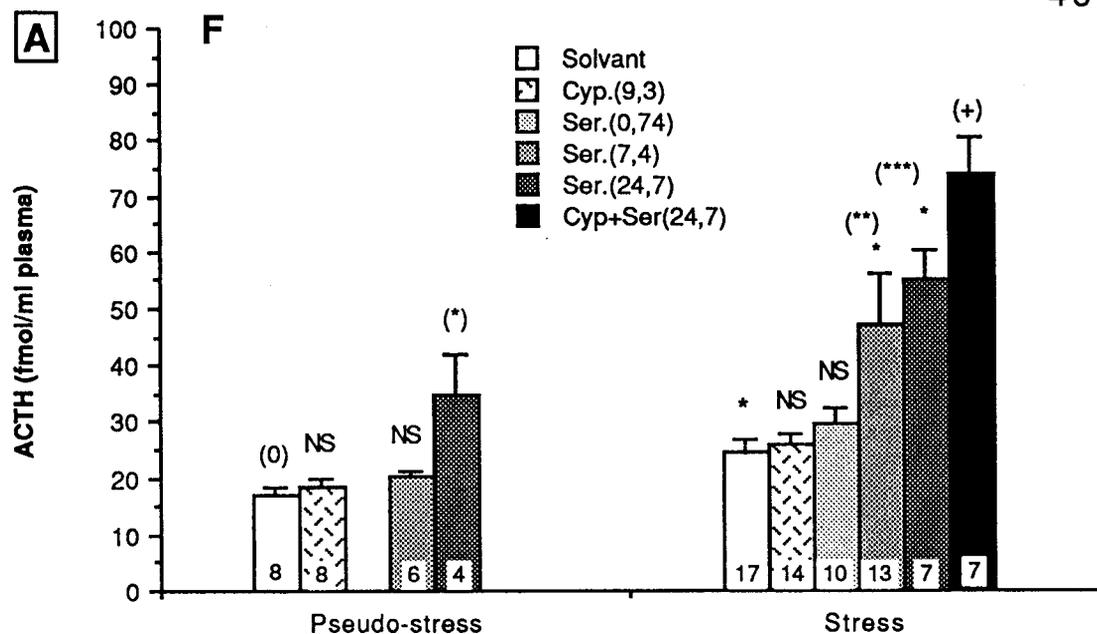


Figure 7: ACTH plasmatique chez des fémmelles de 8 jours 2 minutes (A) ou 32 minutes (B) après le début d'un pseudo-stress ou d'un stress à l'éther de 2 minutes. Les animaux étaient prétraités 15 minutes avant le stress ou pseudo-stress par Solvant: chlorure de sodium 0,9% , Cyp: cyproheptadine, Ser: sérotonine, (doses en micromoles / kg).

Moyennes \pm e.s.m.

Comparaisons	p>0.05	p<0.05	p<0.01	p<0.001
Stress vs Pseudo-stress	ns	*	**	
vs Ser.(24,7)	(-)	(+)		
vs Solvant	NS	(*)	(**)	(***)
vs avant stress (voir texte § 5-3-3)	(0)			

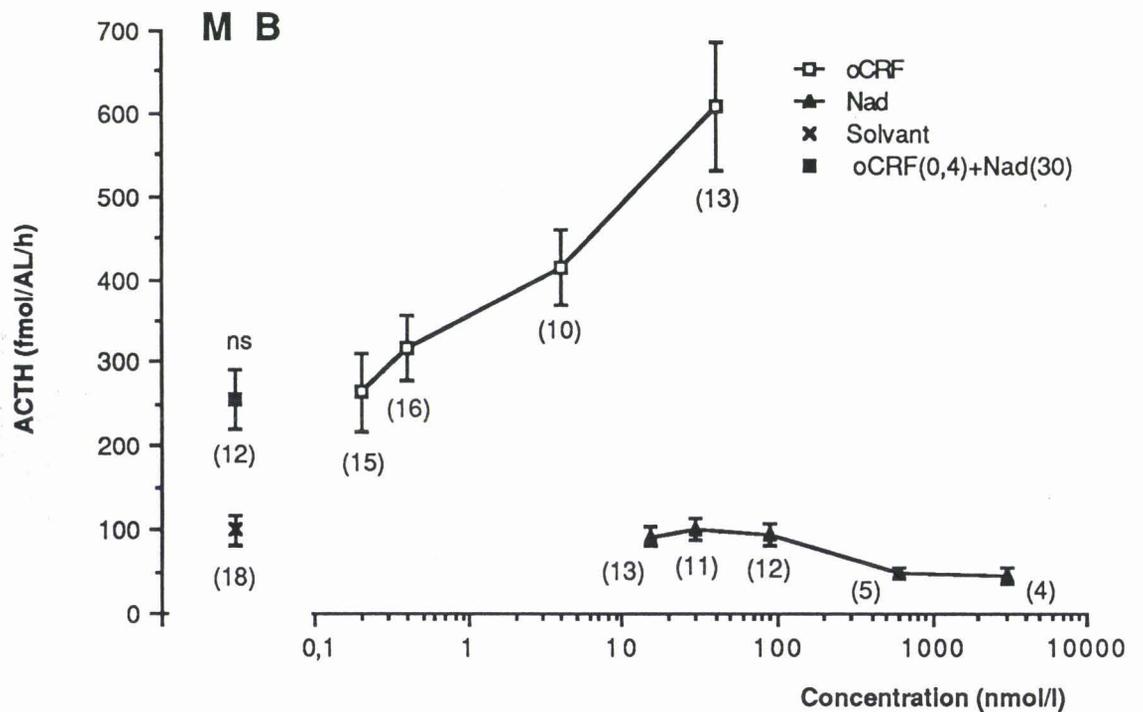
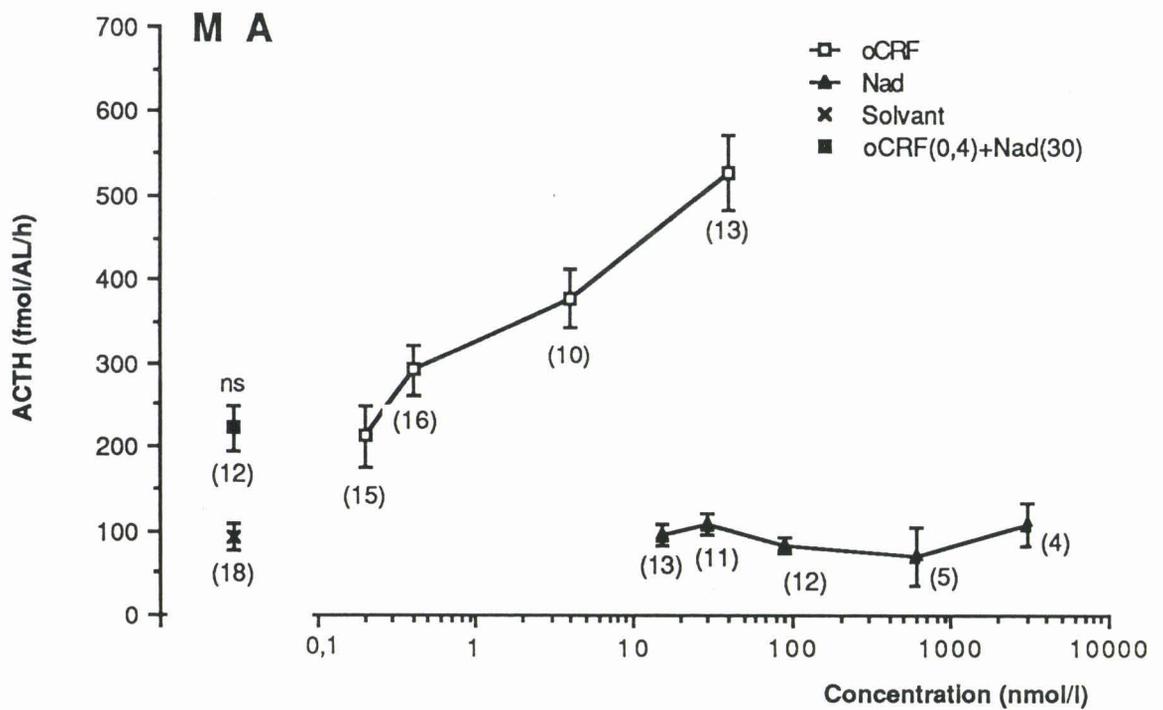


Figure 8: Sécrétion *in vitro* d'ACTH par le lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat mâle (M) de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième (B) heure d'incubation en présence de CRF ovin (oCRF) ou de noradrénaline (Nad) ; concentration en nanomoles par litre (nM)
Moyennes \pm e.s.m.

Comparaison vs oCRF (0,4nmol/l) ns p>0,05

5-3-4 Effet de la noradrénaline et de la sérotonine sur la sécrétion d'ACTH *in vitro*

La noradrénaline, pour les doses testées (de 15 à 3000 nmol/l), est dépourvue d'effet *in vitro* sur la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse du rat de 8 jours mâle ou femelle (Figures 8 et 9). La noradrénaline à la concentration de 30 nmol/l ne modifie pas l'effet du CRF ovin (0,4 nmol/l) sur la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse de rat mâle ou femelle de 8 jours (Figures 8 et 9). A la concentration de 90 nmol/l la noradrénaline diminue légèrement la sécrétion d'ACTH induite par le CRF de rat (0,4 nmol/l) par le lobe antérieur de l'hypophyse du mâle (Figure 10) ; mais ne semble pas avoir d'effet significatif sur l'hypophyse de rat femelle (Figure 10).

La sérotonine (24,7 à 2470 nmol/l) ne modifie pas la libération d'ACTH *in vitro* par le lobe antérieur de l'hypophyse de rat mâle ou femelle de 8 jours (Figures 11 et 12). Il faut une dose très forte (7400 nmol/l) pour qu'une augmentation significative soit observée dès la 1ère heure d'incubation de lobes antérieurs de femelles (Figure 12) et seulement à la 2e heure d'incubation chez les mâles (Figure 11).

La sérotonine à la concentration de 247 nmol/l ne modifie pas significativement la sécrétion d'ACTH induite par le CRF de rat à la dose de 0,2 nmol/l (Figures 11 et 12).

La sécrétion basale d'ACTH par les lobes neuro-intermédiaires de rats de 8 jours, mâles ou femelles, n'est pas significativement modifiée par la noradrénaline (60 ou 600 nmol/l) ou par la sérotonine (247 et 7400 nmol/l) (Figures 13 et 14).

Par contre ces lobes neuro-intermédiaires d'animaux de 8 jours sont capables de sécréter davantage d'ACTH en présence de CRF (Figure 13 et 14)*.

* La discussion relative à ces effets est intégrée dans la discussion de la partie 6 du mémoire.

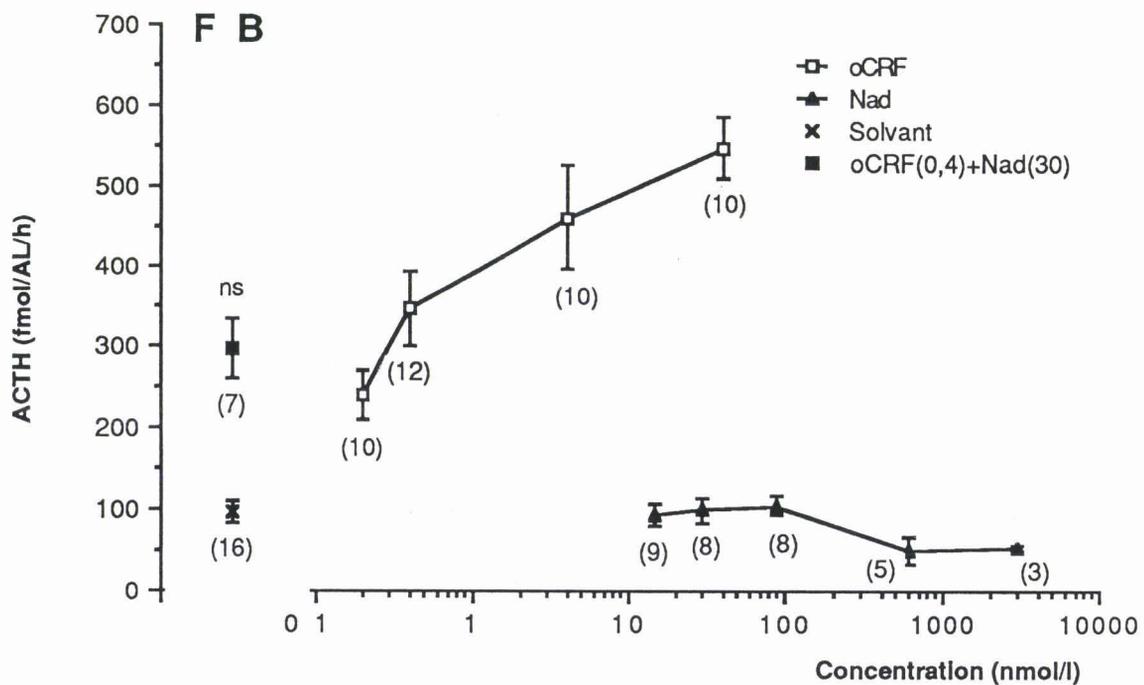
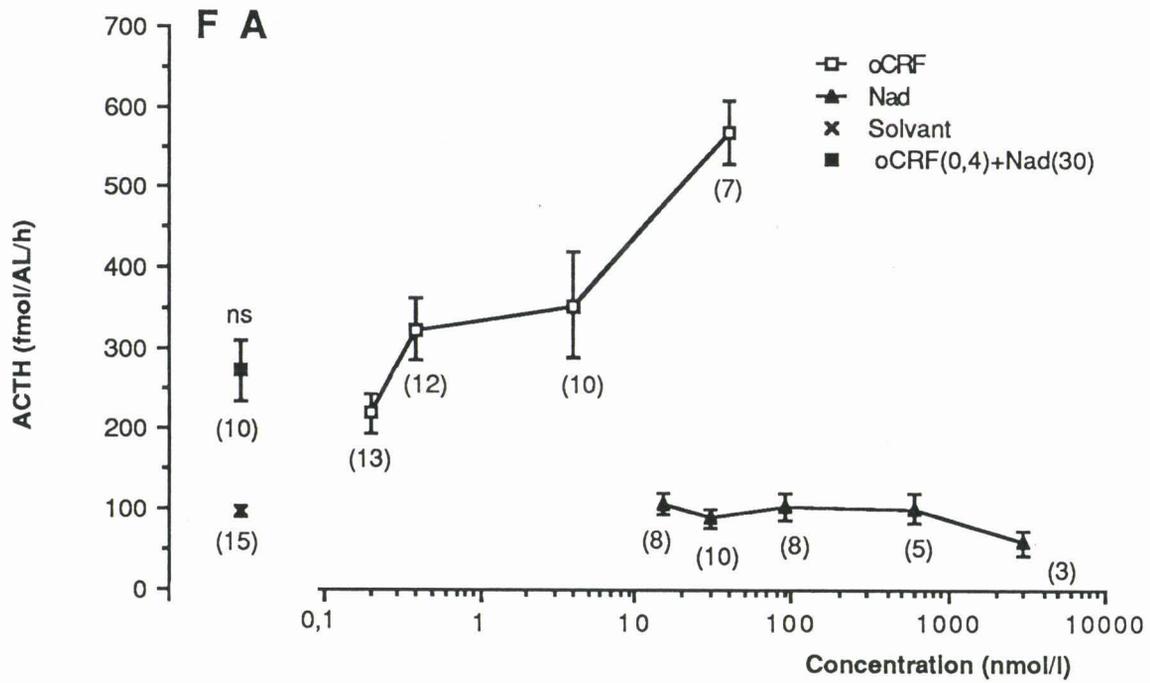


Figure 9: Sécrétion *in vitro* d'ACTH par le lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat femelle (F) de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième (B) heure d'incubation en présence de CRF ovin (oCRF) ou de noradrénaline (Nad) ; concentration en nanomoles par litre (nmol/l).
Moyennes \pm e.s.m.

Comparaison vs oCRF (0,4nmol/l) ns p>0,05

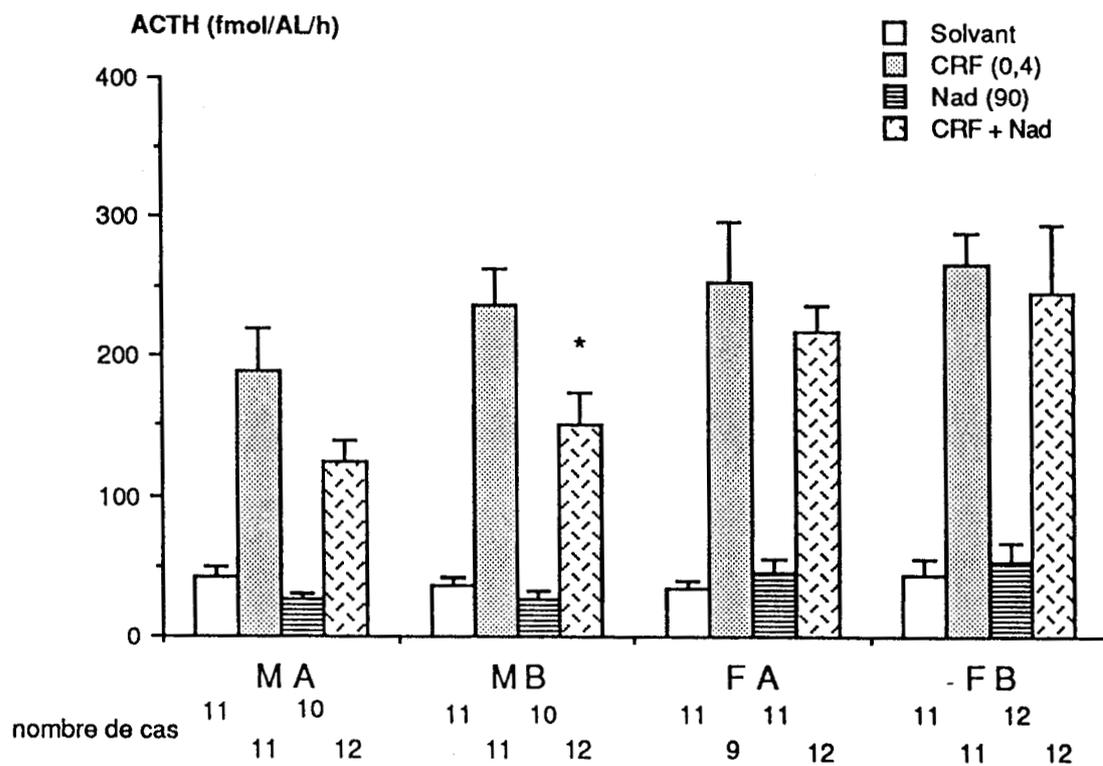


Figure 10: Sécrétion *in vitro* d'ACTH par le lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat mâle (M) ou femelle (F) de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième heure (B) d'incubation en présence de CRF de rat (CRF) et/ou de noradrénaline (Nad) ; concentration en nanomoles par litre
Moyennes \pm e.s.m.

Comparaison

*

$p < 0,05$

vs CRF

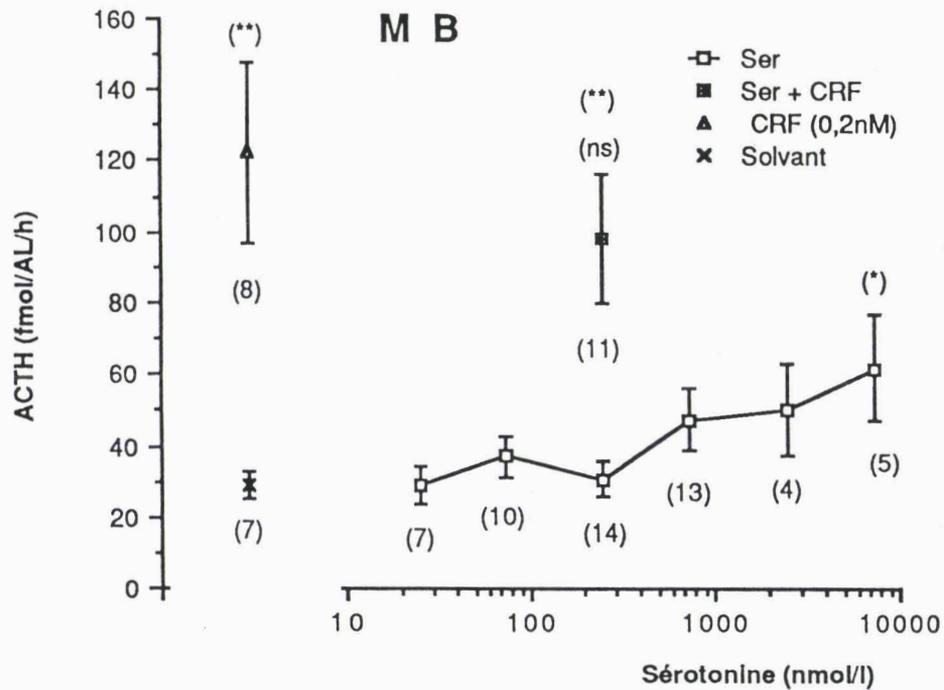
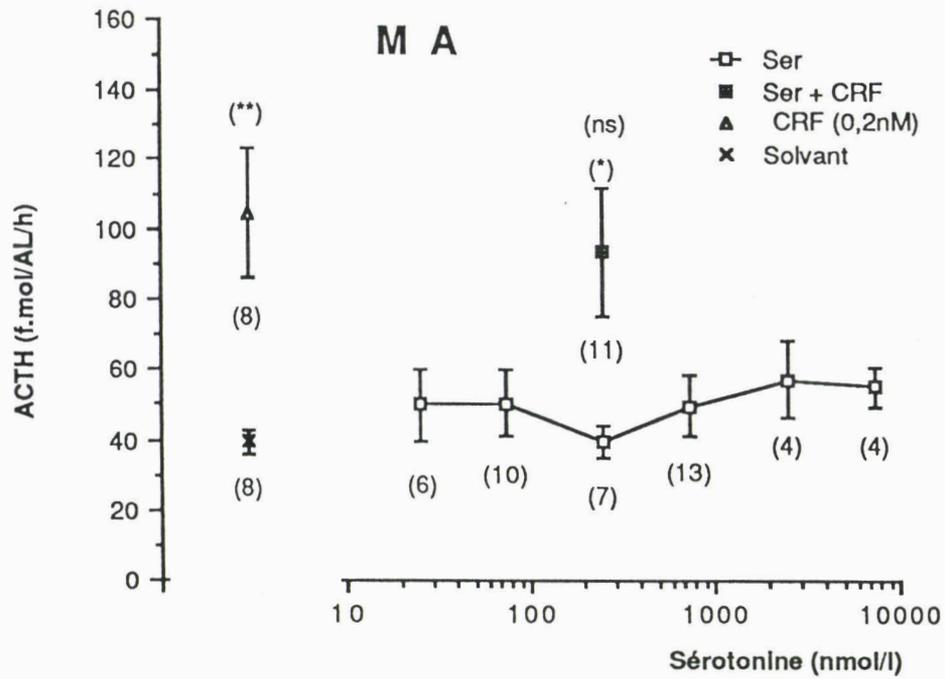


Figure 11: Sécrétion *in vitro* d'ACTH par le lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat mâle (M) de 8 jours au cours de la première (A) et de la deuxième (B) heure d'incubation en présence de CRF de rat (CRF) et/ou de sérotonine (Ser) ; concentrations en nanomoles par litre (nmol/l)

Moyennes ± e.s.m.

Comparaisons	p>0,05	p<0,05 (*)	p<0,01 (**)
vs solvant			(**)
vs CRF	(ns)		

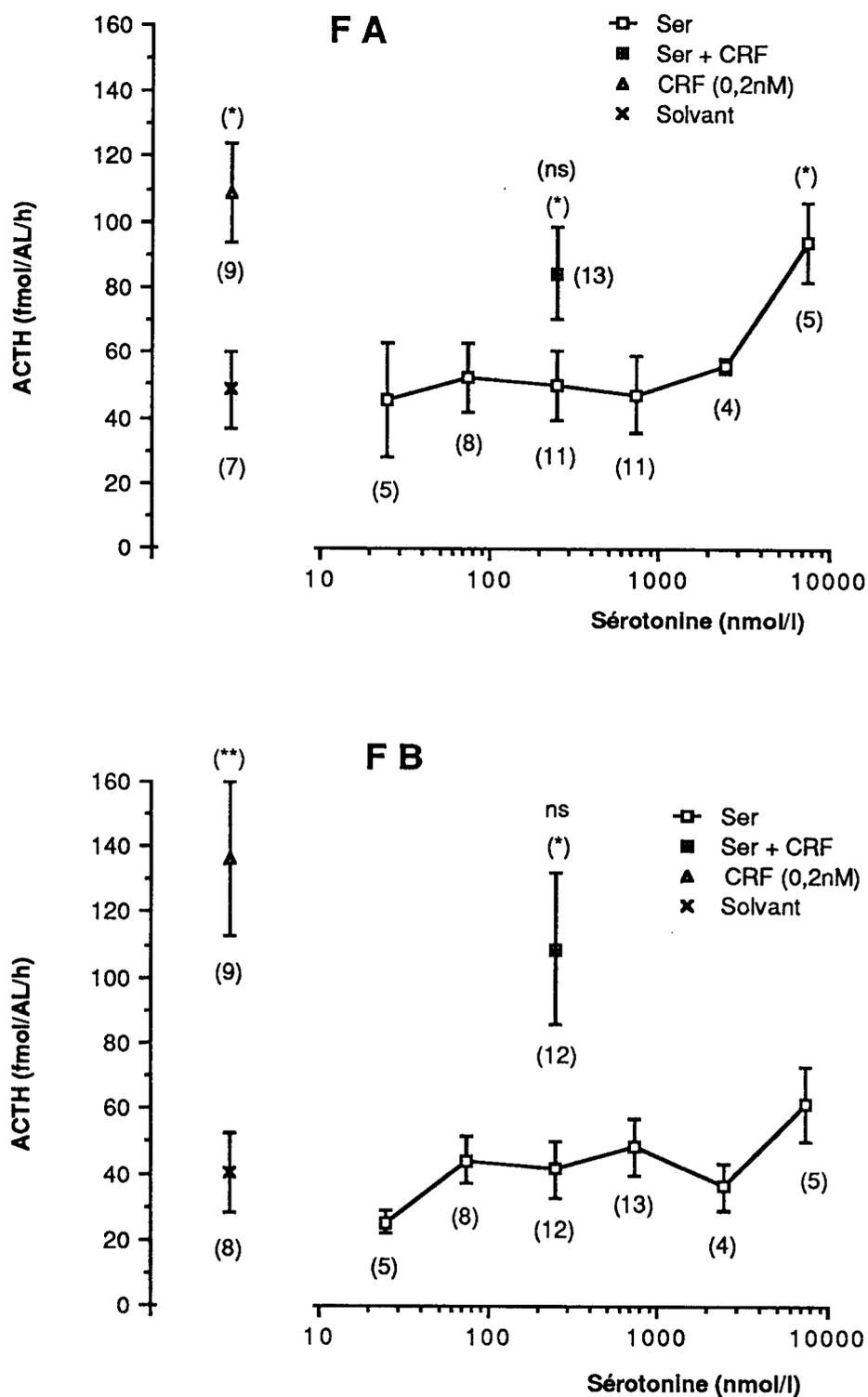


Figure 12: Sécrétion d'ACTH *in vitro* par le lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat femelle (F) de 8 jours au cours de la première (A) et de la deuxième (B) heure d'incubation en présence de CRF de rat (CRF) et/ou de sérotonine (Ser) ; concentrations en nanomoles par litre (nM)

Moyennes \pm e.s.m.

Comparaisons

vs solvant

vs CRF

$p > 0,05$

(ns)

$p < 0,05$

(*)

$p < 0,01$

(**)

() nombre de cas

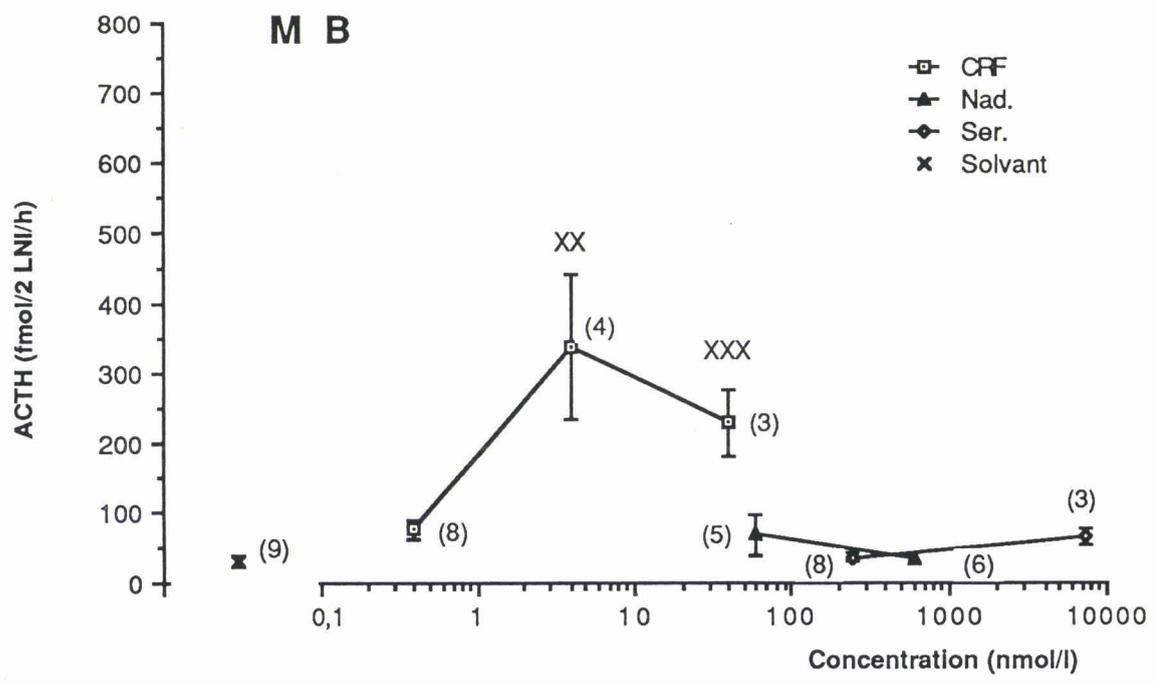
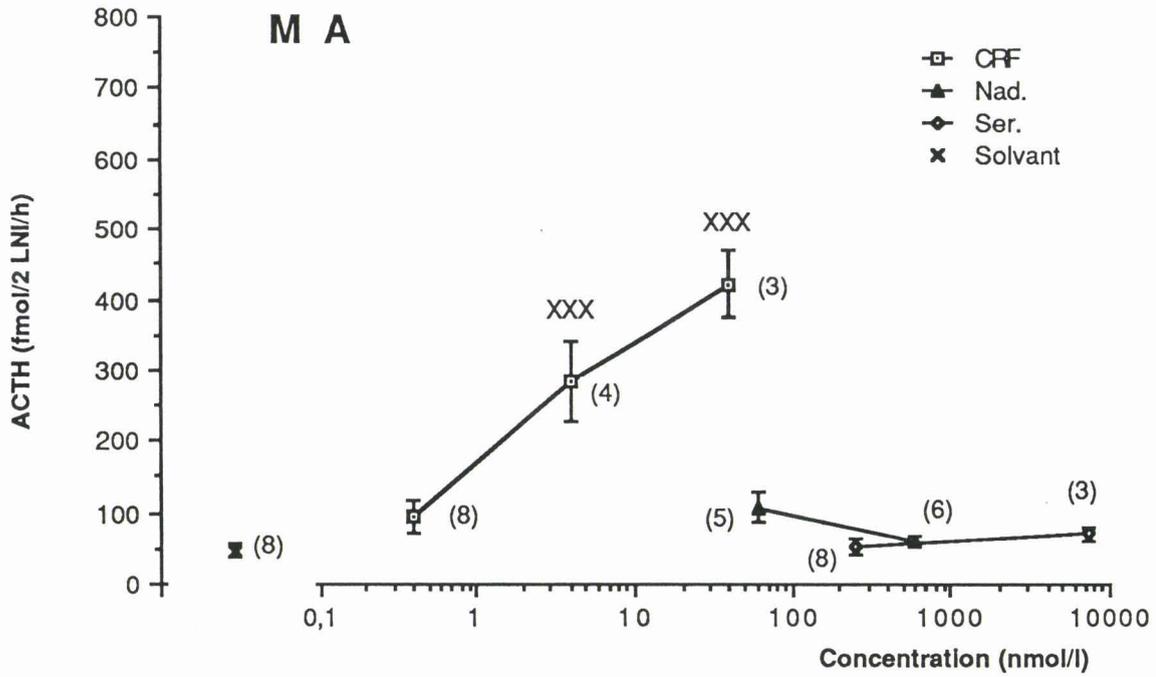


Figure 13: Sécrétion d'ACTH *in vitro* par deux lobes neuro-intermédiaires (LNI) d'hypophyses de rats mâles (M) de 8 jours au cours de la première (A) et de la deuxième (B) heure d'incubation en présence de CRF de rat (CRF), de noradrénaline (Nad) ou de sérotonine (Ser); concentrations en nanomoles par litre (nmol/l)

Moyennes ± e.s.m. () nombre de cas

Comparaison vs solvant	p<0,05 x	p<0,01 xx	p<0,001 xxx
------------------------	-------------	--------------	----------------

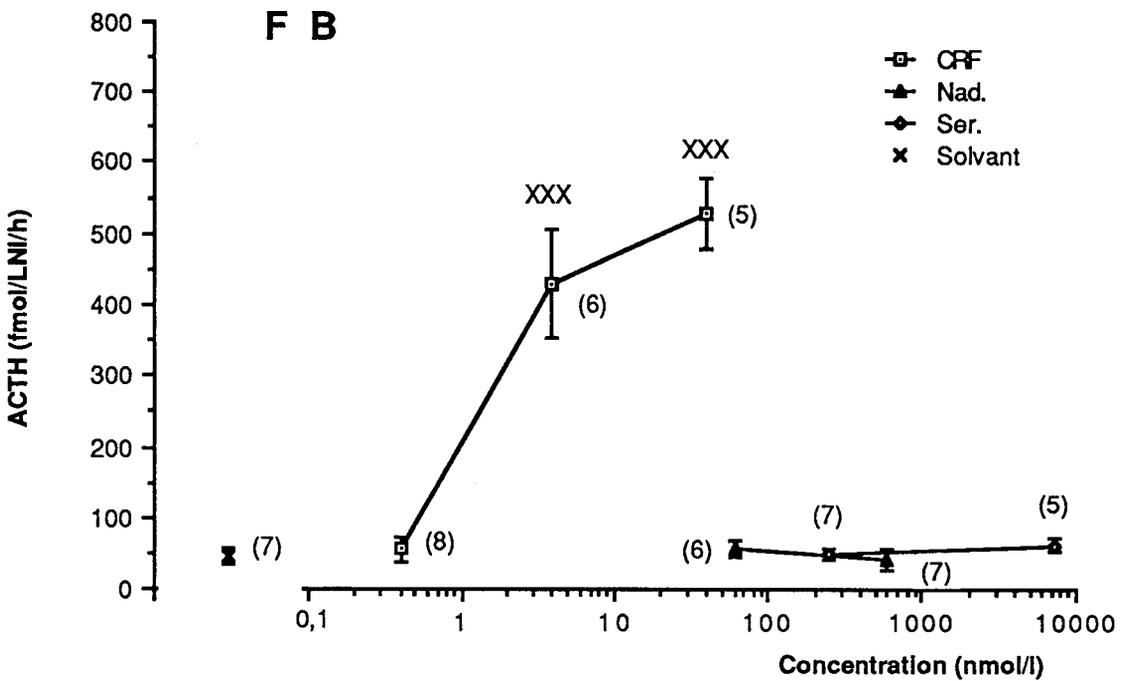
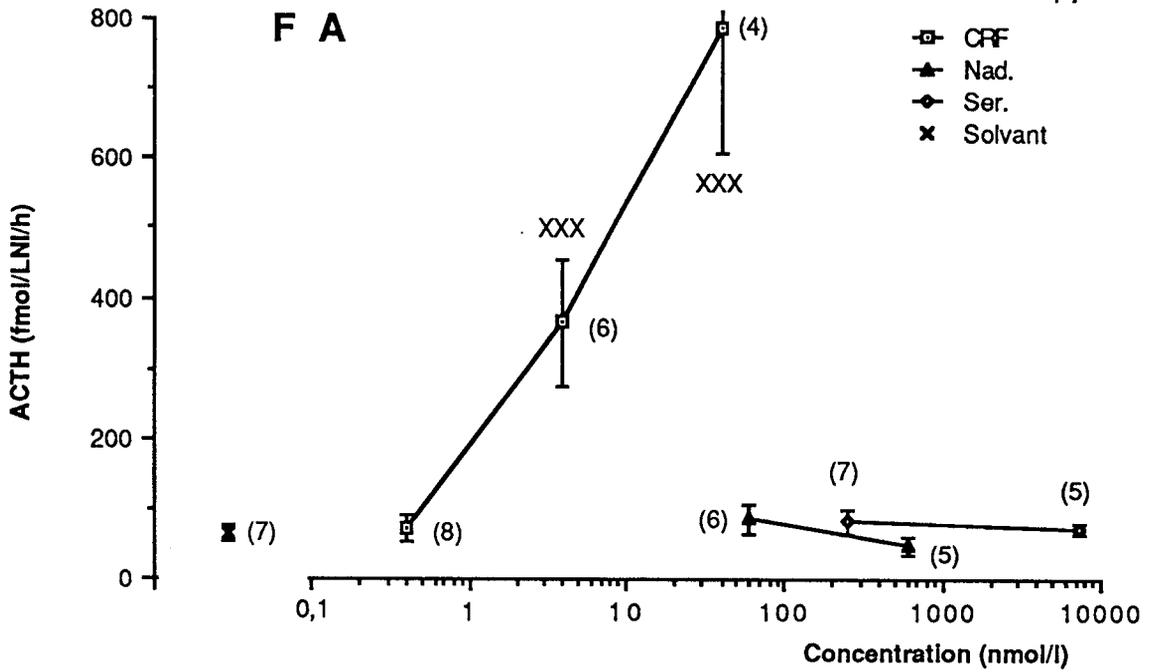


Figure 14: Sécrétion d'ACTH *in vitro* par deux lobes neuro-intermédiaires (LNI) d'hypophyses de rats femelles (F) de 8 jours au cours de la première (A) et de la deuxième (B) heure d'incubation en présence de CRF de rat (CRF), de noradrénaline (Nad) ou de sérotonine (Ser); concentrations en nanomoles par litre (nmol/l)

Moyennes ± e.s.m.

() nombre de cas

Comparaison
vs solvant

p<0,05
x

p<0,01
xx

p<0,001
xxx

5-4 Discussion

Les résultats des travaux rapportés dans cette partie concernant les effets de la noradrénaline sur la sécrétion d'ACTH montrent (1) *in vivo*, un effet propre stimulant très puissant et un effet potentialisateur sur la réponse au stress à l'éther (2) *in vitro*, pour les doses testées, une absence d'effet direct au niveau des lobes antérieurs et neurointermédiaires et un effet légèrement inhibiteur sur la sécrétion d'ACTH induite par le CRF sur le lobe antérieur du nouveau-né mâle. Ces effets *in vivo* et *in vitro* sont partiellement contradictoires, ils sont à rapprocher des discordances citées dans l'introduction concernant le rôle de la noradrénaline en particulier et des catécholamines en général, sur le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, à l'état basal ou stimulé par un stress.

Chez le rat adulte l'administration intrapéritonéale de noradrénaline induit une sécrétion importante d'ACTH (SHIMIZU, 1984) dont le mécanisme reste à définir. L'existence d'une composante noradrénergique centrale stimulante de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien repose sur le fait qu'une injection intraventriculaire de noradrénaline induit une sécrétion accrue d'ACTH (GIGUERE et coll. 1981; SZAFARCZYK et coll. 1987). Une telle influence centrale est également possible chez le nouveau-né, après administration périphérique de noradrénaline dans la mesure où, la barrière hémato-encéphalique n'étant pas encore fonctionnelle, un passage de cette amine vers les structures nerveuses centrales est vraisemblable.

Chez le nouveau-né, l'effet potentialisateur de la noradrénaline sur la réponse hypophysaire à une inhalation d'éther, à une dose qui n'a pas d'effet propre sur la sécrétion d'ACTH, suggère un rôle stimulant de cette substance dans ce type de stress. La mise en jeu d'un système adrénérgique hypothalamique lors du stress à l'éther a été évoquée chez le rat adulte (SMYTHE et coll. 1983; SZAFARCZYK et coll. 1985, 1987), aussi l'administration de noradrénaline pourrait-elle augmenter le potentiel aminérgique et favoriser l'activité hypophyso-stimulante de l'hypothalamus. Ces observations sont en contradiction avec celles d'autres auteurs pour qui il existerait *in vivo* un effet inhibiteur adrénérgique sur le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Si la légère augmentation du taux d'ACTH que nous avons observée avant le stress chez les nouveau-nés traités par la *phénoxybenzamine* peut être rapprochée de celle observée à l'état basal ou lors d'un stress à l'éther chez l'adulte traité par un autre α -bloquant (*prazosine*), (BUCKINGHAM et COOPER, 1987), la plupart des divergences pourraient s'expliquer par des différences de protocole expérimental.

De nombreuses études ont été réalisées soit uniquement à l'état basal hors stress, (SCAPAGNINI et PREZIOSI, 1973; FEKETE et coll. 1978 a; RUDOLPH et coll., 1980; ZACNY et BUGAJSKI, 1984), soit lors d'un autre type de stress comme la laparotomie, (GANONG et coll. 1976). Par ailleurs des études ont été faites chez le chien (VAN LOON et coll. 1971 a; GANONG et coll. 1976), l'animal pouvant être anesthésié (GANONG et coll., 1976), ou chez l'homme (WILCOX et coll., 1975). Enfin dans bien des cas le critère choisi pour objectiver l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien a été l'élévation du taux sanguin de corticostérone (SCAPAGNINI et PREZIOSI, 1973; EISENBERG, 1975; FEKETE et coll. 1978 a; ZACNY et BUGAJSKI, 1984; FELDMAN et coll. 1986) et non un critère plus direct comme celui de l'augmentation du taux sanguin d'ACTH.

Il faut préciser que chez le rat adulte l'activité de la surrénale n'est pas rigoureusement liée à l'élévation de la concentration d'ACTH dans le plasma. En effet l'administration d'un α - ou d'un β -bloquant réduit significativement de plus de 50 % la sécrétion d'ACTH lors d'un stress à l'éther alors que la corticostéronémie ne subit parallèlement qu'une faible diminution non significative (SZAFARCZYK et coll. 1987). Une modification de potentiel adrénérique peut donc affecter à des degrés divers les sécrétions d'ACTH et de corticostérone.

De plus toute modification du potentiel en noradrénaline (par administration de cette amine ou d'agents modifiant sa synthèse, son stockage, son métabolisme ou de substances bloquant les récepteurs adrénériques) n'exclut pas une modification d'action de l'adrénaline, dérivé méthylé de la noradrénaline, également stimulante des récepteurs adrénériques. En particulier l'inhibition de la phényléthanolamine-N-méthyltransférase induit une diminution de la concentration hypothalamique d'adrénaline corrélée à une élévation du taux plasmatique de corticostérone chez des rats normaux ou n'ayant plus de médullosurrénale, ce qui pourrait plaider en faveur d'un tonus inhibiteur de l'adrénaline sur le fonctionnement hypophyso-surrénalien (ROTH et coll. 1981). Inversement, l'adrénaline pourrait stimuler les neurones à CRF lors d'un stress à l'éther (SPINEDI et coll. 1988 b).

Ces derniers éléments de réflexion illustrent déjà bien la difficulté d'intégration de toutes les données relatives au rôle des catécholamines dans le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.

Dans notre étude l'effet potentialisateur de la noradrénaline est aboli par la *phénoxybenzamine* mais non par le *propranolol*, ce qui plaide en faveur d'une médiation via des récepteurs α -adrénériques. La *prazosine* et la *yohimbine*, deux substances α -adrénolytiques, suppriment les effets stimulants d'une administration intraventriculaire ou intrapéritonéale de noradrénaline sur la sécrétion d'ACTH chez

l'animal adulte (SHIMIZU, 1984; SZAFARCZYK et coll. 1987). Un mécanisme adrénérgique et/ou noradrénérgique stimulant impliquant des récepteurs de type α semble donc exister dans le contrôle du fonctionnement hypothalamo-hypophysaire chez le rat nouveau-né.

In vitro, la noradrénaline n'a pas d'effet sur la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur (concentrations comprises entre 15 et 3000 nmol/l) ou par le lobe neuro-intermédiaire (60 ou 600 nmol/l). Ces résultats diffèrent de ceux rapportés par d'autres auteurs chez l'adulte où cette amine stimule la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur à des concentrations de 1 à 10000 nmol/l (RAYMOND et coll. 1981) et par le lobe neuro intermédiaire à des concentrations de 0,1 fmol/l à 0,1 nmol/l (BRIAUD et coll. 1979). Pour ces derniers auteurs des concentrations supérieures à 0,1 nmol/l sont sans effet. En ce qui concerne le lobe intermédiaire, les résultats issus de la littérature sont très contradictoires: absence d'effet (concentration < 10000 nmol/l, KRAICER et MORRIS, 1976), effet inhibiteur (concentration > 10000 nmol/l, KRAICER et MORRIS, 1976) ou effet stimulant (1000 et 5000 nmol/l, VALE et coll. 1978). Un rôle direct de la noradrénaline sur la sécrétion d'ACTH par l'hypophyse n'est pas évident car les concentrations de cette amine nécessaires pour obtenir un effet *in vitro* sur le lobe antérieur sont, à une exception près (RAYMOND et coll. 1981), plus élevées que les taux plasmatiques aussi bien chez l'adulte (1 à 5 nmol/l, état basal ou sous stress, plasma périphérique ou porte-hypophysaire; CRAMER et coll. 1979; GUDELSKY et PORTER, 1979; REYMOND et PORTER, 1982; SIRI et KAUER, 1985; MAKARA et coll. 1986), que chez le nouveau-né (environ 10 nmol/l dans le plasma périphérique; BEN JONATHAN, 1978). Par contre, en ce qui concerne le lobe neuro-intermédiaire, les concentrations stimulantes *in vitro* (BRIAUD et coll. 1979) sont plus faibles que les taux plasmatiques précités.

Ce n'est qu'en présence de CRF que nous avons pu observer un léger effet inhibiteur de la noradrénaline sur la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur d'hypophyse de nouveau-né mâle, mais à une concentration assez forte de 90 nmol/l. Chez l'adulte la sécrétion d'ACTH induite par le CRF est augmentée de façon additive par la noradrénaline au niveau du lobe intermédiaire (VALE et coll. 1983) et par l'adrénaline au niveau du lobe antérieur via un mécanisme α -adrénérgique (GIGUERE et LABRIE, 1983). A côté de ce mécanisme α -adrénérgique susceptible de potentialiser l'effet du CRF sur l'hypophyse antérieure il semble exister un effet du même type via un mécanisme β -adrénérgique (BERKENBOSCH et coll. 1981, 1983; PERKINS et coll. 1985). Des récepteurs β -adrénérgiques sont présents dans le lobe antérieur de l'hypophyse (PETROVIC et coll., 1983; DE SOUZA, 1985). Il faut préciser d'une part que PERKINS et coll. reconnaissent que leurs résultats sont peu reproductibles et d'autre part que les travaux de BERKENBOSCH et coll. ont été effectués sur des hypophysés d'animaux femelles.

L'effet inhibiteur de la noradrénaline *in vitro* sur la sécrétion d'ACTH induite par le CRF observée chez le nouveau-né mâle est donc à opposer aux observations d'effets stimulants additifs des catécholamines sur l'hypophyse de l'adulte, que le mécanisme soit α - ou β -adrénergique, et pose le problème du développement d'une éventuelle sensibilité adrénargique de l'hypophyse du nouveau-né et plus généralement d'une possible interférence entre hormones sexuelles et catécholamines (cf. conclusion générale).

Les effets de l'administration de sérotonine sur la sécrétion d'ACTH *in vivo* sont à rapprocher de ceux observés avec la noradrénaline: effet stimulant sur le taux basal, effet potentialisateur lors du stress à l'éther. Les effets de la sérotonine sur la sécrétion d'ACTH chez le nouveau-né ressemblent à ceux observés chez l'animal adulte puisque cette amine stimule l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (NAUMENKO, 1969; ABE et HIROSHIGE, 1974; FULLER et SNOODY, 1980; GIBBS et VALE, 1983; VAN DE KAR et coll. 1985) et l'inhibition de la synthèse de sérotonine diminue de moitié la réponse en ACTH au stress à l'éther (IXART et coll. 1985). La divergence de ces résultats avec ceux n'impliquant pas un effet stimulant de la sérotonine pourrait s'expliquer par des conditions expérimentales différentes : corticostérone en tant que critère d'activité (DIXIT, 1971; MAROTTA et coll. 1976; FELDMAN et coll. 1984), stress différent (hypoxie et hypercapnie, MAROTTA et coll. 1976), espèce différente (mouton; FREY et MOBERG, 1981). Par ailleurs la diminution de la sérotonine hypothalamique observée par VERMES et TELEGDY (1977) lors d'un stress à l'éther peut être le signe d'une sécrétion dans le sang porte, non incompatible avec l'existence d'un effet stimulant de cette amine sur l'hypophyse.

L'inhibition par la *cyproheptadine* des récepteurs sérotoninergiques chez le nouveau-né mâle bloque l'effet stimulant initial de la *sérotonine* sur la sécrétion d'ACTH des animaux stressés. Un effet comparable est observé chez l'adulte mâle avec un autre inhibiteur des récepteurs sérotoninergiques le *méthysergide* (JONES et coll. 1976). L'absence d'effet de la *cyproheptadine* chez le nouveau-né femelle laisse supposer une différence d'origine sexuelle qui, une nouvelle fois, va dans le sens d'une activité hypophysaire plus élevée chez la femelle que chez le mâle. La *cyproheptadine* ne modifie pas la réponse en ACTH 32 minutes après le début du stress chez les animaux des deux sexes traités par sérotonine. Cette amine n'est peut-être pas la seule à mettre en cause dans une stimulation sérotoninergique de l'hypophyse puisque son principal métabolite, le 5-HIAA, est capable de stimuler la sécrétion d'ACTH chez le mouton (FREY et MOBERG, 1981) et que sa concentration est environ sept fois plus importante que celle de la sérotonine dans le sang porte hypophysaire du rat (JOHNSTON et coll. 1983); s'il en est bien ainsi le blocage sérotoninergique pourrait ne plus être efficace une demi-heure après l'inhalation d'éther.

La sérotonine, aux doses testées *in vitro*, n'a pas eu d'effet sur la sécrétion d'ACTH par le lobe neuro-intermédiaire; elle n'a stimulé le lobe antérieur qu'à une très forte concentration de 7400 nmol/l. Ces résultats sont semblables à ceux observés chez l'adulte où l'effet stimulant de la sérotonine n'apparaît que pour de fortes concentrations aussi bien sur le lobe antérieur (≥ 500 nmol/l; SPINEDI et NEGRO-VILAR, 1983), sur le lobe intermédiaire (≥ 1000 nmol/l; KRAICER et MORRIS, 1976) ou sur le lobe neuro-intermédiaire (1000 nmol/l; LAMBERTS et coll. 1983).

In vivo, un effet direct de la sérotonine circulante sur l'hypophyse est à priori à exclure puisque les taux plasmatiques périphériques et porte-hypophysaires sont de l'ordre de 10 nmol/l chez l'adulte (JOHNSTON et coll., 1983), bien plus faibles que les concentrations nécessaires pour stimuler *in vitro* l'hypophyse chez l'adulte comme chez le nouveau-né.

L'interprétation d'un effet adrénérgique ou sérotoninergique sur le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien est complexe dans la mesure où plusieurs sites peuvent être à priori impliqués (hypothalamus, hypophyse, surrénales) et où plusieurs mécanismes peuvent coexister à l'intérieur d'un même "système aminérgique", selon les conditions de stimulation. Cette complexité peut être illustrée par quelques observations relevées dans le domaine adrénérgique.

Les différents types de récepteurs adrénérgiques peuvent être différemment mis en cause. Nous avons vu dans l'introduction et précédemment dans la discussion que des récepteurs adrénérgiques de type α ou de type β pourraient intervenir chez l'adulte dans la stimulation hypothalamique et/ou hypophysaire. Il semble en être de même chez le nouveau-né dans la mesure où nous avons montré un effet stimulant de type α -adrénérgique sur la sécrétion d'ACTH et où une activation des récepteurs β peut être impliquée dans une libération de CRF par des cellules hypothalamiques (WIDMAIER et coll. 1989). Les deux types de récepteurs adrénérgiques, α et β , interviennent dans l'augmentation de sécrétion de CRF induite *in vivo* chez le rat par l'adrénaline (PLOTSKY et coll. 1987). Les deux types de récepteurs α semblent être concernés: le récepteur de type α_1 , classiquement post-synaptique, pourrait expliquer, pour le moins, un certain nombre d'effets stimulants adrénérgiques alors que le type α_2 , classiquement pré-synaptique et exerçant un rétro-contrôle négatif sur la sécrétion de noradrénaline, pourrait permettre d'expliquer les effets inhibiteurs sur l'activité hypothalamique (GANONG et coll. 1976, chez le chien; AL DAMJULI et coll. 1988, chez l'homme). Enfin la dualité d'effet attribuée à la noradrénaline *in vivo* est à rapprocher des observations de PLOTSKY (1987 b). Pour cet auteur l'administration intraventriculaire de 0,1 à 5 nanomoles de cette amine chez le rat entraîne une augmentation du taux de CRF dans le sang porte-hypophysaire; cet effet est

inhibé par un α_1 -bloquant mais non par un β -bloquant. Avec des doses de 10 à 50 nanomoles une diminution de sécrétion de CRF est au contraire observée; cet effet est aboli par un β -bloquant mais non par un α_1 -bloquant. Ces derniers résultats pourraient permettre de concilier les influences stimulantes et inhibitrices décrites dans la littérature pour la noradrénaline sur la fonction corticotrope de l'hypophyse.

Les catécholamines stimulent la sécrétion de CRF au niveau de plusieurs sites hypothalamiques (SZAFARCZYK et coll. 1988) et la question doit être posée du rôle éventuel de chacun d'eux dans la libération de CRF et/ou d'autre(s) substance(s) à activité CRF-like.

De plus le potentiel aminergique peut varier simultanément dans des sens différents selon les secteurs du cerveau comme cela a été démontré pour la noradrénaline lors d'un stress (NAKAGAWA et coll.1981).

L'ACTH et la corticostérone induisent des modifications divergentes du contenu en noradrénaline des noyaux hypothalamiques (FEKETE et coll., 1978 b). L'effet inhibiteur des corticostéroïdes sur les sécrétions hypothalamiques et/ou hypophysaires est influencé par la noradrénaline : *in vitro*, la *dexaméthasone* a un moindre effet inhibiteur sur la sécrétion de CRF en présence de noradrénaline (LAMBERTS et coll. 1986). Des neurones adrénérgiques inhibiteurs pourraient être impliqués dans le feed-back négatif rapide des corticostéroïdes chez le rat (KANEKO et HIROSHIGE, 1978). Chez l'homme, ce feed-back négatif précoce pourrait se transformer en feed-back positif en présence d'un accroissement de noradrénaline libérée au niveau central consécutivement à une administration de *désipramine*, inhibiteur de recaptage de la noradrénaline (FEHM et coll. 1983).

Cette complexité pourrait être encore plus importante chez le nouveau-né en fonction de l'évolution et de la maturation des différents mécanismes de neurotransmission mis en jeu.

Si des influences stimulantes adrénérgique et sérotoninergique semblent bien exister chez le rat nouveau-né, à l'état basal et dans le cas particulier du stress à l'éther, elles semblent comme chez l'adulte se situer à un niveau supérieur hypothalamique ou supra-hypothalamique (un certain nombre d'arguments en faveur de cette hypothèse ont été rapportés dans l'introduction).

**6 SECRETION "IN VITRO" D'ACTH PAR LE LOBE ANTERIEUR DE
L'HYPOPHYSE DE RATS NOUVEAU-NES MALES ET FEMELLES:**

**- EFFETS DU CRF, DE L'AVP, DE L'OCYTOCINE SEULS OU EN
ASSOCIATION.**

D'AGONISTES ET D'ANTAGONISTES VASOPRESSINERGIQUES

**ET D'UN AGONISTE OCYTOCINERGIQUE SEULS OU ASSOCIES A DU CRF,
DE L'AVP OU DE L'OCYTOCINE .**

- EFFETS

6 Sécrétion "in vitro" d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse de rats nouveau-nés mâles et femelles:

- Effets du CRF, de l'AVP, de l'ocytocine seuls ou en association.
- Effets d'agonistes et d'antagonistes vasopressinergiques et d'un agoniste ocytocinergique seuls ou associés à du CRF, de l'AVP ou de l'ocytocine

6-1 Introduction

L'arginine vasopressine (AVP) stimule directement la libération d'ACTH et agit en synergie avec le CRF (corticotropin releasing factor) pour induire la libération d'ACTH par l'hypophyse de diverses espèces de mammifères y compris l'homme (GILLIES et coll. 1978, 1982; ANTONI et coll. 1983 a; VALE et coll. 1983; MURAKAMI et coll. 1984; BUCKINGHAM, 1985; ANTONI, 1986 a ; LABRIE et coll. 1987).

L'ocytocine (OT) est également un régulateur important de la sécrétion d'ACTH dans la mesure où elle potentialise l'action du CRF sur l'hypophyse (ANTONI et coll. 1983 a; GIBBS et coll. 1984; ANTONI, 1986 a). L'effet de l'OT apparaît même plus important que celui de l'AVP (GIBBS et coll. 1984). Cependant des effets inhibiteurs de l'OT ont été rapportés *in vivo* chez le rat mâle (GIBBS, 1986 a) et chez les primates mâles et femelles confondus (KALIN et coll. 1985). Chez l'homme des résultats contradictoires existent en ce qui concerne l'ocytocine. Chez des sujets volontaires masculins, l'OT a un effet inhibiteur sur la sécrétion d'ACTH (LEGROS et coll. 1982; 1984 ; 1987 ; CHIODERA et COIRO, 1987 ; COIRO et coll. 1988). Pour d'autres au contraire elle n'a pas d'influence, aussi bien chez l'homme (LEWIS et SHERMAN, 1985) que chez la femme (SUH et coll. 1986).

Un contrôle multifactoriel de la sécrétion d'ACTH faisant intervenir pour le moins CRF, AVP et OT est fortement probable comme l'ont évoqué en particulier GIBBS (1984 a) et PLOTSKY et coll. (1985 a, b). En effet la sécrétion d'ACTH induite par un stress chez le rat paraît dépendre de la nature de ce stress (voir en particulier GIBBS, 1984 a, 1986 b) et il en est de même pour les sécrétions d'AVP et d'OT (GIBBS, 1984 a, 1986 b-c; KASTING, 1988). Les taux de CRF, d'AVP et d'OT dans le sang porte-hypophysaire sont significativement plus élevés pendant une hémorragie (étude chez le mâle, PLOTSKY et coll. 1985 a). Selon ces derniers auteurs les concentrations portales de ces hormones sont du même ordre de grandeur

que celles efficaces *in vitro* pour entraîner une sécrétion d'ACTH par des cellules hypophysaires en culture.

Par ailleurs les résultats des travaux de SCHWARTZ et VALE (1988) suggèrent l'existence d'une hétérogénéité des cellules corticotropes (les unes sensibles au CRF, les autres à l'AVP et/ou l'OT) ou des mécanismes impliqués dans l'action sur les cellules hypophysaires d'une part du CRF et d'autre part de l'AVP ou de l'OT.

Des études immunologiques chez le rat ont mis en évidence la présence de CRF dans diverses structures du système nerveux central et plus particulièrement dans les noyaux paraventriculaires et supraoptiques ainsi que dans l'éminence médiane (BLOOM et coll. 1982; FELLMAN et coll. 1982; JOSEPH et KNIGGE, 1983; KAWATA et coll. 1983 a); dans cette dernière région les fibres à CRF sont localisées dans la zone externe à proximité de la circulation porte (ANTONI et coll. 1983 b). Il existe aussi dans la zone externe de l'éminence médiane des terminaisons nerveuses à vasopressine (AVP), voire à OT, en contact avec les capillaires du plexus primaires (BURLET et coll. 1979). La présence de CRF, d'AVP et d'OT dans la zone externe de l'éminence médiane (KAWATA et coll. 1983 b) permet d'envisager une possible libération de ces peptides dans la circulation porte-hypophysaire et une action privilégiée de ces neuropeptides sur l'hypophyse antérieure.

De plus a été mise en évidence, dans le noyau paraventriculaire, une colocalisation de CRF et d'AVP (région parvocellulaire, SAWCHENKO et coll. 1984 a) ainsi que de CRF et d'OT (région magnocellulaire, SAWCHENKO et coll. 1984 a; PAPADOPOULOS et coll. 1985). La colocalisation dans le noyau paraventriculaire de CRF et d'AVP est plus fréquemment observée chez le rat (ROTH et coll. 1982) ou le cobaye (TRAMU et coll, 1983) surrénalectomisé; elle concerne plus particulièrement la région parvocellulaire (SAWCHENKO et coll, 1984 b). Une présence simultanée de CRF et d'AVP a été décrite dans des granules sécrétoires de la zone externe de l'éminence médiane (WHITNALL et coll. 1985). Ces observations anatomiques suggèrent une colibération de CRF et d'AVP dans la circulation portale et renforcent la possibilité de synergie de ces deux peptides dans la stimulation de l'hypophyse.

Il semble en fait qu'il existe deux populations distinctes de neurones à CRF selon la présence ou l'absence d'AVP (WHITNALL et coll, 1987). Ces neurones, dont les corps cellulaires sont localisés dans la zone parvocellulaire du noyau paraventriculaire, émettent des projections dans la zone externe de l'éminence médiane (WHITNALL, 1988). De plus il a été suggéré une contribution possible de neurones magnocellulaires AVP(+) et CRF(-) dans la régulation de la sécrétion de l'antéhypophyse; ces fibres sont susceptibles de libérer dans la circulation portale de l'AVP mais non du CRF (HOLMES et coll, 1986). Ainsi le rapport AVP/CRF peut-il être modifié dans diverses circonstances physiologiques et affecter la sécrétion d'ACTH.

Du CRF immuno-réactif a été localisé dans l'hypothalamus et dans l'éminence médiane du fœtus de rat (BUGNON et coll. 1982 a et b ; DAIKOKU et coll. 1984 ; CHATELAIN et coll. 1988).

Dans l'éminence médiane et dans la neurohypophyse du fœtus de rat de l'AVP a été localisée par immuno-histologie (CHOY et WATKINS, 1979; BUGNON et coll. 1982 a et b) et quantifiée par dosage radio-immunologique (HELLER et LEDERIS, 1959, SWAAB et coll. 1977). L'ARN messenger de la vasopressine est détectable dès le 16ème jour de gestation dans le noyau supra-optique (REPPERT et UHL, 1987) et une sécrétion de CRF et d'AVP a été mise en évidence dans le milieu de culture de neurones hypothalamiques de fœtus de rat âgés de 18 jours (CLARKE et coll. 1987). Cependant l'OT apparaît plus tardivement dans le système hypothalamo-neuro-hypophysaire (CASTEL et coll. 1984) en raison d'un délai plus grand dans l'élaboration de la pro-hormone (WHITNALL et coll. 1985). L'hypophyse des fœtus de rat à terme paraît contenir davantage d'arginine-vasotocine que d'ocytocine (SWAAB et coll. 1977). Selon CHOY et WATKINS (1979) l'ocytocine est mise en évidence successivement dans la neurohypophyse 1 à 2 jours après la naissance, dans l'hypothalamus après 4 jours et dans l'éminence médiane à partir de 8 jours post-partum. La teneur du plasma en AVP et OT peut être déterminée par dosage radioimmunologique chez des rats nouveau-nés mâles et femelles au cours des 6 premiers jours de la vie et, au 3ème jour, les taux d'AVP sont significativement plus élevés chez le mâle que chez la femelle alors qu'au 5ème et au 6ème jour les taux plasmatiques d'ocytocine sont comparables dans les deux sexes (CARTER et LIGHTMAN 1986).

Peu de données existent en ce qui concerne les effets du CRF, de l'AVP et de l'OT sur l'hypophyse au cours du développement. L'AVP stimule *in vitro* la libération d'ACTH par des hypophyses de fœtus de rats âgés de 17-19 et 21 jours de gestation, mais elle ne potentialise pas la sécrétion d'ACTH induite par le CRF à partir d'hypophyses de fœtus à terme (21 jours) (DUPOUY et CHATELAIN 1984).

Nous avons précédemment signalé que l'hypophyse du rat nouveau-né de 8 jours sécrète de l'ACTH en réponse à une inhalation d'éther et que la réponse est plus forte chez les femelles que chez les mâles; elle est aussi plus faible chez les nouveau-nés que chez l'adulte.

WILLIAMS et coll. (1985) ont rapporté une différence liée au sexe quant à l'effet d'un stress sur la sécrétion d'AVP et d'OT chez le rat adulte. Ainsi, lors d'une immobilisation forcée chez le mâle il n'y a pas de modification du taux plasmatique d'AVP alors qu'il existe une petite mais significative augmentation de celui d'ocytocine; chez la femelle, une augmentation importante est observée en ce qui concerne l'AVP et l'augmentation de l'OT est beaucoup plus forte que celle observée chez le mâle. Une différence liée au sexe dans la libération ou les effets

de l'AVP et/ou de l'ocytocine pourrait être ainsi évoquée pour expliquer la différence observée entre mâles et femelles dans la réponse de l'hypophyse à un stress chez le rat nouveau-né de 8 jours .

Les observations réalisées chez le rat adulte par plusieurs auteurs (ANTONI, 1984; KNEPEL et coll. 1984 a; BAERTSCHI et FRIEDLI, 1985) suggèrent que les récepteurs hypophysaires de la vasopressine, impliqués dans la stimulation de la sécrétion d'ACTH, ressemblent sans être identiques aux récepteurs de type V_1 (vasculaires et hépatiques), mais différent des récepteurs de type V_2 (rénaux). Ces différences reposent sur les effets locaux d'agonistes et/ou d'antagonistes de la vasopressine ainsi que sur les mécanismes de la transduction du message hormonal qui impliquent soit l'AMPc (récepteur de type V_1), soit le calcium et les phosphoinositols (récepteur de type V_2). Les récepteurs hypophysaires à l'AVP pourraient être de type V_3 (BAERTSCHI et FRIEDLI, 1985) ou simplement nommés V_{1b} (JARD et coll. 1986) pour les différencier des V_{1a} préalablement caractérisés dans le foie et les vaisseaux. Par ailleurs, toujours chez l'adulte, BUCKINGHAM (1987) suggère que l'effet direct de l'AVP sur la libération d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse implique un récepteur de type V_1 , alors que la potentialisation de l'effet CRF pourrait impliquer un autre type de récepteur différent de celui de type V_2 .

Le(s) mécanisme(s) par le(s)quel(s) l'ocytocine stimule directement la sécrétion d'ACTH et potentialise celle induite par le CRF ne semble(nt) pas actuellement élucidé(s), bien qu'un récepteur à l'ocytocine semblable à celui présent au niveau de l'utérus ait été mis en évidence dans le lobe antérieur de l'hypophyse de rat femelle (ANTONI 1986 b).

Dans cette partie du mémoire nous rapportons et discutons les résultats de travaux dont le but était d'estimer les effets propres du CRF, de l'AVP et de l'OT sur la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse du rat mâle ou femelle de 8 jours. De plus, en utilisant des agonistes et des antagonistes des récepteurs à l'AVP et un antagoniste des récepteurs à l'OT, nous avons essayé de voir quels types de récepteurs pourraient être impliqués dans les effets de ces deux neuropeptides sur le lobe antérieur de l'hypophyse.

Nous évoquerons dans la discussion l'effet stimulant du CRF sur la sécrétion d'ACTH par le lobe neuro intermédiaire, résultat qui a été présenté précédemment dans la partie 5 de ce mémoire.

6-2 Protocoles expérimentaux

6-2-1 Détermination des contenus de l'hypothalamus, du lobe neuro-intermédiaire et du plasma périphérique en AVP et ocytocine

Chez des rats de 8 jours indemnes, mâles et femelles, sacrifiés par décapitation ont été prélevés :

- du sang dont le plasma est recueilli après centrifugation,
- le tissu hypothalamique, incluant l'éminence médiane et la tige pituitaire, délimité par le chiasma optique et les corps mamillaires,
- l'hypophyse antérieure et le lobe neuro-intermédiaire

Plasma, tissu hypothalamique et lobe neurointermédiaire ont été stockés aussitôt à - 80° C jusqu'au moment du dosage des hormones.

6-2-2 Incubations de lobes antérieurs d'hypophyses

Les hypophyses sont prélevées sur animaux de 8 jours mâles et femelles, les lobes neuro-intermédiaires sont séparés des lobes antérieurs par dissection sous loupe binoculaire; ces derniers sont alors placés dans le milieu d'incubation contenant une ou plusieurs des substances suivantes selon la séquence décrite ci-dessous.

* Substances utilisées

- CRF de rat (rCRF) (Bachem)
- AVP, (Arg⁸-vasopressine) (Cambridge Research Biochemical Ltd)
- Ocytocine (Cambridge Research Biochemical Ltd)
- Lypressine (Lys⁸-vasopressine) agoniste des récepteurs V₁ et V₂ (V₁⁺ / V₂⁺) vasopressinergiques (Lab. Sandoz, Rueil Malmaison, France).
- dDAVP ([1 deamino-8 D-Arg] vasopressine), agoniste des récepteurs V₂ (V₂⁺) vasopressinergiques.
- BL 2-51 (d-Et₂-Tyr [Me] D AVP), antagoniste des récepteurs vasopressinergiques V₁ (V₁⁻) (Manning et coll. 1985) (fourni gracieusement par le Professeur Manning, Ohio, USA).
- H-53 50 (β mercapto-β, β cyclopentamethylene propionic acid 1,O-Me-Tyr², Arg⁸-vasopressin) (lab. Bachem), antagoniste des récepteurs vasopressinergiques V₁ (V₁⁻).

- MK 4-67 (d [CH₂]₅ [D-Ile², Ile⁴, Ala-NH₂⁹] AVP), antagoniste des récepteurs vasopressinergiques V₂ (V₂⁻) (Sawyer et col. 1988) (fourni gracieusement par le Professeur Manning, Ohio, USA).
- AK 2-60 ([hydroxy Thr⁴, gly⁷] ocytocine) agoniste spécifique des récepteurs ocytocinergiques (Lowbridge et Manning, 1977) (fourni gracieusement par le Professeur Manning, Ohio, USA).

* Séquences expérimentales

a) sur des lobes antérieurs d'animaux mâles et femelles :

- rCRF (0,1 → 20 nmol/l)
- AVP (0,92 → 184 nmol/l)
- ocytocine (0,99 → 198 nmol/l)

b) sur des lobes antérieurs d'animaux mâles et femelles :

- rCRF (0,2 nmol/l), AVP (0,92 nmol/l), ocytocine (0,98 nmol/l):

chaque substance est apportée seule ou en association (rCRF + AVP) ou (rCRF + OT) .

De plus l'association rCRF (0,2 nmol/l) + ocytocine (4,9 nmol/l) a été testée sur des lobes antérieurs d'animaux mâles.

c) sur des lobes antérieurs d'animaux mâles et femelles :

- Lypressine (V₁⁺/V₂⁺ ; 0,9 nmol/l),
- dDAVP (V₂⁺ ; 0,9 nmol/l),
- BL 2-51 (V₁⁻ ; 1,8 nmol/l),
- H-53 50 (V₁⁻ ; 1,8 nmol/l),
- MK 4-67 (V₂⁻ ; 1,8 nmol/l) ,

chaque substance seule ou associée au rCRF (0,2 nmol/l).

- Les antagonistes V₁ [BL 2-51 (1,8 nmol/l), H 53-50 (0,45 et 1,8 nmol/l)] et V₂ [MK 4-67 (0,45 et 1,8 nmol/l)] associés chacun à l'AVP (0,92 nmol/l).

- Chacun de ces 3 antagonistes (1,8 nmol/l) a été mis en présence de l'association rCRF (0,2 nmol/l) + AVP (0,92 nmol/l).

d) sur les lobes antérieurs d'animaux femelles :

CRF (0,2 nmol/l) seul ou associé à l'ocytocine (0,99 nmol/l) + un des 3 antagonistes (1,8 nmol/l).

e) sur des lobes antérieurs d'animaux mâles et femelles :

AK 2-60, agoniste de l'ocytocine (0,3 - 1 - 3 nmol/l) seul ou associé au rCRF (0,2 nmol/l).

6-2-3 Analyses statistiques

Les résultats obtenus concernant les sécrétions d'ACTH dans les différentes conditions expérimentales ont été comparés à l'aide du test-t de Student .

La sécrétion d'ACTH a été exprimée à plusieurs reprises sous forme de "sécrétion nette"; celle-ci désigne alors la différence entre l'ACTH sécrétée en présence d'un peptide et l'ACTH sécrétée dans des conditions basales.

Les relations sécrétion nette d'ACTH et le Logarithme de la dose (rCRF ou AVP) ont été comparées par un test F d'analyse de variance et de régression pour vérifier la linéarité et le parallélisme (BOLTON, 1984).

6-3 Résultats

6-3-1 AVP et ocytocine dans l'hypothalamus, le lobe neuro-intermédiaire et le plasma périphérique

Les contenus en AVP et ocytocine de l'hypothalamus et du lobe neuro-intermédiaire ainsi que les concentrations de ces neuropeptides dans le plasma périphérique sont à l'état de repos comparables chez les rats mâles et les rats femelles âgés de 8 jours (Tableau V).

Tableau V: Contenus de l'hypothalamus, de la neurohypophyse et du plasma périphérique en arginine-vasopressine et en ocytocine chez des rats de 8 jours mâles et femelles.

	MALES	FEMELLES
<u>ARGININE VASOPRESSINE</u>		
Hypothalamus (pmol)	0,816 ± 0,100 (22)	0,882 ± 0,106 (15)
Lobe neurointermédiaire (pmol)	12,56 ± 1,52 (16)	11,77 ± 1,51 (9)
Plasma périphérique (pmol/l)	14,76 ± 7,36 (9)	21,22 ± 11,07 (7)
<u>OCYTOCINE</u>		
Hypothalamus (pmol)	0,561 ± 0,149 (22)	0,818 ± 0,207 (12)
Lobe neurointermédiaire (pmol)	9,18 ± 2,62 (20)	12,52 ± 3,79 (12)
Plasma périphérique (pmol/l)	94,34 ± 12,91 (9)	92,35 ± 11,92 (7)
Moyennes ± e.s.m.	() nombre de cas	

Aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$) n'a été observée entre mâles et femelles pour tous les paramètres mesurés chez les animaux des deux sexes

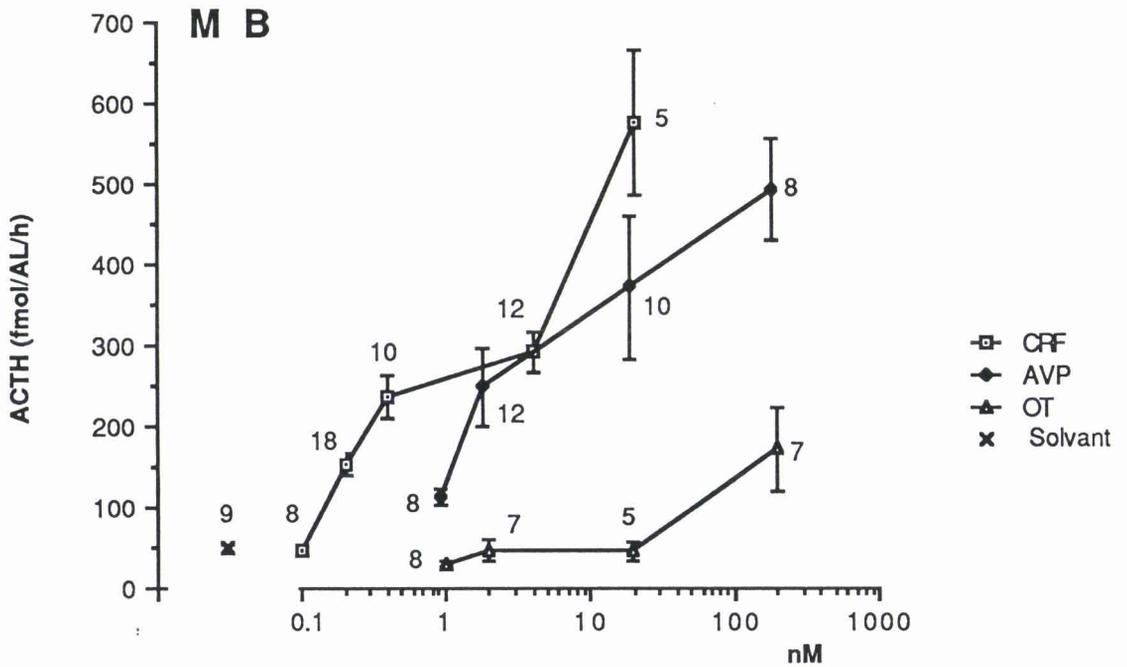
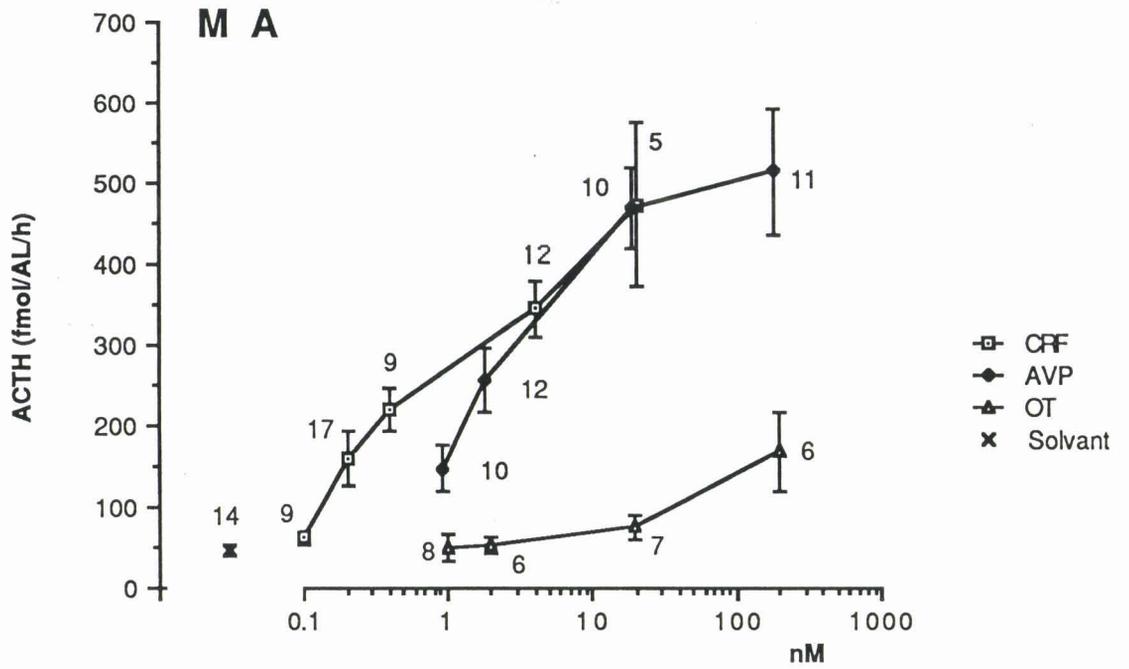


Figure 15: Sécrétion *in vitro* d'ACTH par le lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat mâle (M) de 8 jours au cours de la première (A) et de la deuxième (B) heure d'incubation en présence de CRF de rat (CRF), d'arginine vasopressine (AVP) ou d'ocytocine (OT) ; concentrations en nanomoles par litre (nM).

Moyennes \pm e.s.m.

6-3-2 Effets du rCRF, de l'AVP et de l'ocytocine sur la sécrétion, in vitro, d'ACTH par l'hypophyse antérieure

Le rCRF induit une augmentation significative de la sécrétion d'ACTH (p inférieur au moins à 0,05) chez les mâles et chez les femelles à partir de la dose de 0,2 nmol/l (Figures 15 et fig.16). Pour chaque dose testée, les sécrétions d'ACTH sont comparables pour les deux sexes et pour chacune des deux périodes d'incubation. La comparaison des effets nets observés en fonction du Logarithme de la dose indique l'existence de relations linéaires et parallèles pour la première heure d'incubation. Cependant la non linéarité ne peut être rejetée pour la 2ème heure d'incubation. Les relations linéaires entre l'effet sur la sécrétion d'ACTH et le Log de la dose de CRF sont comparables chez les mâles et les femelles.

A des concentrations de 0,92 à 184 nmoles, l'AVP stimule significativement la sécrétion hypophysaire d'ACTH aussi bien chez les mâles que chez les femelles (Figures 15 et 16). Les relations (effet net) - (Log dose) sont linéaires et parallèles pour les deux périodes d'incubation. La sécrétion d'ACTH par les lobes antérieurs est stimulée par l'AVP de façon semblable dans les deux sexes. Pour l'ocytocine, les résultats sont également comparables dans les deux sexes : un effet significatif n'est observé que pour la dose la plus forte testée (198 nmol/l) (Figures 15 et 16).

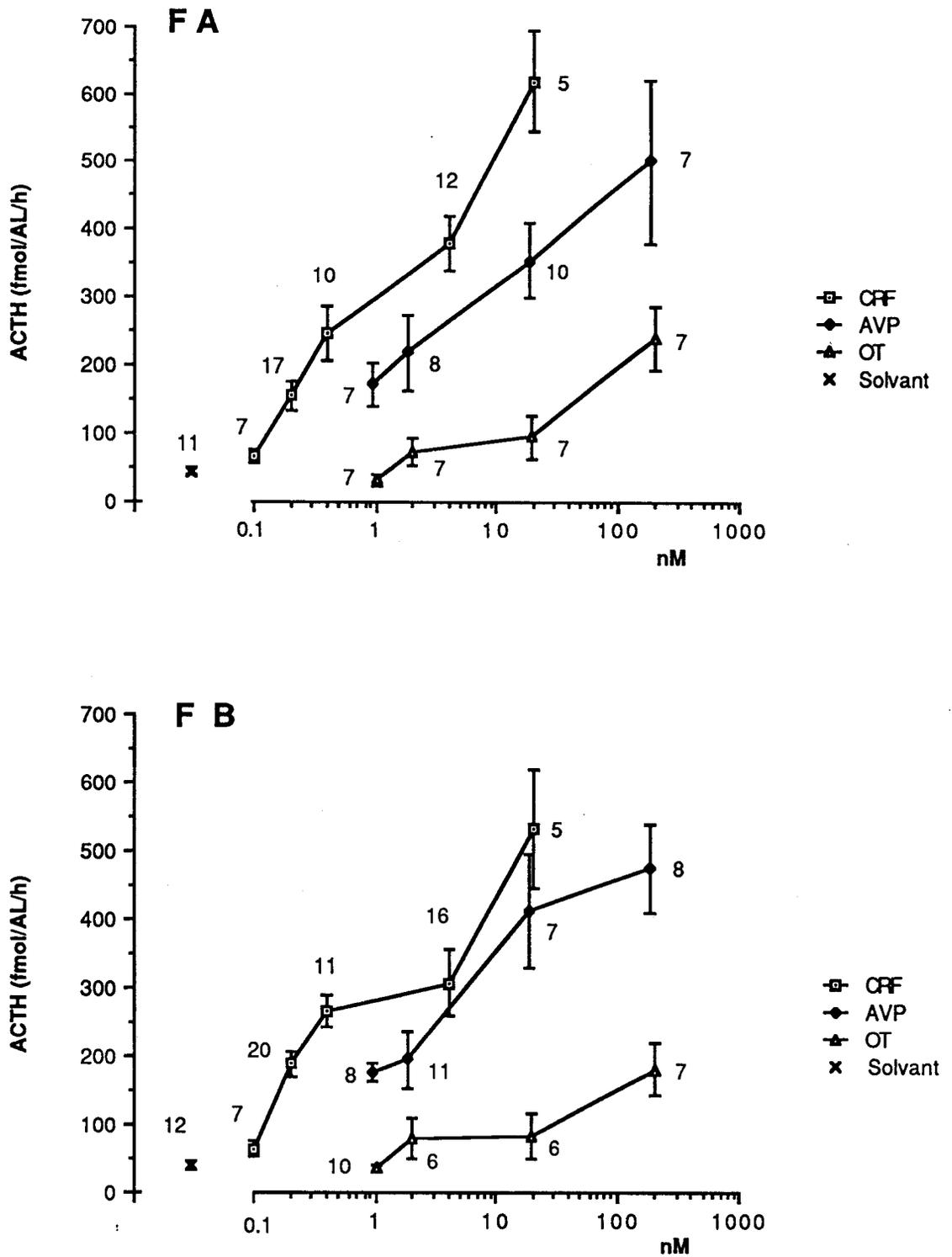


Figure 16: Sécrétion *in vitro* d'ACTH par le lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat femelle (F) de 8 jours au cours de la première (A) et de la deuxième (B) heure d'incubation en présence de CRF de rat (CRF), d'arginine vasopressine (AVP) ou d'ocytocine (OT) ; concentrations en nanomoles par litre (nM)

Moyennes \pm e.s.m.

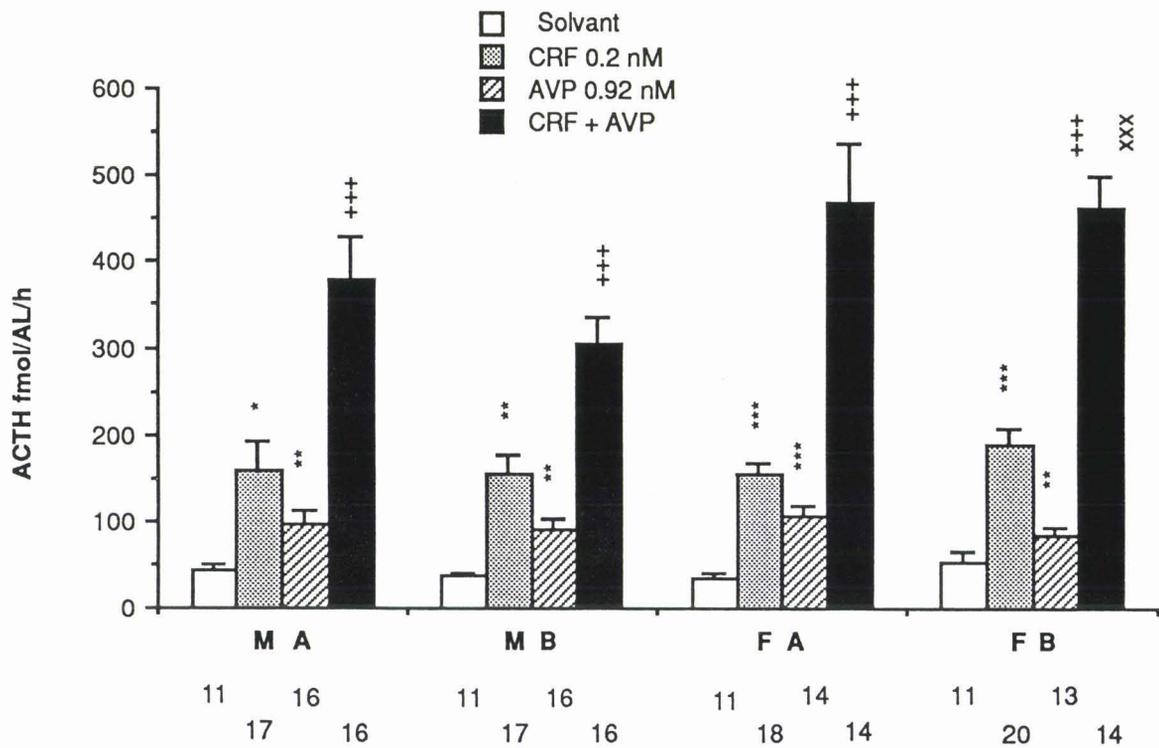


Figure 17: Sécrétion *in vitro* d'ACTH par le lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat mâle (M) ou femelle (F) de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième heure (B) d'incubation en présence de CRF de rat (CRF) et/ou d'arginine-vasopressine (AVP); concentration en nanomoles par litre (nM). Moyennes \pm e.s.m.

Comparaison	p<0,05	p<0,01	p<0,001
CRF ou AVP vs Solvant	*	**	***
CRF+AVP vs CRF			+++
Femelles vs mâles			xxx

6-3-3 Effets de l'AVP et de l'ocytocine sur la réponse au rCRF

La sécrétion d'ACTH à l'état basal, en présence de rCRF (0,2 nmol/l) et en présence d'AVP (0,92 nmol/l) est comparable pour les deux sexes au cours des deux périodes d'incubation (Figure 17).

L'association de rCRF et d'AVP entraîne une sécrétion nette d'ACTH largement supérieure à la somme des sécrétions nettes moyennes induites séparément par chaque peptide (sécrétion nette moyenne d'ACTH avec rCRF seul + sécrétion nette moyenne d'ACTH avec AVP seule) (Tableau VI, 4ème colonne)

Tableau VI : Sécrétions nettes moyennes d'ACTH (fmol/h) par le lobe antérieur d'animaux mâles (M) et femelles (F) en présence de rCRF (0,2 nmol/l) et d'AVP (0,92 nmol/l) seuls; somme de ces sécrétions (S); moyenne des différences entre la sécrétion nette lors de l'association et la somme S des sécrétions nettes moyennes (moyenne \pm esm) (D)

	r CRF	AVP	S = somme rCRF + AVP	D = sécrétion nette lors d'association moins somme S	
MA	116,5	53,5	170,0	167,6 \pm 50,5	
MB	119,4	54,6	174,0	92,8 \pm 33,4	ns vs MA
FA	120,4	71,5	191,9	243,5 \pm 68,5	ns vs MA
FB	135,5	30,9	166,4	243,9 \pm 36,4	ns vs FA , p<0,01 vs MB

A = 1ère heure d'incubation B = 2ème heure d'incubation

Note: les nombres de cas par catégorie expérimentale sont les mêmes que ceux indiqués en Figure 17

L'action potentialisatrice de l'AVP sur la réponse au CRF est comparable pour les deux groupes lors de la première heure d'incubation, mais, lors de la 2ème heure elle est moins importante chez les mâles que chez les femelles (Figure 17 ; Tableau VI).

Les sécrétions d'ACTH à l'état basal, en présence de rCRF (0,2 nmol/l) et en présence d'ocytocine (0,99 nmol/l) sont comparables pour les deux sexes et les deux périodes d'incubation. L'ocytocine n'a pas d'effet à la dose précitée chez les mâles comme chez les femelles (Figure 18); à une dose plus forte (4,95 nmol/l) l'ocytocine n'a pas davantage d'effet chez les mâles.

L'ocytocine ne modifie pas la réponse au rCRF chez les mâles aussi bien à la concentration de 0,99 nmol (Figure 18) qu'à celle de 4,95 nmol (résultats non montrés). Par contre chez les femelles, l'ocytocine potentialise la réponse au rCRF (la sécrétion nette d'ACTH est respectivement 2,21 et 1,75 fois plus élevée que celle due au rCRF seul au cours de la première et de la deuxième heure d'incubation).

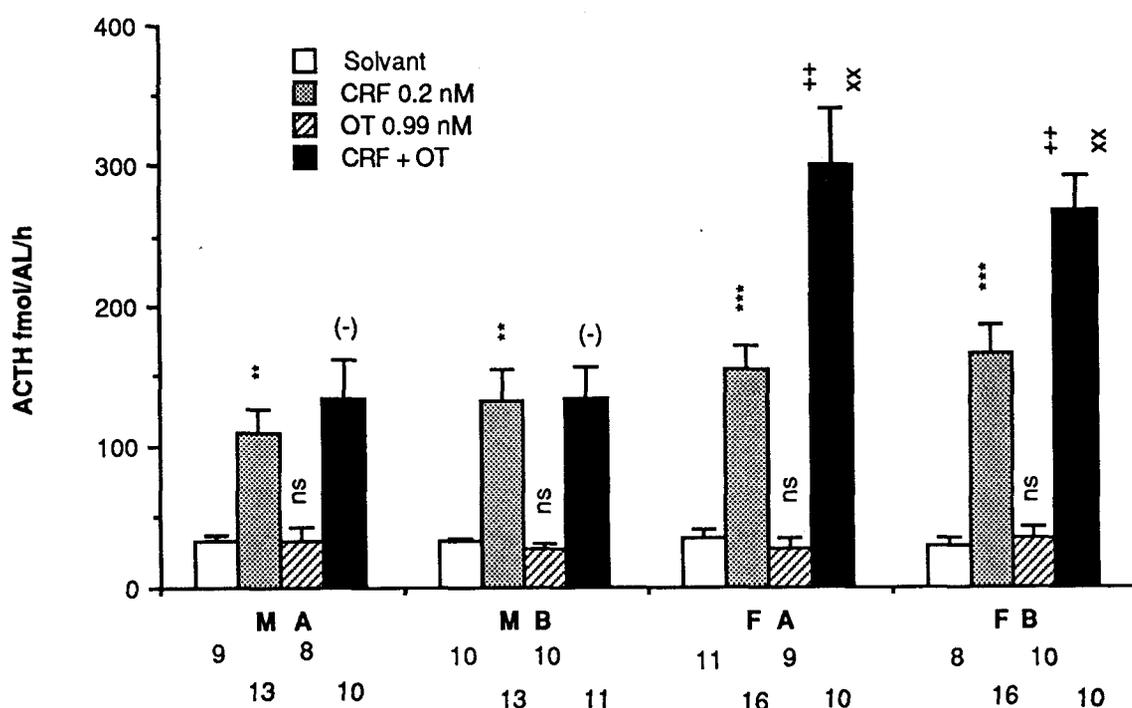


Figure 18: Sécrétion *in vitro* d'ACTH par le lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat mâle (M) ou femelle (F) de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième heure (B) d'incubation en présence de CRF de rat (CRF) et/ou d'ocytocine (OT); concentration en nanomoles par litre (nM)

Moyennes \pm e.s.m.

Comparaison	p > 0,05	p < 0,01	p < 0,001
CRF ou OT vs Solvant	ns	**	***
CRF + OT vs CRF	(-)	++	
Femelles vs mâles		xx	

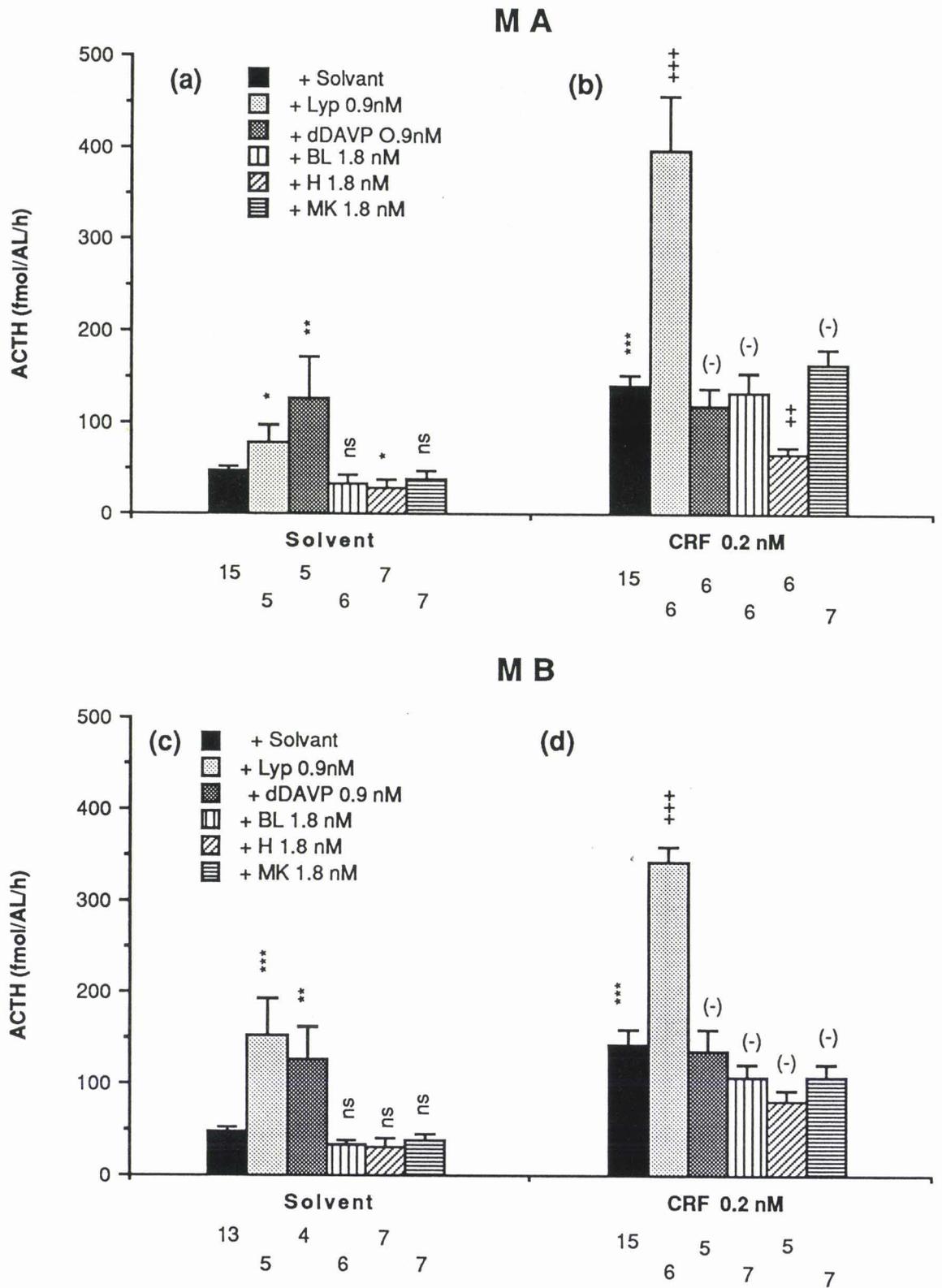


Figure 19: Sécrétion d'ACTH, basale (a,c) ou induite par du CRF (b,d), du lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat mâle de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième heure (B) d'incubation en présence d'agonistes AVP [lypressine (Lyp) et dDAVP] et d'antagonistes AVP [BL 2-51 (BL), H 5350 (H) et MK 4-67 (MK)]; concentrations en nanomoles par litre (nM).

Moyennes \pm e.s.m.

Comparaison	p>0,05	p<0,05	p<0,01	p<0,001
vs Solvant	ns	*	**	***
vs CRF	(-)		++	+++

6-3-4 Effets d'agonistes et d'antagonistes de l'AVP sur la réponse hypophysaire au rCRF et à l'AVP

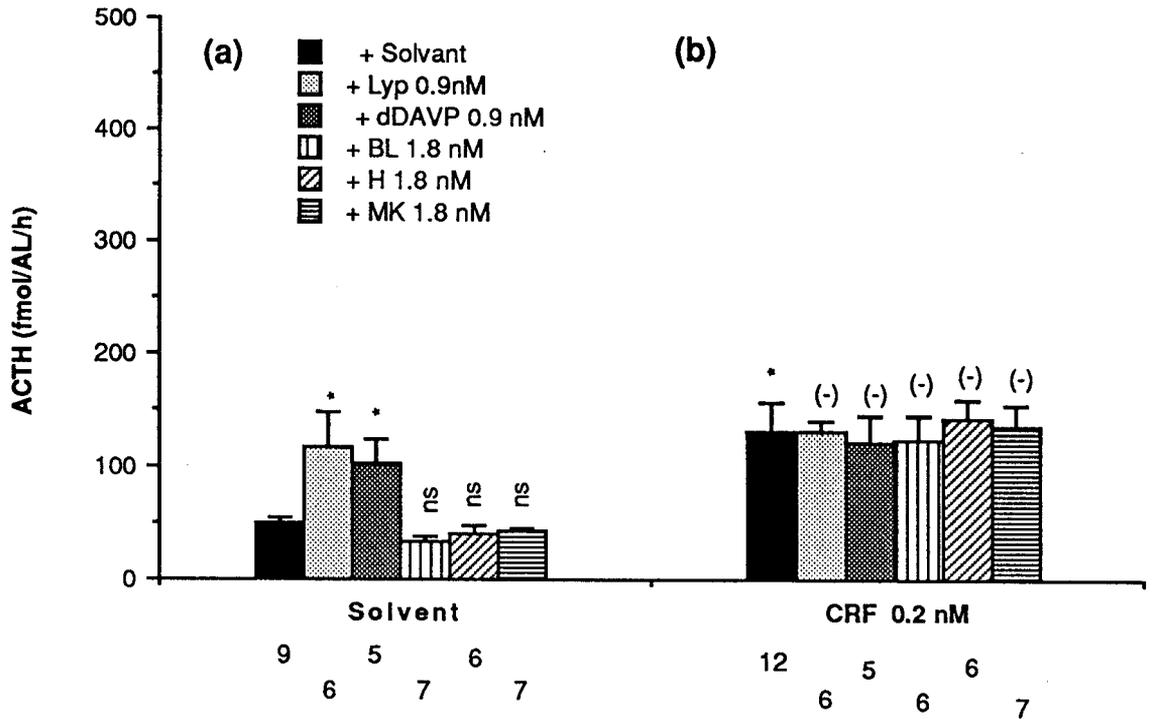
La lyspressine (V_1/V_2 agoniste) et le dDAVP (V_2 agoniste) à la concentration de 0,9 nmol/l stimulent la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur d'animaux mâles et femelles (parties a et c des Figures 19 et 20).

La réponse induite par le rCRF (0,2 nmol/l) est significativement augmentée par la lyspressine chez les mâles (Figure 19, parties b et d), mais non chez les femelles (Figure 20, b et d). Par contre, à la même dose, le dDAVP est incapable de produire le même effet (Figures 19 et 20, parties b et d).

Les deux antagonistes V_1 (BL 2-51 ET H-53 50) et l'antagoniste V_2 (MK 4-67), à la concentration utilisée de 1,8 nmol/l, n'ont généralement pas d'effet sur la sécrétion basale d'ACTH ni sur celle induite par le rCRF (Figures 19 et 20). Ces trois antagonistes, à la dose de 1,8 nmol/l, réduisent ou suppriment, dans les deux sexes, les effets stimulants de l'AVP sur la sécrétion d'ACTH (Figures 21 et 22, parties a et c). A une dose testée plus faible (0,45 nmol/l) l'antagoniste V_1 (H-53-50) et l'antagoniste V_2 (MK 4-67) ne s'opposent pas à l'action ACTH-stimulante de l'AVP dans les deux sexes lors de la 1ère heure d'incubation (Figures 21 et 22, parties a). Un effet stimulant additif est même observé pour ces substances et à ces doses lors de la 2ème heure d'incubation avec l'AVP chez les mâles (Figure 21, c) mais non chez les femelles (Figure 22, c).

La potentialisation par l'AVP de la sécrétion d'ACTH induite par le rCRF est abolie par les 3 antagonistes (V_1 , V_2) à la dose de 1,8 nmol/l (Figures 21 et 22, parties b et d) et la quantité d'ACTH sécrétée est alors comparable à celle observée avec le rCRF seul (comparer respectivement les parties b et d de la Figure 21 à celles de la Figure 19 d'une part, de la Figure 22 à celles de la Figure 20 d'autre part).

F A



F B

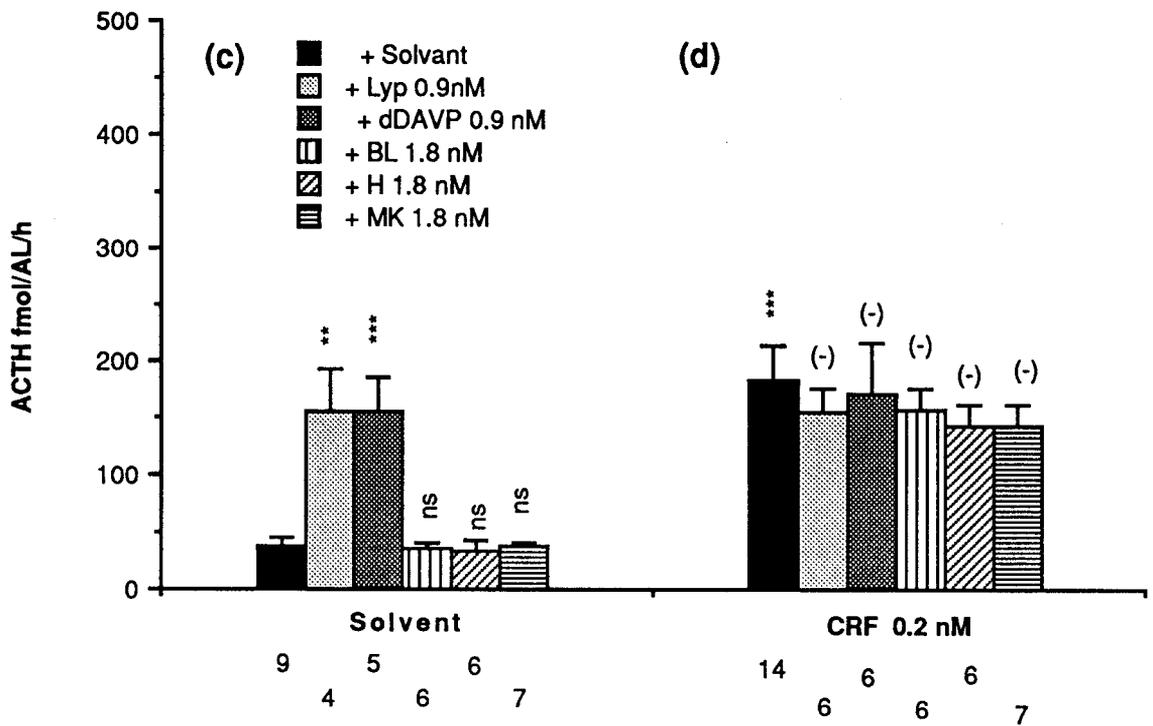


Figure 20: Sécration d'ACTH, basale (a,c) ou induite par du CRF (b,d), du lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat femelle de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième heure (B) d'incubation en présence d'agonistes AVP [lypressine (Lyp) et dDAVP] et d'antagonistes AVP [BL 2-51 (BL), H 5350 (H) et MK 4-67 (MK)]; concentrations en nanomoles par litre (nM).

Moyennes ± e.s.m.

Comparaison	p>0,05	p<0,05	p<0,01	p<0,001
vs Solvant	ns	*	**	***
vs CRF	(-)			

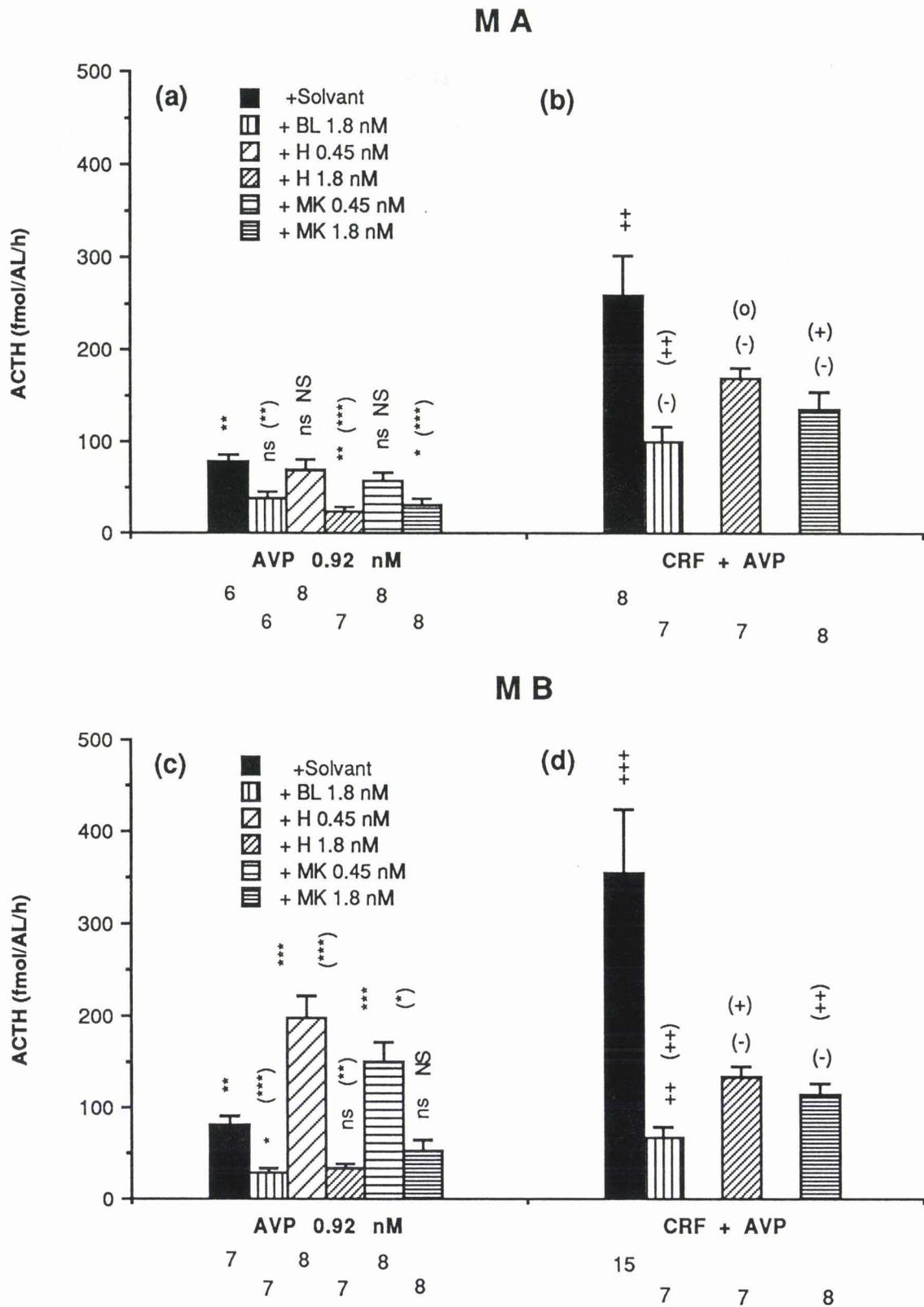
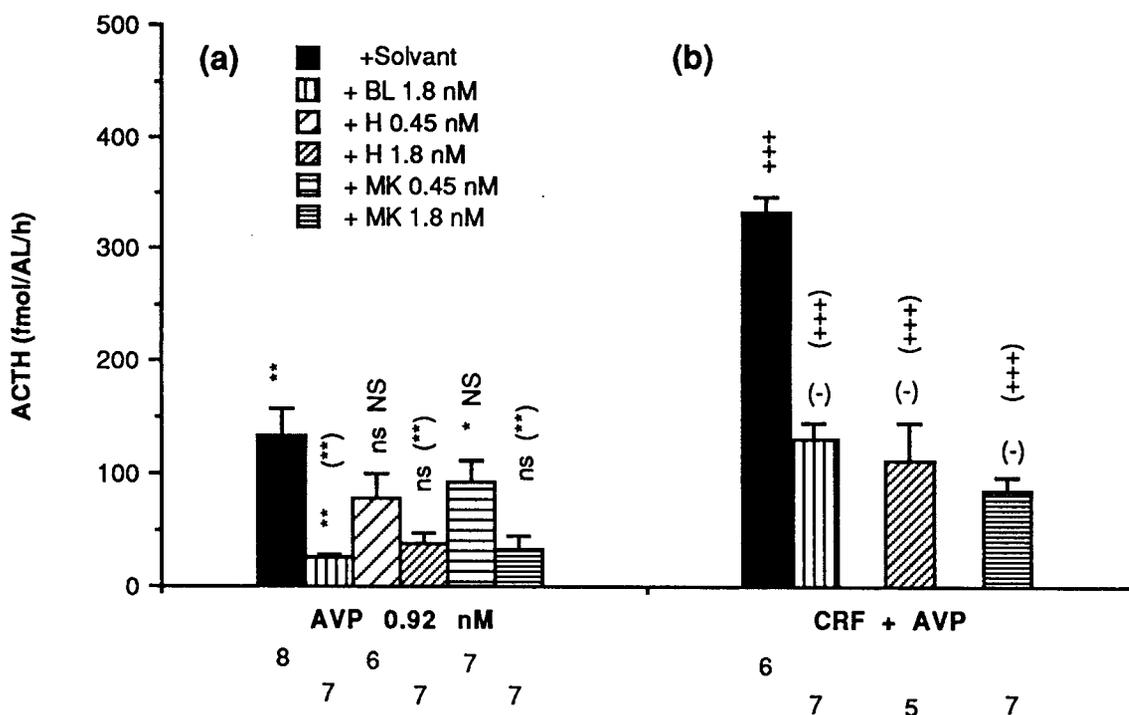


Figure 21: Sécrétion d'ACTH du lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat mâle de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième heure (B) d'incubation en présence d'AVP seul (a,c) ou en association avec du CRF (b,d). Effets d'antagonistes AVP[BL 2-51 (BL), H 5350 (H) et MK 4-67 (MK)] ; concentrations en nanomoles par litre (nM).

Moyennes \pm e.s.m.

Comparaison	p>0,05	p<0,05	p<0,01	p<0,001
vs Solvant	ns	*	**	
vs CRF	(-)	+	++	
vs AVP	NS	(*)	(**)	(***)
vs CRF+AVP	(0)	(+)	(++)	



F B

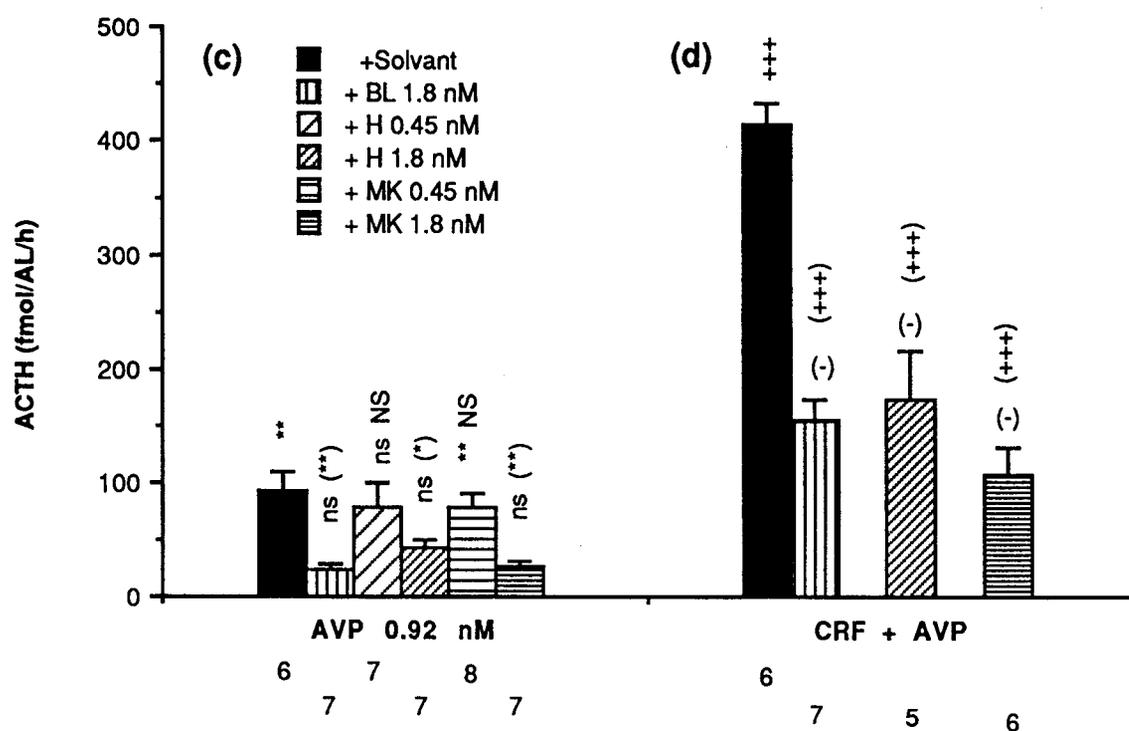


Figure 22: Sécrétion d'ACTH du lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat femelle de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième heure (B) d'incubation en présence d'AVP seul (a,c) ou en association avec du CRF (b,d); effets d'antagonistes AVP[BL 2-51 (BL), H 5350 (H) et MK 4-67 (MK)]; concentrations en nanomoles par litre (nM). Moyennes ± e.s.m.

Comparaison	p>0,05	p<0,05	p<0,01	p<0,001
vs Solvant	ns		**	
vs CRF	(-)			+++
vs AVP	NS	(*)	(*)	
vs CRF + AVP				(+++)

6-3-5 Effets des antagonistes AVP sur la réponse hypophysaire à l'ocytocine chez la femelle

Les deux antagonistes V₁ (BL 2-51 et H-53 50), abolissent l'effet potentialisateur de l'ocytocine sur la sécrétion d'ACTH induite par le rCRF (Figure 23). Les taux d'ACTH sécrétés sont comparables à ceux observés en présence de rCRF seul. L'antagoniste V₂ (MK 4-67) réduit de façon non significative la sécrétion d'ACTH en présence de rCRF + OT (Figure 23); la sécrétion d'ACTH lors de la première heure d'incubation reste significativement plus élevée qu'en présence de rCRF seul.

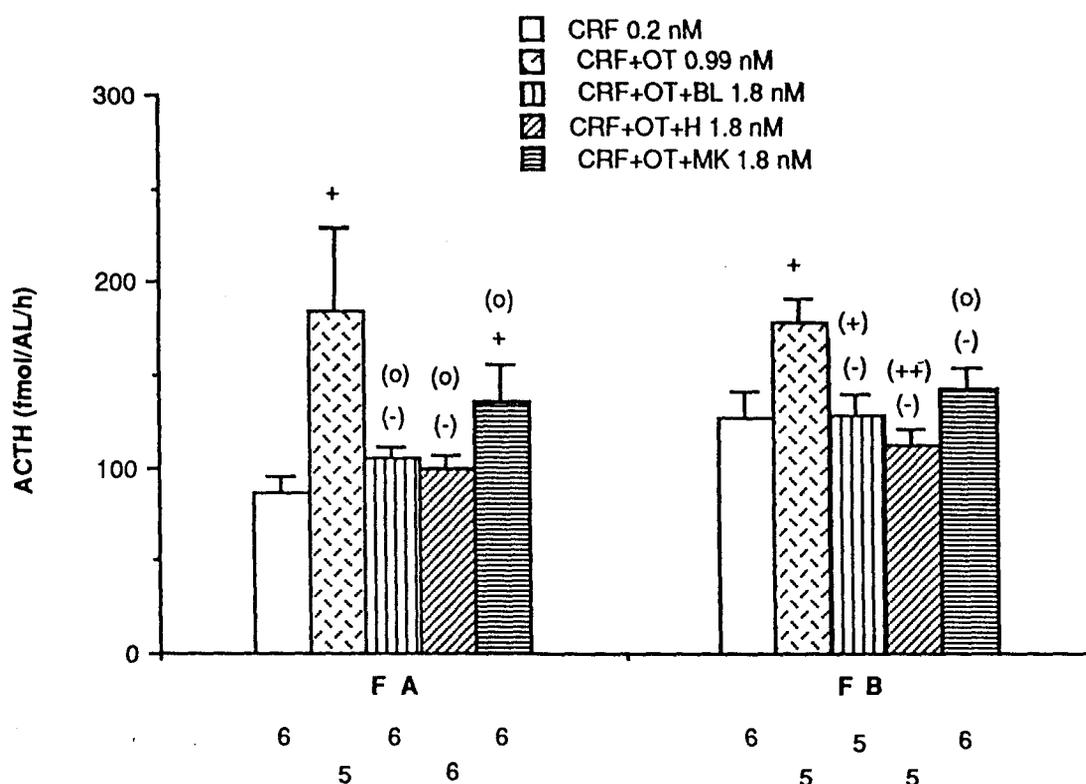


Figure 23: Sécrétion d'ACTH du lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat femelle de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième heure (B) d'incubation en présence de CRF seul, en association avec l'ocytocine (OT), et en association avec ocytocine et un antagoniste AVP [BL 2-51 (BL), H 5350 (H) ou MK 4-67 (MK)]; concentrations en nanomoles par litre (nM).

Moyennes \pm e.s.m.

Comparaison	p>0,05	p<0,05	p<0,01
vs CRF	(-)	(+)	
vs OT + CRF	(o)	(+)	(++)

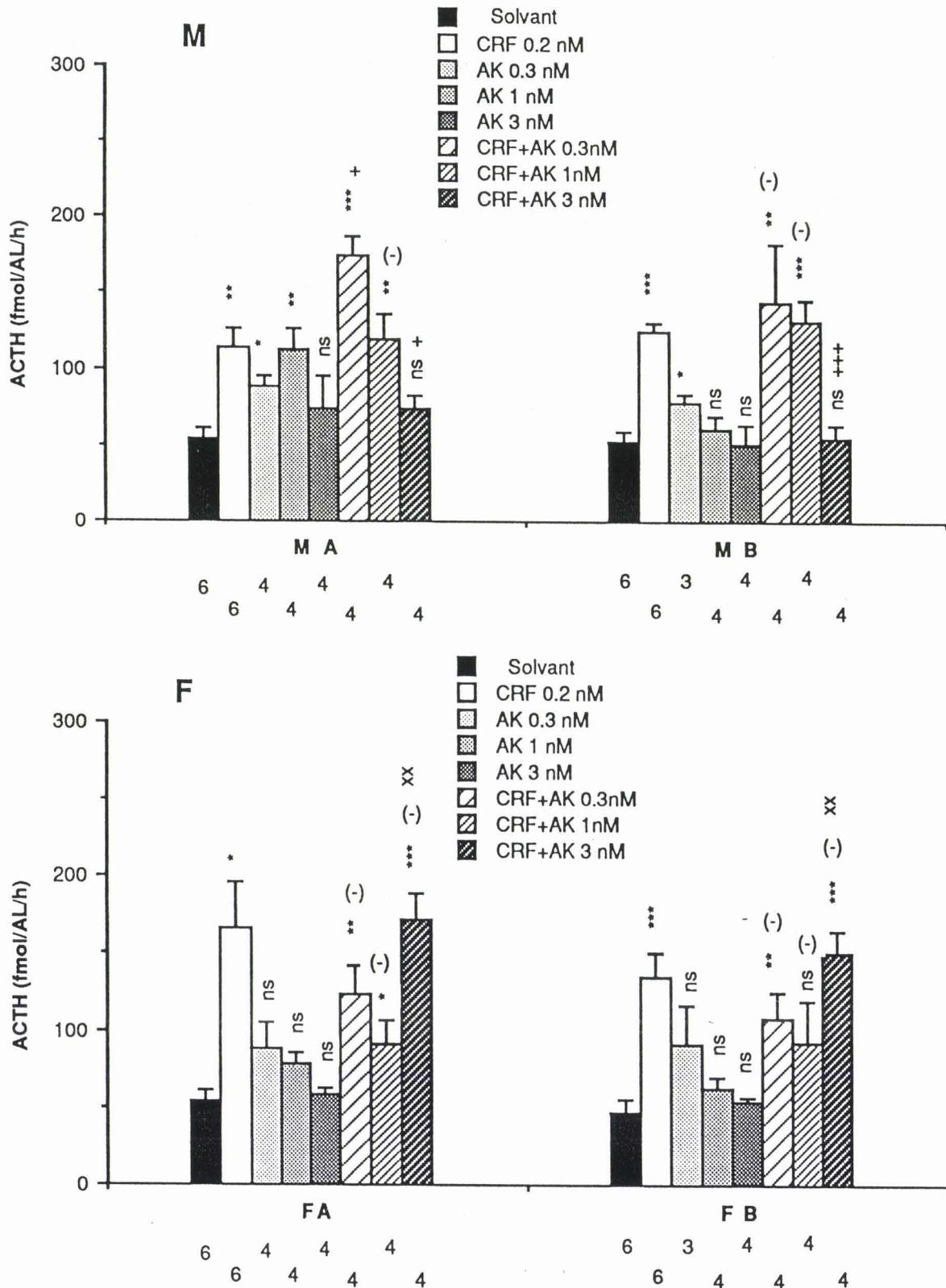


Figure 24: Sécrétion d'ACTH du lobe antérieur (AL) de l'hypophyse du rat mâle (M) ou femelle (F) de 8 jours pendant la première (A) et la deuxième (B) heure d'incubation en présence de CRF et/ou d'un agoniste des récepteurs de l'ocytocine, AK 2-60 (AK); concentrations en nanomoles par litre (nM).

Moyennes \pm e.s.m.

Comparaison	p>0,05	p<0,05	p<0,01	p<0,001
vs Solvant	ns	*	**	***
vs CRF	(-)	+	++	+++
vs male			xx	

6-3-6 Effets d'un agoniste de l'ocytocine sur la sécrétion basale d'ACTH et sur celle induite par le rCRF

L'agoniste de l'ocytocine (AK 2-60) aux concentrations utilisées (de 0,3 à 3 nmol/l) n'a pas, seul, d'effet significatif sur la sécrétion d'ACTH par les lobes antérieurs d'hypophyses femelles (Figure 24, FA); par contre il présente un certain effet stimulant pour les plus faibles doses (0,3 et 1 nmol/l) sur les hypophyses mâles (Figure 24, MA).

Sauf pour la 1ère heure d'incubation chez les mâles et pour la plus faible dose (0,3 nmol/l), l'agoniste de l'ocytocine ne potentialise pas la réponse hypophysaire au rCRF (Figure 24, MA et MB). A la plus forte dose utilisée (3 nmol/l) cet agoniste inhibe la sécrétion due au CRF de rat chez les mâles (Figure 24, MA et MB) mais pas chez les femelles (Figure 24, FA et FB).

6-4 Discussion

Les sécrétions d'ACTH *in vitro* par le lobe antérieur de l'hypophyse à l'état basal ou après induction par CRF sont comparables chez les mâles et les femelles de 8 jours; elles sont semblables à celles observées avec l'hypophyse entière du fœtus à la fin de la gestation, dans les mêmes conditions expérimentales (DUPOUY et CHATELAIN, 1984). En particulier, une concentration de CRF de 0,2 nmol/l induit dans les deux cas une sécrétion d'ACTH 3-4 fois supérieure à celle observée à l'état basal. Cependant la sécrétion basale comme celle induite par le CRF rapportées ici sont beaucoup plus proches de celles observées par les précédents auteurs chez les fœtus de 17 jours que de celles observées chez des animaux d'un âge gestationnel plus élevé pour lesquels les deux types de sécrétion sont plus fortes.

Une comparaison avec la réponse *in vitro* du lobe antérieur de l'hypophyse adulte est extrêmement délicate car elle nécessite de se référer à un protocole expérimental identique aussi bien pour la préparation tissulaire que pour les paramètres d'incubation. Dans la littérature les conditions expérimentales d'études rapportées qui sont les plus proches des nôtres sont celles de ANTONI et coll. (1983 a) d'une part, de BUCKINGHAM (1985) d'autre part. ANTONI et coll. ont utilisé des fragments d'environ 1/8 de lobe antérieur; après 1 heure d'incubation avec du CRF ovin à une dose de 0,5 nmol/l la sécrétion d'ACTH est augmentée d'environ 100 % par rapport à la sécrétion basale. BUCKINGHAM a utilisé des fragments d'environ 1/4 de lobe antérieur; 15 min après incubation avec du CRF ovin à la dose de 5 nmol/l la sécrétion d'ACTH est augmentée d'un facteur 5 environ. Il semble donc que le lobe antérieur de l'hypophyse du rat de 8 jours, mâle ou femelle, soit capable de sécréter de l'ACTH en présence de CRF d'une manière comparable à celle de l'adulte, d'autant plus que pour ce dernier l'échelle des concentrations efficaces de CRF se situe, comme pour nous, entre 0,2 et 40 nmol/l quelles que soient les conditions expérimentales (BÉNY et BAERTSCHI, 1982; GIGUERE et LABRIE, 1982; GILLIES et coll. 1982; VALE et coll. 1983; KNEPEL et coll. 1984 b; BUCKINGHAM, 1985 ; MURAKAMI et coll. 1984; WATANABE et ORTH, 1988).

Un effet stimulant de l'AVP sur la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse est observé à partir d'une concentration de 1 nmol/l. Cet effet est comparable chez les mâles et les femelles. Ces données sont compatibles avec la présence de récepteurs à l'AVP sur des membranes antéhypophysaire de nouveau-nés de 8 jours; ces récepteurs sont en nombre comparable chez les mâles ($B_{max} = 352$ et 118 fmol/mg de protéines)* et chez les femelles ($B_{max} = 327$ et 184 fmol/mg de protéines)*; le K_d est de 6,74 et 1,68 nmol/l (mâles)* et 4,65 et 4,98 nmol/l (femelles)* (résultats préliminaires, non publiés).

* Ces résultats sont issus de 2 expériences (selon la technique décrite par LUTZ-BUCHER et KOCH, 1985) de fixation d'AVP tritiée à 6 concentrations différentes, un point expérimental pour chacune d'elles correspondant à environ 9 LA.

La libération d'ACTH induite par l'AVP est plus importante chez le nouveau-né de 8 jours que chez le fœtus à terme (DUPOUY et CHATELAIN, 1984), pour des concentrations utilisées comprises entre 1 et 200 nmol/l dans les deux cas. Les doses efficaces d'AVP sont également comprises dans cette gamme chez l'adulte (VALE et coll. 1983 ; KNEPEL et coll. 1984 b; BUCKINGHAM, 1985; WATANABE et ORTH, 1988). Une comparaison plus poussée des capacités sécrétoires de l'hypophyse du nouveau-né avec celles d'animaux d'âges différents est délicate. Une comparaison directe des effets ACTH-sécrétoires de l'AVP ne peut se faire que si les conditions expérimentales sont quasi identiques. Une évaluation indirecte peut être réalisée en comparant la sécrétion d'ACTH induite par l'AVP avec celle induite par le CRF. Dans ce cas il est nécessaire de comparer les pentes "effets-doses" et/ou l'effet maximum et/ou les doses efficaces pour obtenir 50% de l'effet maximum . Il faut alors prendre en compte, outre les problèmes expérimentaux, l'opportunité d'une comparaison des effets du CRF et de l'AVP, effets qui ne relèvent pas à priori des mêmes mécanismes d'action.

Nous n'avons pas obtenu ni recherché d'effet maximum. Les relations entre la sécrétion d'ACTH et le Log de la dose d'AVP sont linéaires et superposables pour les mâles et les femelles; ceci suggère que les effets de l'AVP sont comparables dans les deux sexes. Les pentes des droites représentant les effets en fonction des doses ne peuvent, à notre avis, être comparées avec toute la rigueur statistique voulue à celles relatives au rCRF pour plusieurs raisons (récepteurs impliqués différents, doses et nombre de cas non homogènes). Néanmoins ces pentes ont des valeurs très proches de celles obtenues avec le rCRF.

Le CRF et l'AVP, aux plus fortes doses utilisées pour chacun de ces peptides, induisent des sécrétions comparables d'ACTH (500 à 600 fmol/AL/h) par l'hypophyse du rat de 8 jours. Il semble par contre que la réponse à la stimulation par l'AVP soit plus faible que celle résultant de la stimulation par le CRF, aussi bien chez le fœtus en fin de gestation (DUPOUY et CHATELAIN, 1984) que chez l'adulte (BÉNY et BAERTSCHI, 1982; GILLIES et coll. 1982; VALE et coll. 1983; KNEPEL et coll. 1984 a; BUCKINGHAM, 1985; WATANABE et ORTH, 1988; KOCH et LUTZ-BUCHER, 1989). On peut donc émettre l'hypothèse qu'il existe chez le nouveau-né une certaine sensibilisation à l'AVP, susceptible d'entraîner une plus forte réponse hypophysaire, dans la mesure où, par suite du rétrocontrôle négatif exercé par les corticostéroïdes dans la période postnatale et/ou d'une incomplète maturation des neurones à AVP, le contenu en AVP de l'hypothalamus et du sang porte hypophysaire serait plus faible que chez l'adulte. Chez ce dernier, l'absence de corticostéroïdes s'accompagne d'un accroissement de l'AVP associée au CRF dans les neurones parvocellulaires du noyau paraventriculaire et d'une augmentation des taux d'AVP du sang portal (KOENIG et coll, 1986 ; PLOTSKY et SAWCHENKO, 1987). Chez l'adulte, le CRF comme l'AVP sont capables d'induire une régulation homologue ("down regulation") de leurs propres récepteurs hypophysaires (HOLMES et coll. 1984, 1987). A notre connaissance aucune étude de ce type n'a été réalisée chez le nouveau-né.

Pour obtenir avec l'ocytocine une sécrétion d'ACTH comparable à celle observée avec l'AVP il faut utiliser une dose molaire 200 fois supérieure. Or des travaux préliminaires (non publiés) semblent indiquer que l'ocytocine se fixe sur des récepteurs membranaires de l'antéhypophyse du nouveau-né avec un K_d de 1,28 et 2,35 nmol/l et un B_{max} de 33,7 et 38,6 fmol/mg de protéines respectivement pour les mâles et les femelles*. Compte tenu des concentrations nécessaires (> 100 nmol/l) pour stimuler la sécrétion d'ACTH il est possible que cet effet de l'OT puisse s'exercer via des récepteurs différents des récepteurs ocytocinergiques authentiques. Chez l'adulte l'ocytocine a, pour les récepteurs à l'AVP, une affinité environ 1000 fois moindre que l'AVP elle-même (JARD, 1988). On ne peut donc pas exclure à priori, compte tenu du rapport des doses efficaces chez le nouveau-né, que la sécrétion d'ACTH provoquée par l'ocytocine mette en jeu une stimulation des récepteurs à l'AVP.

Comme ici chez le nouveau-né, l'ocytocine est également chez l'adulte un sécrétagogue pour l'ACTH moins puissant que l'AVP (KNEPEL et coll. 1984 a; GIBBS 1986 b ; WATANABE et ORTH 1988). Les plus faibles concentrations de CRF, d'AVP et d'ocytocine utilisées dans notre étude sont probablement physiologiques puisque comparables aux taux relevés dans le sang du système porte-hypophysaire pour le CRF (GIBBS et VALE, 1982, 1983 ; PLOTSKY et coll. 1985 a-b, 1986, 1987), l'AVP (RECHT et coll. 1981 ; GIBBS et VALE, 1983 ; GIBBS, 1985 ; HORN et coll. 1985; PLOTSKY et coll. 1985 a-b, 1987 ; ECKLAND et coll. 1988) et l'ocytocine (GIBBS, 1984 b, 1985 ; PLOTSKY et coll. 1985 a-b ; HORN et coll. 1985 ; ECKLAND et coll. 1988) chez le rat adulte.

Chez l'adulte les concentrations d'OT et d'AVP dans le sang périphérique sont plus faibles que dans la circulation porte-hypophysaire (GIBBS et VALE, 1982 ; GIBBS, 1984 a; 1985); les valeurs pour les deux hormones sont assez proches (environ 50 pmol/l) de celles que nous avons observées. Chez l'adulte cependant les taux périphériques de ces deux peptides sont quasi identiques (GIBBS, 1984 b; HORN et coll. 1985) alors que chez les mâles et les femelles nouveau-nés les taux d'AVP sont respectivement environ 6 et 4,5 fois plus faibles que ceux de l'ocytocine. De plus, les contenus hypothalamiques des deux hormones sont comparables chez le nouveau-né, alors que les taux d'AVP chez l'adulte sont nettement plus élevés que ceux de l'ocytocine dans l'éminence médiane et les noyaux supra-optiques, paraventriculaires et supra chiasmiques (HASHIMOTO et coll, 1985). Cette faiblesse relative du taux d'AVP chez le nouveau-né peut être considérée comme un autre argument en faveur d'une sécrétion postnatale faible qui pourrait résulter d'un rétrocontrôle négatif des corticostéroïdes (hypothèse envisagée précédemment).

* conditions expérimentales semblables à celles précédemment citées pour l'AVP

L'AVP agit en synergie avec le CRF pour induire, comme chez l'adulte (BÉNY et BAERTSCHI, 1982; GILLIES et coll. 1982; ANTONI et coll.1983 a; VALE et coll. 1983; BAERTSCHI et FRIEDLI, 1985; BUCKINGHAM, 1985), une sécrétion accrue d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse d'animaux nouveau-nés des deux sexes. Cette synergie semble néanmoins plus faible chez les mâles que chez les femelles. Ceci pourrait expliquer en partie le fait que la réponse au stress à l'éther est plus faible chez les mâles que chez les femelles.

A des concentrations physiologiques l'ocytocine potentialise la réponse au CRF chez les nouveau-nés femelles mais non mâles. Ces résultats sont donc en contradiction avec ceux relatifs au mâle adulte chez lequel l'ocytocine exerce une certaine potentialisation de l'action du CRF pour des concentrations allant de 1 à 5 nmol/l (ANTONI et coll. 1983 a; GIBBS et coll. 1984; BAERTSCHI et FRIEDLI, 1985). Nos résultats suggèrent que l'ocytocine pourrait intervenir différemment dans la régulation de la sécrétion d'ACTH chez la femelle et chez le mâle nouveau-né. L'adénohypophyse de l'adulte possède des récepteurs spécifiques de l'ocytocine (ANTONI 1986 b). L'absence de réponse du nouveau-né mâle à l'ocytocine pourrait être due à une maturation plus tardive chez les mâles que chez les femelles des récepteurs sur lesquels agit l'ocytocine (récepteurs spécifiques à l'OT ou autres récepteurs).

Chez le rat mâle adulte il a été signalé une dissociation des sécrétions d'ocytocine et de vasopressine au cours de différents types de stress (GIBBS, 1984 a ; KASTING, 1988). Ainsi l'augmentation de la sécrétion d'ocytocine est plus grande chez la femelle que chez le mâle au cours d'un stress par contention (WILLIAMS et coll. 1985). Si une telle différence de sécrétion liée au sexe existe également chez le nouveau-né lors d'un stress à l'éther, associée à une différence d'action de l'ocytocine sur le lobe antérieur de l'hypophyse, la libération d'ACTH plus durable chez la femelle que chez le mâle au cours de ce type de stress pourrait alors s'expliquer aisément et être imputable à l'ocytocine.

Il semble cependant que l'ocytocine tritiée puisse se lier aussi bien aux récepteurs spécifiques de l'ocytocine qu'aux récepteurs de la vasopressine présents dans des suspensions de membranes de lobe antérieur d'hypophyse de rats femelles (ANTONI, 1986 b). Les deux antagonistes V_1 aussi bien que l'antagoniste V_2 utilisés dans notre étude réduisent l'effet potentialisateur de l'ocytocine sur la sécrétion d'ACTH induite par le CRF sur le lobe antérieur de l'hypophyse de nouveaux-nés femelles. Ces données suggèrent que l'ocytocine qui est un ligand pour tous les types de récepteurs V_{1a} , V_{1b} , V_2 de l'AVP (JARD, 1988) pourrait agir par l'intermédiaire des récepteurs de l'AVP pour exercer un effet potentialisateur observé dans nos conditions expérimentales.

Les deux agonistes de l'AVP, la lypressine et le dDAVP, stimulent la libération d'ACTH du lobe antérieur de l'hypophyse de rats nouveau-nés de 8 jours mâles et femelles à une dose molaire proche de celle d'AVP qui a les mêmes effets. Ces données corroborent celles de KNEPEL et coll. (1984 a) relatives à des études sur le lobe antérieur de l'hypophyse de rats adultes mâles. Des études de compétition entre agonistes et AVP ont montré que la lypressine et le dDAVP sont capables de déplacer complètement, à des doses relativement faibles, l'AVP liée à des membranes hypophysaires de rats adultes femelles (LUTZ-BUCHER et KOCH, 1983 ; KOCH et LUTZ-BUCHER, 1985). L'agoniste des récepteurs à l'AVP, le dDAVP, est pratiquement dénué d'activité vaso-constrictrice et a une plus grande activité antidiurétique que l'AVP elle-même (AIZAWA et coll. 1982; SAWYER et MANNING, 1988). Cet agoniste ne différencie que très faiblement les récepteurs V_{1a} , V_{1b} de l'AVP et ceux de l'ocytocine (JARD, 1988). Nos résultats suggèrent donc que cet agoniste spécifique des récepteurs V_2 , le dDAVP, est un puissant secrétagogue de l'ACTH à partir de l'hypophyse de rat de 8 jours des deux sexes. Par contre chez le mâle adulte le dDAVP est dépourvu d'une telle activité *in vivo* (LASZLO et coll, 1983); c'est un faible secrétagogue comparé à un agoniste des récepteurs V_1 (BUCKINGHAM 1987) et il est moins puissant que l'AVP pour activer le métabolisme des phosphatidylinositols sur l'hypophyse antérieure (TODD et LIGHTMAN, 1987). Par ailleurs, à une dose qui permet d'induire une libération d'ACTH, le dDAVP (agoniste V_2), n'est pas capable d'augmenter significativement la réponse induite par le CRF dans les deux sexes. Chez l'homme, le dDAVP ne potentialise pas davantage *in vivo* la sécrétion d'ACTH provoquée par le CRF (GAILLARD et coll, 1988). Chez le rat adulte la potentialisation de l'activité CRF sur le lobe antérieur de l'hypophyse pourrait faire intervenir des récepteurs à la vasopressine différents de ceux de type V_2 (BAERTSCHI et FRIEDLI 1985 ; BUCKINGHAM 1987). Selon KNEPEL et coll. (1984 b) la partie structurale de la molécule nécessaire pour la potentialisation par la vasopressine de l'action du CRF peut être différente de la partie qui confère à la vasopressine la capacité d'induire elle-même une libération d'ACTH en absence de CRF. Pour l'AVP, l'effet propre ACTH-sécréteur d'une part et l'effet potentialisateur de la réponse au CRF d'autre part pourraient s'exercer grâce à des récepteurs vasopressinergiques différents (BUCKINGHAM, 1985).

A l'inverse du dDAVP, la lypressine, stimulant des récepteurs V_1 et V_2 , est capable de potentialiser l'effet du CRF chez le mâle mais pas chez la femelle. L'intervention de récepteurs de type V_1 dans le cas d'une libération d'ACTH induite par l'AVP avait été suggérée par BAERTSCHI et FRIEDLI (1985) dans le cadre d'études sur l'hypophyse de rat adulte mâle; elle a été ensuite confirmée par d'autres auteurs (BUCKINGHAM, 1987 ; TODD et LIGHTMAN 1987). Tous ces travaux concernent exclusivement des animaux mâles. La question reste posée de savoir s'il existe une différence entre mâle et femelle.

Les activités antidiurétiques (via les récepteurs V_2), vasoconstrictrices (via les récepteurs V_1) et ocytociques de la lyspressine et de l'AVP sont très proches chez l'adulte (AIZAWA et coll, 1982). La non similitude d'effet potentialisateur pour ces deux substances à doses quasi identiques chez les nouveau-nés mâles et femelles (à confirmer pour d'autres doses) apparaît surprenante d'autant plus que la différence est dans le sens d'une potentialisation chez le mâle et pas chez la femelle. Afin d'expliquer un effet observé il faut connaître les récepteurs hypophysaires stimulables sélectivement par l'AVP ou l'OT, leur nombre respectif et leur affinité.

La vasopressine stimule directement la libération d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse de rats nouveau-nés des deux sexes et agit en synergie avec le CRF pour potentialiser la sécrétion d'ACTH. Ces deux effets de l'AVP sont abolis chez les mâles et chez les femelles par les deux antagonistes des récepteurs V_1 , BL 2-51 et H-53 50. Ce dernier est considéré par SAWYER et MANNING (1988) comme l'un des plus puissants et des plus sélectifs antagonistes des récepteurs V_1 vasculaires avec une spécificité $VP/AD = 100$ et $VP/OT = 100$ ($VP =$ activité vasoconstrictrice ; $AD =$ activité antidiurétique ; $OT =$ activité ocytocique).

Nos résultats plaident en faveur de l'existence de récepteurs vasopressinergiques ayant la caractéristique pharmacologique de récepteurs de type V_1 dans le lobe antérieur de l'hypophyse de rat de 8 jours.

L'antagoniste des récepteurs V_2 , le MK 4-67, avec une spécificité $AD/VP = 81$ (SAWYER et MANNING, 1988) diminue ou supprime l'effet stimulant de l'AVP sur la sécrétion d'ACTH et abolit l'effet potentialisateur de l'AVP sur la réponse hypophysaire au CRF. Ces données sont compatibles avec la présence, dans l'hypophyse antérieure de rats nouveau-nés, de récepteurs vasopressinergiques ayant des caractéristiques pharmacologiques de récepteurs de type V_2 (rénaux).

Les expériences réalisées avec des antagonistes V_1 et V_2 permettent de supposer que la potentialisation par l'AVP de l'action du CRF pourrait impliquer les deux types de récepteurs ou un type de récepteurs ayant des caractéristiques communes aux récepteurs V_1 et V_2 précédemment décrits. La première hypothèse est compatible avec les résultats de LUTZ-BUCHER et KOCH (1985) selon lesquels la fixation d'AVP tritiée sur des membranes d'hypophyse de rats nouveaux-nés traduit la présence de deux types de sites récepteurs : l'un avec un faible nombre de sites de grande affinité et l'autre avec une caractéristique d'insaturabilité, alors qu'un seul type de récepteurs est mis en évidence chez le rat adulte mâle.

Le fait que tous les agonistes et antagonistes V₁ et V₂ utilisés dans le présent travail soient actifs à une échelle de concentration de l'ordre de la nanomole pourrait suggérer que l'affinité des récepteurs à l'AVP de l'hypophyse n'est pas complètement comparable à celle des récepteurs périphériques et que les récepteurs hypophysaires pourraient être différents de ceux préalablement qualifiés et caractérisés de type V₁ et V₂. Des conclusions semblables ont été rapportées pour l'hypophyse adulte dont les récepteurs à l'AVP semblent distincts de ceux de type V₁ chez le mâle (KNEPEL et coll. 1986) et différents de ceux de type V₁ et V₂ chez la femelle (ANTONI, 1984).

L'agoniste ocytocine utilisé dans une échelle de concentration de 0,3 à 3 nanomoles est généralement dépourvu d'effet potentialisateur sur l'action hypophysaire du CRF; il paraît même avoir un effet inhibiteur chez le mâle mais non chez la femelle à la plus forte dose testée. Comme cet agoniste de l'ocytocine n'est pas capable d'entrer en compétition avec l'AVP pour la liaison aux membranes hypophysaires de rats adultes femelles (ANTONI, 1986 b), on peut supposer qu'il agit par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques de l'ocytocine au niveau de l'hypophyse. Un effet inhibiteur de l'ocytocine sur la sécrétion d'ACTH a déjà été rapporté in vivo pour le rat mâle (GIBBS, 1986 a) et chez l'homme (LEGROS et coll. 1982; 1984; 1987). Cependant selon d'autres auteurs l'ocytocine ne modifie pas la sécrétion d'ACTH chez l'homme (LEWIS et SCHERMAN, 1985) ou chez la femme (SUH et coll. 1986). Nos résultats laisseraient supposer l'existence de récepteurs à l'ocytocine spécifiques, impliqués dans un effet inhibiteur de l'OT sur le lobe antérieur de l'hypophyse de rats nouveaux-nés mâles et femelles. Encore faudrait-il qu'ils puissent discriminer entre l'AVP et l'ocytocine, ce qui ne paraît pas être le cas sur d'autres territoires (ELANDS et coll. 1988).

L'effet global observé sur la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse en présence d'AVP et d'OT pourrait résulter de l'addition des effets de chacune de ces hormones sur différents récepteurs; ces effets pourraient être en partie contradictoires.

La complexité du contrôle multifactoriel de la sécrétion hypophysaire d'ACTH par l'AVP et l'ocytocine chez le nouveau-né est assurément aussi grande que chez l'adulte et résulte des difficultés d'apprécier simultanément les types de récepteurs impliqués, l'effet observé pouvant résulter de la stimulation spécifique de chacun d'eux, de leur nombre respectif, des taux et/ou des variations de taux des neuropeptides, ainsi que de l'affinité comparée de ces derniers pour les différents types de récepteurs en présence.

La sécrétion d'ACTH par le lobe neuro-intermédiaire de l'hypophyse des nouveau-nés est stimulée par le CRF, à des concentrations cependant légèrement supérieures à celles nécessaires pour stimuler le lobe antérieur. Ce résultat est à rapprocher d'effets identiques sur le lobe neuro-intermédiaire d'hypophyse adulte (AL NOAEMI et coll. 1982; SAKLY et coll. 1982). De plus le CRF, qui est présent dans le lobe neurointermédiaire, stimule la sécrétion d'AVP par cette partie de l'hypophyse (ALZEIN et coll. 1984). C'est donc l'hypophyse entière qu'il faut prendre en compte dans l'estimation des capacités sécrétoires d'ACTH, sans se contenter d'une relation hypothalamo-antéhypophysaire, et ne pas oublier que la stimulation de la fonction corticotrope est multifactorielle. A côté du CRF d'autres substances interviennent certainement; parmi elles l'AVP et l'ocytocine peuvent jouer un rôle majeur mais non exclusif.

7 CONCLUSION GENERALE

7 Conclusion générale

Chez le rat nouveau-né de 8 jours un stress à l'éther est capable d'induire une sécrétion d'ACTH, plus faible que celle observée chez l'adulte. La période postnatale n'est donc pas caractérisée par une phase de "non-réponse au stress" (cf. SCHAPIRO et coll. 1962 et SAPOLSKY et MEANEY, 1986) puisqu'une réponse relativement faible peut être mise en évidence. La sécrétion d'ACTH, d'ampleur modérée, peut résulter d'une capacité réduite de réponse hypophysaire à une stimulation et/ou d'une sécrétion faible d'agent(s) sécrétagogue(s) (CRF, AVP ou autre) et/ou d'une maturation incomplète des voies nerveuses (adrénergiques ?, sérotoninergiques ?...) impliquées dans l'activation du complexe hypothalamo-hypophyso-surrénalien au cours d'un stress.

En ce qui concerne le premier point, il semble que l'hypophyse (antérieure et même neurointermédiaire) soit capable de sécréter de fortes quantités d'ACTH en présence de CRF et/ou d'AVP. A l'âge de 8 jours le contenu de l'hypophyse en ACTH est 4 à 5 fois supérieur (HARY, 1982) à celui observé à la naissance (DUPOUY ET CHATELAIN, 1984), bien que le contenu en ARN messager de la proopiomélanocortine soit au plus bas dans la période de 5 à 7 jours postpartum (GRINO et coll. 1989). De plus, dans le lobe intermédiaire cet ARNm est en phase de croissance (GRINO et coll. 1989) et une libération d'ACTH par ce lobe au cours d'un stress n'est pas à exclure. Néanmoins, comme le clivage de la POMC dans le lobe intermédiaire de l'adulte diffère de celui qui se produit dans le lobe antérieur, des peptides autres que l'ACTH pourraient être sécrétés en plus de l'ACTH par le lobe neurointermédiaire du nouveau-né.

Une insuffisance en CRF, ou en substance CRF-like, peut aussi être évoquée pour rendre compte de l'hyporéactivité du nouveau-né à un stress. Or dès le 3ème jour post-natal, une augmentation d'ARNm du CRF est observée dans le noyau para-ventriculaire (GRINO et coll. 1989) parallèle à l'augmentation des taux de CRF hypothalamique (WALKER et coll, 1986). Il semble donc que l'étape limitante dans la réponse au stress puisse se situer au niveau des voies nerveuses impliquées dans le contrôle de l'activité du complexe hypothalamo-hypophysaire au cours de la période post-natale .

A ce niveau une intervention noradrénergique peut être envisagée dans la mesure où la noradrénaline, administrée *in vivo*, permet une sécrétion accrue d'ACTH lors du stress à l'éther; ce neurotransmetteur pourrait alors être impliqué dans la stimulation hypothalamo-hypophysaire du nouveau-né comme cela a été rapporté chez l'adulte (SMYTHE et coll. 1983; SZAFARCZYK et coll. 1985, 1987) .

La réponse corticotrope au stress à l'éther, identique dans les 2 sexes initialement, diminue rapidement chez les mâles, alors qu'elle reste à un niveau quasi constant chez les femelles pendant au moins 30 minutes. Cette différence pourrait s'expliquer par un feedback négatif des corticostéroïdes moins important chez la femelle que chez le mâle s'il existe chez la première un taux de corticostérone libre plus faible comme c'est le cas chez l'adulte (ABE et CRITCHLOW, 1977).

D'autres hypothèses sont cependant à envisager. Lors d'un stress plusieurs substances susceptibles d'induire et/ou de potentialiser la sécrétion d'ACTH peuvent être libérées comme c'est le cas pour le CRF, l'AVP, l'ocytocine et la noradrénaline dont les taux dans le sang porte-hypophysaire sont augmentés lors d'une hémorragie par exemple (PLOTSKY et coll. 1985 a) .

Même si la sécrétion de ces substances hypothalamiques est identique pour les deux sexes, la libération d'ACTH pourrait être différente du fait que l'hypophyse du nouveau-né mâle ne paraît pas sujette, comme celle de la femelle, à la potentialisation par l'ocytocine de la réponse au CRF. Le mécanisme de l'action de l'OT chez la femelle reste à déterminer. L'effet potentialisateur de l'ocytocine sur le lobe antérieur de l'hypophyse femelle paraît impliquer une stimulation de récepteurs vasopressinergiques, par ailleurs également présents chez le mâle. L'absence d'effet de l'ocytocine chez le mâle pourrait être due à un nombre moins élevé des récepteurs sur lesquels agit cette neurohormone ou à leur maturation plus tardive. De plus il faudrait voir si un traitement néonatal des femelles par la testostérone, qui "masculinise" la réponse au stress, modifie aussi la sensibilité de l'hypophyse à l'association CRF + ocytocine. La question reste cependant posée de savoir si, lors d'un stress, les sécrétions des divers facteurs hypothalamiques stimulants potentiels de la sécrétion d'ACTH sont comparables dans les deux sexes. Toute différence de sécrétion d'un seul (et à fortiori de plusieurs) agent stimulant la libération d'ACTH permettrait de rendre compte d'une réponse hypophysaire différente selon le sexe. Dans ce cas c'est pour le moins au niveau hypothalamique qu'il faudrait rechercher la cause d'une différence d'activité corticotrope liée aux hormones sexuelles en période de stress.

Des connexions entre des neurones à CRF et des neurones à Gn-RH ont été mises en évidence dans l'aire préoptique (MACLUSKY et coll. 1988). Une relation fonctionnelle entre hormones sexuelles et sécrétion d'ACTH n'est peut-être pas aussi simple; elle pourrait impliquer une différence de potentiel aminergique. En effet un traitement de la femelle adulte par les oestrogènes entraîne un accroissement du turn-over de la noradrénaline hypothalamique (PANEK et DIXON, 1986) et des afférences catécholaminergiques stimulantes ont été mises en évidence dans le noyau paraventriculaire en ce qui concerne le

CRF (LIPOSITS et coll. 1986) le CRF et l'AVP (ALONSO et coll. 1986), le CRF mais non l'AVP (SAWCHENKO, 1988). Par ailleurs l'orchidectomie chez des rats adultes induit une rapide et importante augmentation de la densité des récepteurs β -adrénergiques dans le LA de l'hypophyse sans modifier celle dans l'hypothalamus (PETROVIC et coll. 1984); or l'implication de ce type de récepteur a été évoquée dans un mécanisme possible de stimulation d'ACTH par le LA de l'hypophyse (BERKENBOSCH et coll. 1981).

La cinétique d'action des agents stimulants la sécrétion d'ACTH devrait être également prise en compte. Chez des rats adultes, un antagoniste de l'AVP diminue la réponse en ACTH 20 minutes après un stress à l'éther, mais pas au terme de 10 minutes (RIVIER et VALE, 1983). Dans ce cas l'AVP ne semble pas jouer de rôle dans les premières minutes suivant le stress, mais paraît participer à la réponse en ACTH plus tardivement. Une différence éventuelle de sécrétion d'AVP, entre mâles et femelles, pourrait induire une modification dans la cinétique de la réponse de la fonction corticotrope comme c'est le cas chez le nouveau-né.

Une condition importante et nécessaire pour comprendre les différences sexuelles concernant la sécrétion d'ACTH est de pouvoir apprécier, en fonction du temps, les variations plasmatiques, si possible porte hypophysaire, des substances hypothalamiques impliquées dans cette sécrétion. Il sera nécessaire par la suite de chercher l'origine des différences éventuellement observées, en relation avec les systèmes neurohormonaux et/ou neuroniques.

La complexité de la régulation du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien est liée à la variété des territoires du système nerveux central concernés, des neurohormones et neurotransmetteurs mis en jeu, ainsi qu'au type de stimulation utilisé, à la maturation des mécanismes neuroendocriniens impliqués et aux interférences vraisemblables qui existent entre ces différents intervenants.

En guise de conclusion nous illustrerons cette complexité par une seule observation:

chez l'homme, lors d'une hypoglycémie insulinique, des mécanismes β -adrénergiques peuvent inhiber directement l'action du CRF sur l'hypophyse alors que des mécanismes α -adrénergiques peuvent agir sur l'hypothalamus pour stimuler la sécrétion d'ACTH (TOMORI et coll. 1989).

BIBLIOGRAPHIE

A

- ABE, K. & CRITCHLOW, V. (1977)
Effects of corticosterone, dexamethasone and surgical isolation of the medial basal hypothalamus on rapid feedback control of stress-induced corticotropin secretion in female rats.
Endocrinology, **101**, 498- 505.
- ABE, K. & HIROSHIGE, T (1974)
Changes in plasma corticosterone and hypothalamic CRF levels following intra-ventricular injection of drug-induced changes of brain biogenic amines in the rat.
Neuroendocrinology, **14** , 195-211.
- AIZAWA, T., YASUDA, N., GREER M.A. & SAWYER, W.H. (1982)
In vivo adrenocorticotropin-releasing activity of neurohypophyseal hormones and their analogs.
Endocrinology, **110**, 98-104.
- AL-DAMLUJI, S. (1988)
Adrenergic mechanisms in the control of corticotrophin secretion.
J. Endocrinol. **119**, 5-14.
- AL-DAMLUJI, S., ROSS, G., TOUZEL, R., PERRETT, D., WHITE, A., & BESSER, G.M. (1988)
Modulation of the actions of tyrosine by α_2 -adrenoceptor blockade.
Br. J. Pharmacol., **95**, 405-412.
- AL-NOAEMI, M.C., EDWARDS, J.A. & HUGHES, D. (1982)
Corticotrophin-releasing factor (CRF) stimulates release of peptides from the intermediate lobe of the rat pituitary gland.
J. Physiol. (Lond.), **332**, 85 P - 86 P.
- ALONSO, G., SZAFARCZYK, A., BALMEFRÉZOL, M. & ASSENMACHER, I. (1986)
Immunocytochemical evidence for stimulatory control by the ventral noradrenergic bundle of parvocellular neurons of the paraventricular nucleus secreting corticotropin releasing hormone and vasopressin in rats.
Brain Res., **397**, 297-307.
- ALZEIN, M., JEANDEL, L., LUTZ-BUCHER, B. & KOCH, B. (1984)
Evidence that CRF stimulates vasopressin secretion from isolated neurointermediate pituitary.
Neuroendocrinol. Lett. , **6**, 151-155.
- ANDERSON, P.J.B., FATINIKUN, A.E. & SWIFT A.D. (1982)
Concentrations of testosterone in neonatal male rats suckled naturally and hand-fed.
J. Endocrinol. **92**, 419-424.
- ANICHKOV, S.V., SAPRONOV, N.S., BEKHTEREVA, E.P. (1978)
The participation of monoaminergic central mechanisms on adeno-hypophyseal secretion.
Ann. Ist. Super. Sanita., **14**, 19-26.
- ANTONI, F.A. (1984)
Novel ligand specificity of pituitary vasopressin receptors in the rat.
Neuroendocrinology, **39**, 186-188.

- ANTONI, F.A. (1986 a)
Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion : advances since the discovery of 41-residue corticotropin-releasing factor.
Endocr. Rev., **7**, 351-378.
- ANTONI, F.A. (1986 b)
Oxytocine receptors in rat adenohipophysis : evidence from radioligand binding studies.
Endocrinology, **119**, 2393-2395.
- ANTONI, F.A., HOLMES, M. C. & JONES, M.T. (1983 a)
Oxytocin as well as vasopressin potentiate ovine CRF *in vitro*.
Peptides, **4**, 411-415.
- ANTONI, F.A., PALKOVITS, M., MAKARA, G.B., LINTON, E.A., LOWRY, P.J., & KISS, J.Z. (1983 b)
Immunoreactive corticotropin-releasing hormone in the hypothalamoinfundibular tract.
Neuroendocrinology, **36**, 415-423.
- ARNOLD, A.P. & GORSKI, R.A. (1984)
Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system.
Annu. Rev. Neurosci., **7**, 413-442.
- B
- BAERTSCHI, A.J. & FRIEDLI, M. (1985)
A novel type of vasopressin receptor on anterior pituitary corticotrophs ?
Endocrinology, **116**, 499-502.
- BARRETT A.M., HODGES, J.R. & SAYERS, G. (1957)
The influence of sex, adrenalectomy and stress on blood ACTH levels in the rat.
J. Endocrinol., **16**, 13.
- BEN-JONATHAN, N. (1978)
Plasma catecholamines in fetal and neonatal rats.
Life Sci., **23**, 39-44.
- BÉNY, J.L. & BAERTSCHI, A.J. (1981)
Corticotropin-releasing factors (CRF) secreted by the rat median eminence *in vitro* in the presence or absence of ascorbic acid : quantitative role of vasopressin and catecholamines.
Endocrinology, **109**, 813-817.
- BÉNY, J.L. & BAERTSCHI A.J. (1982)
Synthetic corticoliberin needs arginine vasopressin for full corticotropin releasing activity.
Experientia, **38**, 1078-1079.
- BÉRAUD, G. (1977)
Evolution suivant l'âge et le sexe, de l'ACTH des pars distalis et neurointermedia de l'hypophyse de rats.
C.R. Acad. Sc. Paris. [D], **284**, 377-380.

- BERKENBOSCH, F., VERMES, I., BINNEKADE, R. & TILDERS, F.J.H. (1981)
Beta-adrenergic stimulation induces an increase of the plasma levels of immunoreactive α -MSH, β -endorphin, ACTH and of corticosterone.
Life Sci., **29**, 2249-2256.
- BERKENBOSCH, F., VERMES, I., BUIJS, R.M. & TILDERS, F.J.H. (1983)
Vasopressin is not involved in the catecholamine-induced release of ACTH, α -MSH and β -Endorphin from the rat pituitary gland.
Neuroendocrinology, **37**, 117-121.
- BHATTARACHARYA, A.N. & MARKS, B.H. (1969 a)
Effects of pargyline and amphetamine upon acute stress responses in rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **130**, 1194-1198.
- BHATTARACHARYA, A.N. & MARKS, B.H. (1969 b)
Reserpine-and chlorpromazine-induced changes in hypothalamo-hypophyseal-adrenal system in rats in the presence and absence of hypothermie.
J. Pharmacol. Exp. Ther. **165**, 108-116.
- BLOOM, F.E., BATTENBERG, E.L.F., RIVIER, J. & VALE, W. (1982)
Corticotropin releasing factor (CRF) : immunoreactive neurones and fibers in rat hypothalamus.
Regul. Pept., **4**, 43-48.
- BOGIC, L., GERLACH, J.L. & McEWEN, B.S. (1988)
The ontogeny of sex differences in estrogen-induced progesterone receptors in rat brain.
Endocrinology, **122**, 2735-2741.
- BOLTON, S. (1984)
Pharmaceutical statistics.
James Swarbrick Ed.; M. Dekker Inc.; New York.
- BRESSION, D., MICHARD, M., LE DAFNIET, M., PAGESY, P. & PEILLON, F. (1986)
Evidence for a specific estradiol binding site on rat pituitary membranes.
Endocrinology, **119**, 1048-1051.
- BRIAUD, B., KOCH, B., LUTZ-BUCHER, B. & MIALHE, C. (1979)
In vitro regulation of ACTH release from neurointermediate lobe of rat hypophysis.
Neuroendocrinology, **28**, 377-385.
- BRUHN, T.O., PLOTSKY, P.M. & VALE, W.W. (1984)
Effect of paraventricular lesions on corticotropin-releasing factor (CRF)-like immunoreactivity in the stalk-median eminence : studies on the adrenocorticotropin response to ether stress and exogenous CRF.
Endocrinology, **114**, 57-62.
- BUCKINGHAM, J.C. (1982)
Effects of adrenocortical and gonadal steroids on the secretion in vitro of corticotrophin and its hypothalamic releasing factor.
J. Endocrinol., **93**, 123-132.
- BUCKINGHAM, J.C. (1985)
Two distinct corticotrophin releasing activities of vasopressin.
Br. J. Pharmacol., **84**, 213-219.

- BUCKINGHAM, J.C. (1987)
Vasopressin receptors influencing the secretion of ACTH by the rat adenohypophysis.
J. Endocrinol., **113**, 389-396.
- BUCKINGHAM, J.C. & COOPER T.A. (1987)
Interrelationships of opioidergic and adrenergic mechanisms controlling the secretion of corticotrophin releasing factor in the rat.
Neuroendocrinology, **46**, 199-206.
- BUCKINGHAM, J.C. & HODGES, J.R. (1977)
Production of corticotrophin releasing hormone by the isolated hypothalamus of the rat.
J. Physiol. (Lond.), **272**, 469-479.
- BUCKINGHAM, J.C. & HODGES, J.R. (1979)
Hypothalamic receptors influencing the secretion of corticotrophin releasing hormone in the rat.
J. Physiol. (Lond.), **290**, 421-431.
- BUGAJSKI, J. (1984)
Central metabolic and pituitary-adrenocortical stimulatory action of histamine and clonidine.
Pol. J. Pharmacol. Pharm., **36**, 159-176.
- BUGNON, C., FELLMANN, D., GOUGET, A. & CARDOT, J. (1982 a)
Ontogeny of the corticoliberin neuroglandular system in rat brain.
Nature, **298**, 159-161.
- BUGNON, C., FELLMANN, D., GOUGET, A. & CARDOT, J. (1982 b)
Etude immunocytochimique de l'ontogenèse du système neuroglandulaire à CRF chez le rat.
C.R. Acad. Sc. Paris [III], **294**, 599-604.
- BURLET, A., CHATEAU, M. & CZERNICHOW, P. (1979)
Infundibular localization of vasopressin, oxytocin and neurophysins in the rat; its relationships with corticotrope function.
Brain Res., **168**, 275-286.

C

- CAMPBELL, H.J. (1966)
The development of the primary portal plexus in the median eminence of the rabbit.
J. Anat., **100**, 381-387.
- CARR, L.A. & MOORE, K.E. (1968)
Effects of reserpine and α -methyl-paratyrosine on brain catecholamines and the pituitary-adrenal response to stress.
Neuroendocrinology, **3**, 285-303.
- CARTER, D.A. & LIGHTMAN, S.L. (1986)
A sex difference in neonatal secretion of posterior pituitary hormones.
Neuroendocrinol. Lett., **8**, 57-63.

- CASTEL, M., GAINER, H. & DIETER DELLMANN, H. (1984)
Neural secretory systems.
Int. Rev. Cytol., **88**, 303-459.
- CHAMBERS, J.W. & BROWN, G.M. (1976)
Neurotransmitter regulation of growth hormone and ACTH in the rhesus monkey :
effects of biogenic amines.
Endocrinology, **98**, 420-428.
- CHAMNESS, G.C., KING T.W. & SHERIDAN, P.J. (1979)
Androgen receptor in the rat brain - assays and properties.
Brain Res., **161**, 267-276.
- CHATELAIN, A. (1981)
Ontogenèse et régulation de la fonction corticotrope chez le rat pendant la période
périnatale.
Thèse de Doctorat d'Etat, Amiens.
- CHATELAIN, A., BOUDOURESQUE, F., CHAUTARD, T., DUPOUY, J.P. & OLIVER, C. (1988)
Corticotrophin releasing factor immunoreactivity in the hypothalamus of the rat during
the perinatal period.
J. Endocrinol., **119**, 59-64.
- CHIODERA, P. & COIRO, V. (1987)
Oxytocin reduces metyrapone-induced ACTH secretion in human subjects.
Brain res., **420**, 178-181.
- CHOY, V.J. & WATKINS, W.B. (1979)
Maturation of the hypothalamo-neurohypophysial system.
Cell Tissue Res., **197**, 325-336.
- CLARKE, M.J.O., LOWRY, P. & GILLIES, G. (1987)
Assessment of corticotropin-releasing factor, vasopressin and somatostatin secretion
by fetal hypothalamic neurons in culture.
Neuroendocrinology, **46**, 147-154.
- COIRO, V., PASSERI, M., DAVOLI, C., BACCHI-MODENA, A., BIANCONI, I., VOLPI, R. & CHIODERA,
P. (1988)
Oxytocin reduces exercise-induced ACTH and cortisol rise in man.
Acta Endocrinologica, **119**, 405-412.
- COOK, D.M., KENDALL, J.W., GREER, M.A. & KRAMER, R.M. (1973)
The effect of acute or chronic ether stress on plasma ACTH concentration in the rat.
Endocrinology, **93**, 1019-1024.
- CORBIER, P. KERDELHUE, B., PICON, R. & ROFFI, J. (1978)
Changes in testicular weight and serum gonadotropin and testosterone levels before,
during, and after birth in the perinatal rat.
Endocrinology, **103**, 1985-1991.
- CORBIER, P. RHODA, J., KERDELHUE, B. & ROFFI, J. (1981)
Augmentation de la testostérone endogène dans l'hypothalamus du rat mâle à la
naissance.
C.R. Acad. Sc. Paris [III], **292**, 413-416.

- COYLE, J.T. & HENRY, D. (1973)
Catecholamines in fetal and newborn rat brain.
J. Neurochem., **21**, 61-67.
- COYNE, M.D. & KITAY, J.I. (1969)
Effect of ovariectomy on pituitary secretion of ACTH.
Endocrinology, **85**, 1097-1102.
- COYNE, M.D. & KITAY, J.I. (1971)
Effect of orchietomy on pituitary secretion of ACTH.
Endocrinology, **89**, 1024-1028.
- CRAMER, O.M., PARKER, C.R. & PORTER, J.C. (1979)
Secretion of dopamine into hypophysial portal blood by rats bearing prolactin-secreting tumors or ectopic pituitary glands.
Endocrinology, **105**, 636-640.
- CUELLO, A.C., SCAPAGNINI, U., LICKO, V., PREZIOSI, P. & GANONG, W.F. (1973/74)
Effect of dihydroxyphenylserine on the increase in plasma corticosterone in rats treated with α -methyl-*p*-tyrosine.
Neuroendocrinology, **13**, 115-122.
- CUELLO, A.C., SHOEMAKER, W.J., GANONG, W.F. (1974)
Effect of 6-hydroxydopamine on hypothalamic norepinephrine, and dopamine content, ultrastructure of the median eminence, and plasma corticosterone.
Brain Res., **78**, 57-69.
- D**
- DAIKOKU, S., OKAMURA, Y., KAWANO, H., TSURUO, Y., MAEGAWA, M. & SHIBASAKI, T. (1984)
Immunohistochemical study on the development of CRF-containing neurons in the hypothalamus of the rat.
Cell Tissue Res., **238**, 539-544.
- DAY, T.A., FERGUSON, A.V. & RENAUD, L.P. (1985)
Noradrenergic afferents facilitate the activity of tuberoinfundibular neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus.
Neuroendocrinology, **41**, 17-22.
- DE SOUZA, E.B. (1985)
Beta-2-adrenergic receptors in pituitary.
Neuroendocrinology, **41**, 289-296.
- DIXIT, B.N. (1971)
Brain 5-hydroxytryptamine and anterior pituitary activation by reserpine and its analogs.
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., **189**, (1), 100-108.
- DUPOUY, J.P. & CHATELAIN, A. (1984)
In-vitro effects of corticosterone, synthetic ovine corticotrophin releasing factor and arginine vasopressin on the release of adrenocorticotrophin by fetal rat pituitary glands.
J. Endocrinol., **101**, 339-344.

- DUPOUY, J.P., HARY, L., LALAU, J.D., GREGOIRE, I. & CHATELAIN, A. (1987)
Influence périnatale des hormones sexuelles sur l'activation différentielle de la fonction corticotrope au cours d'un stress chez le mâle et la femelle.
Ann. Endocrinol. [Paris], **48**, 385-392.

E

- ECKLAND, D.J.A., TODD K. & LIGHTMAN, S.L (1988)
Immunoreactive vasopressin and oxytocin in hypothalamo-hypophysial portal blood of the brattleboro and long-evans rat : effect of adrenalectomy and dexamethasone.
J. Endocrinol., **117**, 27-34.
- EISENBERG, R.M. (1975)
Further evidence of a central alpha-adrenergic inhibitory influence on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the rat.
Neuroendocrinology, **17**, 154-166.
- ELANDS, J., BARBERIS, C. & JARD, S. (1988)
[³H]-[Thr⁴, Gly⁷] OT : a highly selective ligand for central and peripheral OT receptors.
Am. J. Physiol., **254**, E31-E38.
- ENDROCZY, E., SCHREIBERG, G. & LISSAK, K. (1963)
The role of central nervous activating and inhibitory structures in the control of pituitary-adrenocortical function. Effects of intracerebral cholinergic and adrenergic stimulation.
Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., **24**, 211-221.

F

- FEHM, M.L., VOIGT, K.H., LANG, R.E., PFEIFFER, E.F. (1980)
Effect of neurotransmitters on the release of corticotropin releasing hormone (CRH) by rat hypothalamic tissue in vitro.
Exp. Brain Res., **39**, 229-234.
- FEHM, H.L., STECK, R., HOHNLOSER, J., VOIGT, K.H. & PFEIFFER, E.F. (1983)
Influence of neuroactive drugs on corticosteroid feedback regulation of ACTH secretion in man.
Horm. Metab. Res., **15**, 29-32.
- FEKETE, M.I., HARTMANN, G., BODIS, J., BABOS, A. & LISSAK, K. (1978 a)
Effect on hypothalamo-pituitary-adrenocortical function of dopamine and norepinephrine implanted into the dorsal raphe nucleus.
Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung., **51**, (3), 283-291.
- FEKETE, M.I., STARK, E., HERMAN, J.P., PALKOVITS, M. & KANYICSKA, B. (1978 b)
Catecholamine concentration of various brain nuclei of the rat as affected by ACTH and corticosterone.
Neurosci.Lett., **10**, 153-158.
- FELDMAN, S., MELAMED, E., CONFORTI, N. & WEIDENFELD, J. (1984)
Effect of central serotonin depletion on adrenocortical responses to neural stimuli.
Exp. Neurol., **85**, 661-666.

- FELDMAN, S., CONFORTI, N. & MELAMED, E. (1986)
Norepinephrine depletion in the paraventricular nucleus inhibits the adrenocortical responses to neural stimuli.
Neurosci. Lett., **64**, 191-195.
- FELLMANN, D., BUGNON, C., GOUGET, A., & CARDOT, J. (1982)
Les neurones à corticolibérine (CRF) du cerveau de rat.
C.R. Soc. Biol., **176**, 511-516.
- FEW, J.D., GAWELL, M.J., IMMS, F.J., TIPTAFT, E.M. (1980)
The influence of the infusion of noradrenaline on plasma cortisol levels in man.
J. Physiol. (Lond.), **309**, 375-389.
- FINK, G. & SMITH, G.C. (1971)
Ultrastructural features of the developing hypothalamo-hypophysial axis in the rat.
Z. Zellforsch., **119**, 208-226.
- FREY, M.J. & MOBERG, G.P. (1981)
Effect of intraventricular serotonin on the plasma cortisol response to restraint stress in unanesthetized sheep.
J. Anim. Sci., **51**, 380-385.
- FRIEDMAN, E., KRIEGER, D.T., LERANTH, C., MEZEY, E., BROWNSTEIN, M.J. & PALKOVITS, M. (1983)
Serotonin innervation of the pituitary intermediate lobe.
Endocrinology, **112**, 1943-1947.
- FULLER, R.W. (1981)
Serotonergic stimulation of pituitary-adrenocortical function in rats.
Neuroendocrinology, **32**, 118-127.
- FULLER, R.W. & SNODDY, H.D. (1980)
Effect of serotonin-releasing drugs on serum corticosterone concentration in rats.
Neuroendocrinology, **31**, 96-100.
- G
- GAILLARD, R.C., RIONDEL, A.M., LING, N. & MULLER, A.F. (1988)
Corticotropin releasing factor activity of CRF 41 in normal man is potentiated by angiotensin II and vasopressin but not by desmopressin.
Life Sci., **43**, 1935-1944.
- GANONG, W.F. (1980)
Neurotransmitters and pituitary function : regulation of ACTH secretion.
Federation Proc. **39**, 2923-2930.
- GANONG, W.F., KRAMER, N., SALMON, J., REID, I.A., LOVINGER, R., SCAPAGNINI, U., BORYCZKA, A.T. & SHACKELFORD, R. (1976)
Pharmacological evidence for inhibition of ACTH secretion by a central adrenergic system in the dog.
Neuroscience, **1**, 167-174.

- GEORGE, F.W. & OJEDA, S.R. (1982)
Changes in aromatase activity in the rat brain during embryonic, neonatal, and infantile development.
Endocrinology, **111**, 522-529.
- GIBBS, D.M. (1984 a)
Dissociation of oxytocin, vasopressin and corticotropin secretion during different types of stress.
Life Sci., **35**, 487-491.
- GIBBS, D.M. (1984 b)
High concentrations of oxytocin in hypophysial portal plasma.
Endocrinology, **114**, 1216-1218.
- GIBBS, D.M. (1985)
Measurement of hypothalamic corticotropin-releasing factors in hypophyseal portal blood.
Federation Proc., **44**, 203-206.
- GIBBS, D.M. (1986 a)
Oxytocin inhibits ACTH and peripheral catecholamine secretion in the urethane-anesthetized rat.
Regul. Pept., **14**, 125-132.
- GIBBS, D.M. (1986 b)
Stress-specific modulation of ACTH secretion by oxytocin.
Neuroendocrinology, **42**, 456-458.
- GIBBS, D.M. (1986 c)
Vasopressin and oxytocin : hypothalamic modulators of the stress response : a review.
Psychoneuroendocrinology, **11**, 131-140.
- GIBBS, D.M. & VALE, W. (1982)
Presence of corticotropin releasing factor-like immunoreactivity in hypophysial portal blood.
Endocrinology, **111**, N°4, 1418-1420.
- GIBBS, D.M. & VALE, W. (1983)
Effect of the serotonin reuptake inhibitor fluoxetine on corticotropin-releasing factor and vasopressin secretion into hypophysial portal blood.
Brain Res., **280**, 176-179.
- GIBBS, D.M., VALE, W., RIVIER, J. & YEN, S.S.C. (1984)
Oxytocin potentiates the ACTH-releasing activity of CRF (41) but not vasopressin.
Life Sci., **34**, 2245-2249.
- GIGUERE, V. & LABRIE, F. (1982)
Vasopressin potentiates cyclic AMP accumulation and ACTH release induced by corticotropin-releasing factor (CRF) in rat anterior pituitary cells in culture.
Endocrinology, **111**, 1752-1754.
- GIGUERE, V. & LABRIE, F. (1983)
Additive effects of epinephrine and corticotropin-releasing factor (CRF) on adrenocorticotropin release in rat anterior pituitary cells.
Biochem. Biophys. Res. Commun., **110**, 456-462.

- GIGUERE, V., COTE, J. & LABRIE, F. (1981)
Characteristics of the α -adrenergic stimulation of adrenocorticotropin secretion in rat anterior pituitary cells.
Endocrinology, **109**, 757.
- GILLIES, G., VAN WIMERSMA GREIDANUS, T.B. & LOWRY, P.J. (1978)
Characterization of rat stalk median eminence vasopressin and its involvement in adrenocorticotropin release.
Endocrinology, **103**, 528-534.
- GILLIES, G.E., LINTON, E.A. & LOWRY, P.J. (1982)
Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by vasopressin.
Nature, **222**, 355-357.
- GIRAUD, P., LISSITZKY, J.C., CONTE-DEVOLX, B., GILLIOZ, P. & OLIVER, C. (1980)
Influence of haloperidol on ACTH and β -endorphin secretion in the rat.
Eur. J. Pharmacol., **62**, 215-217.
- GRAY, P. (1971)
Pituitary-adrenocortical response to stress in the neonatal rat.
Endocrinology, **89**, 1126-1128.
- GRINO, M., SCOTT YOUNG III, W. & BURGUNDER, J.M. (1989)
Ontogeny of expression of the corticotropin-releasing factor gene in the hypothalamic paraventricular nucleus and of the proopiomelanocortin gene in rat pituitary.
Endocrinology, **124**, 60-68.
- GUDELSKY, G.A. & PORTER, J.C. (1979)
Release of newly synthesized dopamine into the hypophysial portal vasculature of the rat.
Endocrinology, **104**, 593-587.
- GUILLAUME, V., CONTE-DEVOLX, B., SZAFARCZYK, A., MALAVAL, F., PARES-HERBUTE, N., GRINO, M., ALONSO, G., ASSENMACHER, I. & OLIVER, C. (1987)
The corticotropin-releasing factor release in rat hypophysial portal blood is mediated by brain catecholamines.
Neuroendocrinology, **46**, 143-146.
- GUILLEMIN, R., CLAYTON, H.W., LIPSCOMBS, M.S. & SMITH, J.D. (1959)
Fluorimetric measurement of rat plasma and adrenal corticosterone concentration.
J. Lab. Clin. Med., **53**, 830-832.
- GUILLET, R. & MICHAELSON, S.M. (1978)
Corticotropin responsiveness in the neonatal rat.
Neuroendocrinology, **27**, 119-125.
- H
- HABERT, R. & PICON, R. (1984)
Testosterone, dihydrotestosterone and estradiol-17 β levels in maternal and fetal plasma and in fetal testes in the rat.
J. Steroid. Biochem., **21**, 193-198.

- HALASZ, B. & PUPP, L. (1965)
Hormone secretion of the anterior pituitary gland after physical interruption of all nervous pathways to the hypophysiotrophic area.
Endocrinology, **77**, 553-562.
- HANDA, R.J., REID, D.L. & RESKO, J.A. (1986)
Androgen receptors in brain and pituitary of female rats : cyclic changes and comparisons with the male.
Biol. Reprod., **34**, 293-303.
- HARY, L. (1982)
La fonction corticotrope de l'hypophyse chez le rat dans la période postnatale. Influence des catécholamines.
Thèse de 3ème cycle, AMIENS.
- HARY, L., DUPOUY, J.P. & CHATELAIN, A. (1981)
Pituitary response to bilateral adrenalectomy, metyrapone treatment and ether stress in the newborn rat.
Biol. Neonate, 1981, **39**, 28-36.
- HASHIMOTO, H., FUKUI, K., NOTO, T., NAKAJIMA, T. & KATO, N. (1985)
Distribution of vasopressin and oxytocin in rat brain.
Endocrinol. Jpn., **32**, 89-97.
- HEDGE, G.A., VAN REE, J.M. & VERSTEEG, D.H.G. (1976)
Correlation between hypothalamic catecholamine synthesis and ether stress-induced ACTH secretion.
Neuroendocrinology, **21**, 236-246.
- HELLER, H. & LEDERIS, K. (1959)
Maturation of the hypothalamo-neurohypophysial system.
J. Physiol. (Lond.), **147**, 299-314.
- HILLHOUSE, E.W., BURDEN, J., JONES, M.T. (1975)
The effect of various putative neurotransmitters on the release of corticotrophin releasing hormone from the hypothalamus of the rat in vitro. I- The effect of acetylcholine and noradrenaline.
Neuroendocrinology, **17**, 1-11.
- HIROSHIGE, T. & SATO, T. (1971)
Changes in hypothalamic content of corticotropin-releasing-factor following stress during neonatal maturation in the rat.
Neuroendocrinology, **7**, 257-270.
- HODGES, J.R. & VELLUCCI, S.V. (1974)
The effect of reserpine on pituitary adrenocortical function in the rat.
Br. J. Pharmacol., **50**, (3), 466 P.
- HODGES, J.R. & VELLUCCI, S.V. (1975)
The effect of reserpine on hypothalamo-pituitary adrenocortical function in the rat.
Br. J. Pharmacol., **53**, 555-561.

- HOLMES, M.C., ANTONI, F.A. & SZENRENDREI, T. (1984)
Pituitary receptors for corticotropin-releasing-factor: no effect of vasopressin on binding or activation of adenylate cyclase.
Neuroendocrinology, **39**, 162-169.
- HOLMES, M.C., ANTONI, F.A., AGUILERA, G. & CATT, K.J. (1986)
Magnocellular axons in passage through the median eminence release vasopressin.
Nature, **319**, 326-329.
- HOLMES, M.C., CATT, K.J. & AGUILERA, G. (1987)
Involvement of vasopressin in the down-regulation of pituitary corticotropin-releasing factor receptors after adrenalectomy.
Endocrinology, **121**, 2093-2098.
- HORN, A.M., ROBINSON, I.C.A.F. & FINK, G. (1985)
Oxytocin and vasopressin in rat hypophysial portal blood : experimental studies in normal and brattleboro rats.
J. Endocrinol. **104**, 211-224.
- HYYPÄ, M. (1969)
A histochemical study of the primary catecholamines in the hypothalamic neurons of the rat in relation to the ontogenetic and sexual differentiation.
Z. Zellforsch., **98**, 550-560.
- I**
- IXART, G., SZAFARCZYK, A., MALAVAL, F. & ASSENMACHER, I. (1985)
Impairment of the ether stress-induced ACTH in rats by ablation of the suprachiasmatic nuclei or by i.p. injections of p-chlorophenylalanine.
Neuroendocrinol. Lett., **7**, 171-174
- J**
- JARD, S. (1988)
Mechanisms of action of vasopressin and vasopressin antagonists.
Kidney Int., **34**, [suppl. 26], S38-S42.
- JARD, S., GAILLARD, R.C., GUILLON, G., MARIE, J., SCHOENENBERG, P., MULLER, A.F., MANNING, M. & SAWYER, W.H. (1986)
Vasopressin antagonists allow demonstration of a novel type of vasopressin receptor in the rat adenohypophysis.
Mol. Pharmacol., **30**, 171-177.
- JEZOVA-REPCEKOVA, D., KLIMES, I., JURCAVICOVA, J., VIGAS, M. (1979)
Effect of adrenergic receptor blockage on cortisol and GH response to insulin induced hypoglycemia in man.
Int. J. Clin. Pharmacol. Biopharm., **17**, 64-67.
- JOHNSTON, C.A., GIBBS, D.M. & NEGRO-VILAR, A. (1983)
High concentrations of epinephrine derived from a central source and of 5-hydroxyindole-3-acetic acid in hypophysial portal plasma.
Endocrinology, **113**, 819-821.

- JOHNSTON, C.A., SPINEDI, E.J. & NEGRO-VILAR, A. (1985)
Effect of acute ether stress on monoamine metabolism in median eminence and discrete hypothalamic nuclei of the rat brain and on anterior pituitary hormone secretion.
Neuroendocrinology, **41**, 83-88.
- JONES, M.T. & GILLHAM, B. (1988)
Factors involved in the regulation of adrenocorticotrophic hormone/ β -lipotropic hormone.
Physiol. Rev., **68**, 743-818.
- JONES, M.T., HILLHOUSE, E.W., BURDEN, J. (1976)
Effect of various putative neurotransmitters on the secretion of corticotrophin releasing hormone from the rat hypothalamus in vitro. A model of the neurotransmitters involved.
J. Endocrinol., **69**, 1-10.
- JOSEPH, S.A. & KNIGGE, K.M. (1983)
Corticotropin releasing factor : immunocytochemical localization in rat brain.
Neurosci. Lett., **35**, 135-141.
- K
- KALIN, N.H., GIBBS, D.M., BARKSDALE, C.M., SHELTON, S.E. & CARNES, M. (1985)
Behavioral stress decreases plasma oxytocin concentrations in primates.
Life Sci., **36**, 1275-1280.
- KANEKO, M. & HIROSHIGE, T. (1978)
Site of fast, rate-sensitive feedback inhibition of adrenocorticotropin secretion during stress.
Am. J. Physiol., **234**(1), R46-R51.
- KAPLANSKI, J. & SMELIK, P.G. (1973)
Pituitary-adrenal activity and depletion of brain catecholamines after central administration of 6-hydroxydopamine.
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., **5**, 263-271.
- KAPLANSKI, J., DORST, W. & SMELIK, P.G. (1972)
Pituitary-adrenal activity and depletion of brain catecholamines after α -methyl-p-tyrosine administration.
Eur. J. Pharmacol., **20**, 238-240.
- KARTESZI, M., MAKARA, G.B. & STARK, E. (1980)
The rise of plasma ACTH induced by ether is mediated through neural pathways entering the medial basal hypothalamus.
Acta Endocrinol., **93**, 129-133.
- KARTESZI, M., PALKOVITS, M., KISS, J.Z., KANYICSKA, B., FEKETE, M.I.K. & STARK, E. (1981)
Lack of correlation between hypothalamic serotonin and the ether-induced ACTH secretion in adrenalectomized rats.
Neuroendocrinology, **32**, 7-13.
- KASTING, N.W. (1988)
Simultaneous and independent release of vasopressin and oxytocin in the rat.
Can. J. Physiol. Pharmacol., **66**, 22-26.

- KAWA, A., TANIGUCHI, Y., MIZUGUCHI, K., RYU, S., ARIYAMA, T., KAMISAKI, T., KOREEDA, F. & KANEHISA, T. (1978)
Effect of intraventricular administration of noradrenaline and dopamine on the levels of corticosterone in rats and denervation hypersensitivity resulting from intraventricular administration of 6-hydroxydopamine.
Life Sci., **23**, 991-998.
- KAWATA, M., HASHIMOTO, K., TAKAHARA, J. & SANO, Y. (1983 a)
Immunohistochemical identification of neurons containing corticotropin-releasing factor in the rat hypothalamus.
Cell Tissue Res., **230**, 239-246.
- KAWATA, M., HASHIMOTO, K., TAKAHARA, J. & SANO, Y. (1983 b)
Differences in the distributional pattern of CRF-, oxytocin-, and vasopressin-immunoreactive nerve fibers in the median eminence of the rat.
Cell Tissue Res., **230**, 247-258.
- KELLER-WOOD, M.E. & DALLMAN, M. F (1984)
Corticosteroid inhibition of ACTH secretion.
Endocr. Rev., **5**, 1-24.
- KISS, A., CULMAN, J., KVETNANSKY, R. & PALKOVITS, M. (1981)
Distribution of catecholamines and serotonin in 17 portions of rat ventromedial nucleus and effect of acute immobilization stress.
Endocrinol. Exp., **15**, 219-228.
- KITAY, J.I. (1961)
Sex differences in adrenal cortical secretion in the rat.
Endocrinology, **68**, 818-824.
- KNEPEL, W., HOMOLKA, L., VLASKOVSKA, M. & NUTTO, D. (1984 a)
In vitro adrenocorticotripin/ β -endorphin-releasing activity of vasopressin analogs is related neither to pressor nor to antidiuretic activity.
Endocrinology, **114**, 1797-1804.
- KNEPEL, W., HOMOLKA, L., VLASKOVSKA, M. & NUTTO, D. (1984 b)
Stimulation of adrenocorticotripin/ β -endorphin release by synthetic ovine corticotropin-releasing factor in vitro.
Neuroendocrinology, **38**, 344-350.
- KNEPEL, W., GOTZ, D., FAHRENHOLZ, F. (1986)
Interaction of rat adenohypophyseal vasopressin receptors with vasopressin analogues substituted at positions 7 and 1 : dissimilarity from the V₁ vasopressin receptor.
Neuroendocrinology, **44**, 390-396.
- KOCH, B. (1969)
Fraction libre de la corticostérone plasmatique et réponse hypophyso-surrénalienne au stress durant la période post-natale chez le rat.
Horm. Metab. Res., **1**, 301-308.
- KOCH, S. & LUTZ-BUCHER, B. (1985)
Specific receptors for vasopressin in the pituitary gland : evidence for down-regulation and desensitization to adrenocorticotripin-releasing factors.
Endocrinology, **116**, 671-676.

- KOCH, S. & LUTZ-BUCHER, B. (1989)
Indirect relationship between vasopressin-induced secretion of ACTH and cyclic nucleotides in cultured anterior pituitary cells.
Eur. J. Pharmacol., **158**, 53-60.
- KOENIG, J.I., MELTZER, H.Y., DEVANE, G.D. & GUDELSKY, G.A. (1986)
The concentration of arginine vasopressin in pituitary stalk plasma of the rat after adrenalectomy or morphine.
Endocrinology, **118**, 2534-2539.
- KRAICER, J. & MORRIS, A.R. (1976)
In vitro release of ACTH from dispersed rat pars intermedia cells. II. Effect of neurotransmitter substances.
Neuroendocrinology, **21**, 175-192.
- KRAICER, J., BERAUD, G. & LYWOOD, D.W. (1977)
Pars intermedia ACTH and MSH content : effect of adrenalectomy, gonadectomy and a neurotropic (noise) stress.
Neuroendocrinology, **23**, 352-367.
- KRIEGER, D.T. (1975)
Effect of intraventricular neonatal 6-OH dopamine or 5,6-dihydroxytryptamine administration on the circadian periodicity of plasma corticosteroid levels in the rat.
Neuroendocrinology, **17**, 62-74.
- L
- LABRIE, F., GIGUERE, V., MEUNIER, H., SIMARD, J., GOSSARD, F. & RAYMOND, V. (1987)
Multiple factors controlling ACTH secretion at the anterior pituitary level.
Ann. N.Y. Acad. Sci., **512**, 97-114.
- LALAU, J.D., AUBERT, M.L., CARMIGNZC, D.F., GRÉGOIRE, I. & DUPOUY, J.P. (1990)
Reduction in testicular function in rats;
I. Reduction by a specific gonadotropin-releasing-hormone antagonist in foetal rat
Neuroendocrinology, **51**, 284-288 ;
- LAMBERTS S.W.J, BONS, E.G., UITTERLINDEN, P. & HACKENG, W.H. (1983)
Cyproheptadine and desmethylcyproheptadine directly inhibit the release of adrenocorticotrophin and β -lipotrophin/ β -endorphin activity from the neurointermediate lobe of the rat pituitary gland.
J. Endocrinol. **96**, 395-400.
- LAMBERTS, S.W.J., BONS, E. & ZUIDERWIJK, J. (1986)
High concentrations of catecholamines selectively diminish the sensitivity of CRF-stimulated ACTH release by cultured rat pituitary cells to the suppressive effects of dexamethasone.
Life Sci., **39**, 97-102.
- LANCRANJAN, I. OHNHAUS, E. & GIRARD, J. (1979)
The α -adrenoceptor control of adrenocorticotropin secretion in man.
J. Clin. Endocrinol. Metab., **49**, 227-230.

- LASZLO, F.A., JANAKY, T., JULESZ, J., KARTESZI, M., MAKARA, B. & STARK, E. (1983)
Effects of arginine-8-vasopressin and 1-deamino-8-D-arginine-vasopressin on ACTH secretion in rats.
Endocrinol. Exp., **17**, 133-136.
- LEGROS, J.J., CHIODERA, P. & DEMEY-PONSART, E. (1982)
Inhibitory influence of exogenous oxytocin on adrenocorticotropin secretion in normal human subjects.
J. Clin. Endocrinol. Metab., **55**, 1035-1039.
- LEGROS, J.J., CHIODERA, P., GEENEN, V., SMITZ, S. & VON FRENCKELL, R. (1984)
Dose-response relationship between plasma oxytocin and cortisol and adrenocorticotropin concentrations during oxytocine infusion in normal men.
J. Clin. Endocrinol. Metab. **58**, 105-109.
- LEGROS, J.J., CHIODERA, P., GEENEN, V., SMITZ, S. & VON FRENCKELL, R. (1987)
Confirmation of the inhibitory influence of exogenous oxytocin on cortisol and ACTH in man : evidence of reproducibility.
Acta Endocrinol., **114**, 345-349.
- LE MEVEL, J.C., ABITBOL, S., BERAUD, G. & MANIEY, J. (1978)
Dynamic changes in plasma adrenocorticotrophin after neurotropic stress in male and female rats.
J. Endocrinol., **76**, 359-360.
- LE MEVEL, J.C., ABITBOL, S., BERAUD, G. & MANIEY, J. (1979)
Temporal changes in plasma adrenocorticotropin concentration after repeated neurotropic stress in male and female rats.
Endocrinology, **105**, 812-817.
- LE MEVEL, J.C., BERAUD, G. & MANIEY, J. (1982)
Activité corticohypophysiotrope et corticotrope chez le rat après une agression psychique : effets du sexe et de la surrénalectomie.
J. Physiol. (Paris), **78**, 179-185.
- LENGVARI, I. & HALASZ, B. (1972)
On the site of action of reserpine on ACTH secretion.
J. Neural Transm., **33**, 289-300.
- LESCOAT, G. (1981)
Réponses corticotrope et gonadotrope à une agression neurotrophe chez le rat mâle entier ou castré à la naissance. Influence de la surrénalectomie.
C.R. Acad. Sci. [III], **292**, 603-608.
- LESCOAT, G. (1984)
Corticotrophin response to neurotropic stress in the male rat : influence of postnatal castration and adrenalectomy.
IRCS Med. Sci., **12**, 146-147.
- LESCOAT, G., JEGO, P., BERAUD, G. & MANIEY, J. (1970)
Influence du sexe sur les modalités de réponse de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien aux agressions émotionnelles et somatiques chez le rat.
C.R. Soc. Biol. (Paris), **164**, 2106-2113.

- LESCOAT, G., JÉGO, P. & MANIEY, J. (1971)
Influence des hormones sexuelles sur l'intensité de la réponse du complexe hypothalamo-hypophysio-surrénalien à une agression émotionnelle chez le rat.
J. Physiol.(Paris), **63**, 17-18.
- LEWIS, D.A. & SHERMAN, B.M. (1985)
Oxytocin does not influence adrenocorticotropin secretion in man.
J. Clin. Endocrinol. Metab., **60**, 53-56.
- LIEBERBURG, I. & MAC EWEN, B.S. (1975)
Estradiol-17 β : a metabolite of testosterone recovered in cell nuclei from limbic areas of neonatal rat brains.
Brain Res., **85**, 165-170.
- LIPOSITS, Zs., PHELIX, C. & PAULL, W.K. (1986)
Adrenergic innervation of corticotropin releasing factor (CRF)-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat.
Histochemistry, **84**, 201-205.
- LIPPA, A.S., ANTELMAN, S.M., FAHRINGER, E.E. & REDGATE, E.S. (1973)
Relationship between catecholamines and ACTH : effects of 6-hydroxydopamine.
Nature New Biol., **241**, 24-25.
- LOIZOU, L.A. (1970)
Uptake of monoamines into central neurones and the blood-brain barrier in the infant rat.
Br. J. Pharmac., **40**, 800-813.
- LOIZOU, L.A. (1971)
The postnatal development of monoamine-containing structures in the hypothalamo-hypophyseal system of the albino rat.
Z. Zellforsch, **114**, 234-252.
- LOIZOU, L.A. (1972)
The postnatal ontogeny of monoamine-containing neurones in the central nervous system of the albino rat.
Brain Res., **40**, 395-418.
- LOWBRIDGE, J. & MANNING, M. (1977)
Synthesis and some pharmacological properties of [4-Threonine, 7-glycine] oxytocin, [1-(L-2-Hydroxy-3- mercaptopropanoic acid), 4-threonine, 7-glycine] ocytocin (Hydroxy [Thr⁴, Gly⁷] oxytocin), and [7-glycine] oxytocin, peptides with high oxytocic-antidiuretic selectivity.
J. Med. Chem. **20**, 120-123.
- LUTZ-BUCHER, B & KOCH, B. (1983)
Characterization of specific receptors for vasopressin in the pituitary gland.
Biochem. Biophys. Res. Commun., **115**, 492-498.
- LUTZ-BUCHER, B. & KOCH, B. (1985)
Reduced number of specific receptors for vasopressin in the neonatal pituitary gland fails to be associated with parallel changes in cell activity.
Neuroendocrinol. Lett., **7**, 67-72.



M

- MACLUSKY, N.J., NAFTOLIN, F. & LERANTH, C. (1988)
 Immunocytochemical evidence for direct synaptic connections between corticotrophin-releasing factor (CRF) and gonadotrophin-releasing hormone (GnRH)-containing neurons in the preoptic area of the rat.
Brain Res., **439**, 391-395.
- MAKARA, G.B., STARK, E., KARTESZI, M. & PALKAVITS, M. (1981)
 Effects of paraventricular lesions on stimulated ACTH release and CRF in stalk-median eminence of the rat.
Am. J. Physiol., **E 240**, 441-446.
- MAKARA, G.B., KVETNANSKY, R., JEZOVA, D., JINDRA, A., KAKUCSKA, I. & OPRSALOVA, Z. (1986)
 Plasma catecholamines do not participate in pituitary-adrenal activation by immobilization stress in rats with transection of nerve fibers to the median eminence.
Endocrinology, **119**, 1757-1762.
- MALENDOWICZ, L.K., STACHOWIAK, A. & ZABEL, M. (1987)
 Sex differences in adrenocortical structure and function.
Exp. Clin. Endocrinol., **1**, 1-8.
- MANIEY, J., LESCOAT, G., LANOE, J., ROCHCONGAR, P. & DROUET, A.M. (1975)
 Rôle des gonades dans la maturation de la fonction corticotrope chez le rat.
C.R. Acad. Sc. [D], **280**, 2575-2578.
- MANNING, M., LAMMEK, B., BANKOWSKI, K., SETO, J. & SAWYER, W.H. (1985)
 Synthesis and some pharmacological properties of 18 potent O-alkyltyrosine-substituted antagonists of the vasopressor responses to arginine-vasopressin.
J. Med. Chem., **28**, 1485-1491.
- MAROTTA, S.F., SITHICHOKE, N., GARCY, A.M. & YU, M. (1976)
 Adrenocortical responses of rats to acute hypoxic and hypercapnic stresses after treatment with aminergic agents.
Neuroendocrinology, **20**, 182-192.
- MATSUYAMA, H., RUHMANN-WENNHOLD, A. & NELSON, D.H. (1971)
 Radioimmunoassay of plasma ACTH in intact rats.
Endocrinology, **88**, 692-695.
- MERMET, C.C. & GONON, F.G. (1988)
 Ether stress stimulates noradrenaline release in the hypothalamic paraventricular nucleus.
Neuroendocrinology, **47**, 75-82.
- MILKOVIC S. & MILKOVIC, K. (1969)
 Responsiveness of the pituitary adrenocortical system during embryonic and early postnatal periods of life.
In :Physiology and Pathology of adaptation mechanisms, E. BAJUSZ, Ed. Pergamon Press, Oxford & New-York, 28-47.

MOREL, G., FOREST, M.G. & DUBOIS, P.M. (1984)
Ultrastructural evidence for endogenous testosterone immunoreactivity in the pituitary gland of the rat.
Cell Tissue Res., **235**, 159-169.

MORRIS, I.D. (1976)
Changes in brain, pituitary and uterine cytoplasmic oestrogen receptors induced by oestradiol-17 β in the ovariectomized rat.
J. Endocrinol. **71**, 343-349.

MURAKAMI, K., HASHIMOTO, K. & OTA, Z. (1984)
Interaction of synthetic ovine corticotropin releasing factor and arginine vasopressin on in vitro ACTH release by the anterior pituitary of rats.
Neuroendocrinology, **39**, 49-53.

N

NAFTOLIN, F., RYAN, K.J., DAVIES, I.J., REDDY, V.V., FLORES, F., PETRO, Z., KUHN, M., WHITE, R.J., TAKAOKA, Y. & WOLIN, L. (1975)
The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues.
Recent Prog. Horm. Res., **31**, 295-319.

NAKAGAMI, Y., SUDA, T., YAJIMA, F., USHIYAMA, T., TOMORI, N., SUMITOMO, T., DEMURA, H. & SHIZUME, K. (1986)
Effects of serotonin, cyproheptadine and reserpine on corticotropin-releasing factor release from the rat hypothalamus in vitro.
Brain Research, **386**, 232-236.

NAKAGAWA, R., TANAKA, M., KOHNO, Y., NODA, Y. & NAGASAKI, N. (1981)
Regional responses of rat brain noradrenergic neurones to acute intense stress.
Pharmacol. Biochem. Behav., **14**, 729-732.

NAUMENKO, E.V. (1969)
Effect of local injection of 5-hydroxytryptamine into rhinencephalic and mesencephalic structures on pituitary-adrenal function in guinea-pigs.
Neuroendocrinology, **5**, 81-88.

NOUMURA, T., WEISZ, J. & LLOYD, C.W. (1966)
In vitro conversion of 7-³H-progesterone to androgens by the rat testis during the second half of fetal life.
Endocrinology, **78**, 245-253.

O

OLNEY, J.W. (1969)
Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate.
Science, **164**, 719-721.

P

PALKOVITS, M., MEZEY, E., CHIUECH, C.G., KRIEGER, T., GALLATZ, K. & BROWNSTEIN, M.J. (1986)

Serotonin-containing elements of the rat pituitary intermediate lobe.
Neuroendocrinology, **42**, 522-525.

PANEK, D.U. & DIXON, W.R. (1986)

Effect of continuous intraventricular estrogen or catechol estrogen treatment on catecholamine turnover in various brain regions.
J. Pharmacol. Exp. Ther., **236**, 646-652.

PANG, S.F., CAGGIULA, A.R., GAY, V.L., GOODMAN, R.L. & PANG, C. S. F. (1979)

Serum concentration of testosterone, oestrogens, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in male and female rats during the critical period of neural sexual differentiation.
J. Endocrinol., **80**, 103-110.

PAPADOPOULOS, G.C., KARAMANLIDIS, A.N., MICHALOUDI, H., DINOPOULOS, A., ANTONOPOULOS, J. & PARNAVELAS, J.G. (1985)

The coexistence of oxytocin and corticotropin-releasing factor in the hypothalamus : an immunocytochemical study in the rat, sheep and hedgehog.
Neurosci. Letters, **62**, 213-218.

PERKINS, S.N., EVANS, W.S., THORNER, M.O., GIBBS, D.M. & CRONIN, M.J. (1985)

β -adrenergic binding and secretory responses of the anterior pituitary.
Endocrinology, **117**, 1818-1825.

PETROVIC, S.L., McDONALD, J.K., SNYDER, G.D. & McCANN, S.M. (1983)

Characterization of β -adrenergic receptors in rat brain and pituitary using a new high-affinity ligand, [¹²⁵I] Iodocyanopindolol.
Brain Res., **261**, 249-259.

PETROVIC, S.L., McDONALD, J.K., SNYDER, G.D. & McCANN, S.M. (1984)

Testosterone control of brain and anterior pituitary β -adrenergic receptors.
Life Sci., **34**, 2399-2406.

PICON, R. (1976)

Testosterone secretion by foetal rat testes *in vitro*.
J. Endocrinol., **71**, 231-238.

PLOTSKY, P.M. (1987 a)

Regulation of hypophysiotropic factors mediating ACTH secretion.
Ann. N.Y. Acad. Sci., **512**, 205-217.

PLOTSKY, P.M. (1987 b)

Facilitation of immunoreactive corticotropin-releasing factor secretion into the hypophysial-portal circulation after activation of catecholaminergic pathways or central norepinephrine injection.
Endocrinology, **121**, 924-930.

- PLOTSKY, P.M. & SAWCHENKO, P.E. (1987)
Hypophysial-portal plasma levels, median eminence content, and immunohistochemical staining of corticotropin-releasing factor, arginine vasopressin, and oxytocin after pharmacological adrenalectomy.
Endocrinology, **120**, 1361-1369.
- PLOTSKY, P.M., BRUHN, T.O. & VALE, W. (1985 a)
Evidence for multifactor regulation of the adrenocorticotropin secretory response to hemodynamic stimuli.
Endocrinology, **116**, 633-639.
- PLOTSKY, P.M., BRUHN, T.O. & VALE, W. (1985 b)
Hypophysiotropic regulation of adrenocorticotropin secretion in response to insulin-induced hypoglycemia.
Endocrinology, **117**, 323-329.
- PLOTSKY, P.M., OTTO, S. & SAPOLSKY, R.M. (1986)
Inhibition of immunoreactive corticotropin-releasing factor secretion into the hypophysial-portal circulation by delayed glucocorticoid feedback.
Endocrinology, **119**, 1126-1130.
- PLOTSKY, P.M., OTTO, S. & SUTTON, S. (1987)
Neurotransmitter modulation of corticotropin releasing factor secretion into the hypophysial-portal circulation.
Life Sci., **41**, 1311-1317.
- R
- RAINBOW, T. C., PARSONS, B. & McEWEN, B.S. (1982)
Sex differences in rat brain oestrogen and progestin receptors.
Nature, **300**, 648-649.
- RAYMOND, V., LEPINE, J., GIGUERE, V., LISSITZKY, J.C., COTE, J. & LABRIE, F. (1981)
Parallel stimulation of ACTH, β -LPH + β -endorphin and α -MSH release by α -adrenergic agents in rat anterior pituitary cells in culture.
Mol. Cell. Endocrinol., **22**, 295-303.
- RAYNAUD, J.P., MERCIER-BODARD, C. & BAULIEU, E.E. (1971)
Rat estradiol binding plasma protein (EBP).
Steroids, **18**, 767-788.
- RECHT, L.D., HOFFMAN, D.L., HALDAR, J., SILVERMAN, A.J. & ZIMMERMAN, E.A. (1981)
Vasopressin concentrations in hypophysial portal plasma : insignificant reduction following removal of the posterior pituitary gland.
Neuroendocrinology, **33**, 88-90.
- REDDY, V.V.R., NAFTOLIN, F. & RYAN, K.J. (1974)
Conversion of androstenedione to estrone by neural tissues from fetal and neonatal rats.
Endocrinology, **94**, 117-121.

- REPERT, S.M. & UHL, G.R. (1987)
Vasopressin messenger ribonucleic acid in supraoptic and suprachiasmatic nuclei : appearance and circadian regulation during development.
Endocrinology, **120**, 2483-2487.
- REYMOND, M.J. & PORTER, J.C. (1982)
Hypothalamic secretion of dopamine after inhibition of aromatic L-amino acid decarboxylase activity.
Endocrinology, **111**, 1051-1056.
- RHODA, J., CORBIER, P., ROFFI, J., CASTANIER, M & SCHOLLER, R. (1983)
Élévation du taux d'oestradiol dans l'hypothalamus du rat mâle, à la naissance.
C.R. Acad. Sci. [III], **296**, 405-408.
- RHODA, J., CORBIER, P., ROFFI, J. (1984)
Gonadal steroid concentrations in serum and hypothalamus of the rat at birth : aromatization of testosterone to 17 β -estradiol.
Endocrinology, **114**, 1754-1760.
- RIVIER, C.L. & PLOTSKY, P.M. (1986)
Mediation by corticotropin releasing factor (CRF) of adenohipophysial hormone secretion.
Annu. Rev. Physiol., **48**, 475-494.
- RIVIER, C. & VALE, W. (1983)
Modulation of stress-induced ACTH release by corticotropin-releasing factor, catecholamines and vasopressin.
Nature, **305**, 325-327.
- ROFFI, J., CORBIER, P. & KERDELHUE, B. (1977)
Stimulation de la sécrétion de LH et de FSH et augmentation du poids testiculaire à la naissance, chez le rat.
C.R. Acad. Sc. [D], **284**, 1313-1316.
- ROFFI, J., RHODA, J., VALENS, M. & CHAMI, F. (1985)
Influence de la lumière et de la température sur la testostéronémie du rat nouveau-né.
J. Physiol. (Paris), **80**, 16 A.
- ROTH, K.A., KATZ, R.J., SIBEL, M., MEFFORD, I.N., BARCHAS, J.D. & CARROLL, B.J. (1981)
Central epinephrine inhibition of corticosterone release in rat.
Life Sci., **28**, 2389-2394.
- ROTH, K.A., WEBER, E. & BARCHAS, J.D. (1982)
Immunoreactive corticotropin releasing factor (CRF) and vasopressin are colocalized in a subpopulation of the immunoreactive vasopressin cells in the paraventricular nucleus of the hypothalamus.
Life Sci., **31**, 1857-1860.
- RUDOLPH, C.D., KAPLAN, S.L. & GANONG, W.F. (1980)
Sites at which clonidine acts to affect blood pressure and the secretion of renin, growth hormone and ACTH.
Neuroendocrinology, **31**, 121-128.

S

- SAKLY, M., SCHMITT, G. & KOCH, B. (1982)
CRF enhances release of both α MSH and ACTH anterior and intermediate pituitary.
Neuroendocrinol. Lett., **4**, 289-293.
- SAPOLSKY, R.M. & MEANEY, M.J. (1986)
Maturation of the adrenocortical stress response : neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period.
Brain Res. Rev., **11**, 65-76.
- SAWCHENKO, P.E. (1988)
Effects of catecholamine-depleting medullary knife cuts on corticotropin-releasing factor and vasopressin immunoreactivity in the hypothalamus of normal and steroid-manipulated rats.
Neuroendocrinology, **48**, 459-470.
- SAWCHENKO, P.E., SWANSON, L.W. & VALE, W.W. (1984 a)
Corticotropin-releasing factor : co-expression within distinct subsets of oxytocin-, vasopressin-, and neurotensin-immunoreactive neurons in the hypothalamus of the male rat.
J. Neurosci., **4**, 1118-1129.
- SAWCHENKO, P.E., SWANSON, L.W. & VALE, W.W. (1984 b)
Co-expression of corticotropin-releasing factor and vasopressin immunoreactivity in parvocellular neurosecretory neurons of the adrenalectomized rat.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **81**, 1883-1887.
- SAWYER W.H., MANNING, M. (1988)
The development of potent and specific vasopressin antagonists.
Kidney Int., (suppl. 26), **34**, S 34 - S 37.
- SAWYER W.H., BANKOWSKY, K., MISICKA, A., NAWROCKA, E., KRUSZYNSKI, M., STOEV, S., KLIS, W.A., PRZYBYLSKI, J.P., & MANNING, M. (1988)
Potent V₂ vasopressin antagonists with structural changes at their C-terminal.
Peptides, **9**, 157-163.
- SCAPAGNINI, U. & PREZIOSI, P. (1973)
Receptor involvement in the central noradrenergic inhibition of ACTH secretion in the rat.
Neuropharmacology, **12**, 57-62.
- SCAPAGNINI, U., VAN LOON, G.R., MOBERG, G.P., PREZIOSI, P. & GANONG, W.F. (1971)
Evidence for a central adrenergic inhibition of ACTH secretion in rat.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak., **269**, 408.
- SCAPAGNINI, U., ANNUNZIATO, L., LOMBARDI, G., OLIVER, Ch. & PREZIOSI, P. (1975)
Time-course of the effect of α -methyl-p-tyrosine on ACTH secretion.
Neuroendocrinology, **18**, 272-276.
- SCAPAGNINI, U., ANNUNZIATO, L., DI RENZO, G., LOMBARDI, G. & PREZIOSI, P. (1976)
Chronic treatment with reserpine and adrenocortical activation.
Neuroendocrinology, **20**, 243-249.

- SCHAPIRO, S., GELLER, E. & EIDUSON, S. (1962)
Neonatal adrenal cortical response to stress and vasopressin.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **109**, 937-941.
- SCHOENFELD, N.M., LEATHEM, J.H. & RABII, J. (1980)
Maturation of adrenal stress responsiveness in the rat.
Neuroendocrinology, **31**, 101-105.
- SCHWARTZ J. & VALE, W. (1988)
Dissociation of the adrenocorticotropin secretory responses to corticotropin-releasing factor (CRF) and vasopressin or oxytocin by using a specific cytotoxic analog of CRF.
Endocrinology, **122**, 1695-1700.
- SHIMIZU, K. (1984)
Effect of α_1 - and α_2 -adrenoceptor agonists and antagonists on ACTH secretion in intact and in hypothalamic deafferented rats.
Jpn. J. Pharmacol., **36**, 23-33.
- SIRI, F.M. & KAUER, C.D. (1985)
Plasma catecholamine measurements in resting and stressed conscious rats, using high performance liquid chromatography with electrochemical detection.
Life Sci., **37**, 1923-1931.
- SLOB, A.K., OOMS, M.P. & VREEBURG, J. T. M. (1980)
Prenatal and early postnatal sex differences in plasma and gonadal testosterone and plasma luteinizing hormone in female and male rats.
J. Endocrinol., **87**, 81-87.
- SMANIK, E.J., KENNETH YOUNG, H., MULDOON, T.G. & MAHESH, V.B. (1983)
Analysis of the effect of progesterone *in vivo* on estrogen receptor distribution in the rat anterior pituitary and hypothalamus.
Endocrinology, **113**, 15-22.
- SMYTHE, G.A., BRADSHAW, J.E. & VINING, R.F. (1983)
Hypothalamic monoamine control of stress-induced adrenocorticotropin release in the rat.
Endocrinology, **113**, 1062-1071.
- SPENCER, G.S.G. & LISTER, D. (1983)
The effect of α -adrenergic blockade on the release of ACTH and cortisol *in vivo*.
Horm. Metab. Res., **15**, 230-232.
- SPINEDI, E. & NEGRO-VILAR, A. (1983)
Serotonin and adrenocorticotropin (ACTH) release : direct effects at the anterior pituitary level and potentiation of arginine vasopressin-induced ACTH release.
Endocrinology, **112**, 1217-1223.
- SPINEDI, E., HERRERA, L. & CHISARI, A. (1988 a)
Angiotensin II (A II) and adrenocorticotropin release : modulation by estradiol of the A II biological activity and binding characteristics in anterior pituitary dispersed cells.
Endocrinology, **123**, 641-646.

- SPINEDI, E., JOHNSTON, C.A., CHISARI, A. & NEGRO-VILAR, A. (1988 b)
Role of central epinephrine on the regulation of corticotropin-releasing factor and adrenocorticotropin secretion.
Endocrinology, **122**, 1977-1983.
- SUDA, T., YAJIMA, F., TOMORI, N., SUMITOMO, T., NAKAGAMI, Y., USHIYAMA, T., DEMURA, H. & SHIZUME, K. (1987)
Inhibitory effect of norepinephrine on immunoreactive corticotropin-releasing factor release from the rat hypothalamus in vitro.
Life Sci., **40**, 1645-1649.
- SUH, B.Y., LIU, J.H., RASMUSSEN, D.D., GIBBS, D.M., STEINBERG, J. & YEN, S.S.C. (1986)
Role of oxytocin in the modulation of ACTH release in women.
Neuroendocrinology, **44**, 309-313.
- SUZUKI, T., ABE, K. & HIROSE, T. (1975)
Adrenal cortical secretion in response to pilocarpine in dogs with hypothalamic lesions.
Neuroendocrinology, **17**, 75-82.
- SWAAB, M.F., DOGTEROM, J., VAN LEEUWEEN, F.W. & BOER K (1977)
Arginine-vasotocin in the foetal rat pituitary gland.
J. Endocrinol., **72**, 4P-5P.
- SZAFARCZYK, A., ALONSO, G., IXART, G., MALAVAL, F. & ASSENMACHER, I. (1985)
Diurnal-stimulated and stress-induced ACTH release in rats is mediated by ventral noradrenergic bundle.
Am. J. Physiol., **249**, E219-E226.
- SZAFARCZYK, A., MALAVAL, F., LAURENT, A., GIBAUD, R. & ASSENMACHER, I. (1987)
Further evidence for a central stimulatory action of catecholamines on adrenocorticotropin release in the rat.
Endocrinology, **121**, 883-892.
- SZAFARCZYK, A., GUILLAUME, V., CONTE-DEVOLX, B., ALONSO, G., MALAVAL, F., PARES-HERBUTE, N., OLIVER, C. & ASSENMACHER, I. (1988)
Central catecholaminergic system stimulates secretion of CRH at different sites.
Am. J. Physiol., **255**, E463-E468.

T

- TANG, F. & PHILLIPS, J.G. (1977)
Pituitary-adrenal response to ether stress in the neonatal rat.
J. Endocrinol., **75**, 183-184.
- TATE, P.W., NEWELL, D.C., COOK, E.E., MARTINSON, D.R. & HAGEN, T.C. (1983)
Lack of effect of serotonin and norepinephrine on CRF release from hypothalamus in vitro.
Horm. Metab. Res. **15**, 342-346.
- TELEGDY, G., SCHREIBER, G. & ENDRÖCZI, E. (1964)
Effect of oestrogens implanted into the hypothalamus on the activity of the pituitary-adrenocortical system.
Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. **25**, 229-234.

- TODD, K., LIGHTMAN, S.L. (1987)
 Vasopressin activation of phosphatidylinositol metabolism in rat anterior pituitary in vitro and its modification by changes in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis.
Neuroendocrinology, **45**, 212-218.
- TOMORI, N., SUDA, T., NAKAGAMI, Y., TOZAWA, F., SUMITOMO, T., USHIYAMA, T., DEMURA, H. & SHIZUME, K. (1989)
 Adrenergic modulation of adrenocorticotropin responses to insulin-induced hypoglycemia and corticotropin-releasing hormone.
J. Clin. Endocrinol. Metab., **68**, 87-93.
- TRAMU, G., CROIX, C. & PILLEZ, A. (1983)
 Ability of the CRF immunoreactive neurons of the paraventricular nucleus to produce a vasopressin-like material.
Neuroendocrinology, **37**, 467-469.
- TUOMISTO, J. & MÄNNISTÖ, P. (1985)
 Neurotransmitter regulation of anterior pituitary hormones.
Pharmacol. Rev., **37**, 249-332.
- TURKELSON, C.M., DUNLAP, J.L., MacPHEE, A.A. & GERALL, A.A. (1977)
 Assay of perinatal testosterone and influence of anti-progesterone and theophylline on induction of sterility.
Life Sci., **21**, 1149-1158.

U

- UPTON, G.V. & CORBIN, A. (1975)
 Effect of a specific dopaminergic blocking agent, pimozide, on hypothalamic corticotropin-releasing-factor activity in rats : clinical correlates.
Experientia, **31**, 249-250.

V

- VALE, W., RIVIER, C., YANG, L., MINICK, S. & GUILLEMIN, D. (1978)
 Effects of purified hypothalamic corticotropin-release factor and other substances on the secretion of adrenocorticotropin and β -endorphin-like immunoactivities in vitro.
Endocrinology, **103**, 1910-1915.
- VALE, W., VAUGHAN, J., SMITH, M., YAMAMOTO, G., RIVIER, J. & RIVIER, C. (1983)
 Effects of synthetic ovine corticotropin-releasing factor, glucocorticoids, catecholamines, neurohypophysial peptides, and other substances on cultured corticotropic cells.
Endocrinology, **113**, 1121-1131.
- VAN BAELEN, H., VANDOREN, G. & DE MOOR, P. (1977)
 Concentration of transcortin in the pregnant rat and its fetuses.
J. Endocrinol. **75**, 427-431.
- VAN DE KAR, L.D., KARTESZI, M., BETHEA, C.L. & GANONG, W.F. (1985)
 Serotonergic stimulation of prolactin and corticosterone secretion is mediated by different pathways from the mediobasal hypothalamus.
Neuroendocrinology, **41**, 380-384.

- VAN LOON, G.R. & KRAGT, C.L. (1970)
Effect of dopamine on the biological activity and in vitro release of ACTH and FSH (34639).
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **138**, 1137-1141.
- VAN LOON, G.R., HILGER, L., KING, A.B., BORYCZKA, A.T. & GANONG, W.F. (1971 a)
Inhibitory effect of l-dihydroxyphenylalanine on the adrenal venous 17-hydroxycorticosteroid response to surgical stress in dogs.
Endocrinology, **88**, 1404-1414.
- VAN LOON, G.R., SCAPAGNINI, U., MOBERG, G.P. & GANONG, W.F. (1971 b)
Evidence for central adrenergic neural inhibition of ACTH secretion in the rat.
Endocrinology, **89**, 1464-1469.
- VERMES, I. & TELEGDY, G. (1977)
Effect of stress on activity of the serotonergic system in limbic brain structures and its correlation with pituitary-adrenal function in the rat.
Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., **49**, 37-44.
- W
- WALKER, C.D., PERRIN, M., VALE, W. & RIVIER C. (1986)
Ontogeny of the stress response in the rat : role of the pituitary and the hypothalamus.
Endocrinology, **118**, 1445-1451.
- WARREN, D.W., HALTMEYER, G.C., EIK-NES, K.B. (1973)
Testosterone in the fetal rat testis.
Biol. Reprod., **8**, 560-565.
- WARREN, D.W., HALTMEYER, G.C. & EIK-NES, K.B. (1975)
The effect of gonadotrophins on the fetal and neonatal rat testis.
Endocrinology, **96**, 1226-1229.
- WATANABE, T. & ORTH, D.N. (1988)
Effects of several in vitro systems on the potencies of putative adrenocorticotropin secretagogues on rat anterior pituitary cells.
Endocrinology, **122**, 2299-2308.
- WEINER, R.I. & GANONG, W.F. (1978)
Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion.
Physiol. Rev., **55**, 905-928.
- WEISZ, J. & WARD, I.L. (1980)
Plasma testosterone and progesterone titers of pregnant rats, their male and female fetuses, and neonatal offspring.
Endocrinology, **106**, 306-316.
- WEISZ, J., BROWN, B.L. & WARD, I.L. (1982)
Maternal stress decreases steroid aromatase activity in brains of male and female fetuses.
Neuroendocrinology, **35**, 374-379.

- WHITNALL, M.H. (1988)
Distributions of pro-vasopressin expressing and pro-vasopressin deficient CRH neurons in the paraventricular hypothalamic nucleus of colchicine-treated normal and adrenalectomized rats.
J. Comp. Neurol., **275**, 13-28.
- WHITNALL, M.H., MEZEY, E. & GAINER, H. (1985)
Co-localization of corticotropin-releasing factor and vasopressin in median eminence neurosecretory vesicles.
Nature, **317**, 248-250.
- WHITNALL, M.H., SMYTH, D. & GAINER, H. (1987)
Vasopressin coexists in half of the corticotropin-releasing factor axons present in the external zone of the median eminence in normal rats.
Neuroendocrinology, **45**, 420-424.
- WIDMAIER, E.P., LIM, A.T. & VALE, W. (1989)
Secretion of corticotropin-releasing factor from cultured rat hypothalamic cells : effects of catecholamines.
Endocrinology, **124**, 583-590.
- WILCOX, C.S., AMINOFF, M.J., MILLAR, J.G.B., KEENAN, J. & KREMER, M. (1975)
Circulating levels of corticotrophin and cortisol after infusions of l-dopa, dopamine and noradrenaline, in man.
Clin. Endocrinol., **4**, 191-198.
- WILLIAMS, T.D.M., CARTER, D.A. & LIGHTMAN, S.L. (1985)
Sexual dimorphism in the posterior pituitary response to stress in the rat.
Endocrinology, **116**, 738-740.

Z

- ZACNY, E. & BUGAJSKI, J. (1984)
Effect of intracerebroventricular clonidine on serum corticosterone levels in rats.
Horm. Res., **20**, 116-123.



PPN 036112275

CONTROLE MULTIFACTORIEL DE LA FONCTION CORTICOTROPE DE L'HYPOPHYSE DU RAT NOUVEAU-NE

RESUME

L'aptitude de l'hypophyse du rat nouveau-né à sécréter de l'ACTH dans diverses conditions de stimulation *in vivo* et *in vitro* a été testée chez les mâles et les femelles des mêmes portées. L'étude a été réalisée à l'âge de 8 jours quand l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysé-surrénalien est au plus bas.

La fonction corticotrope de l'hypophyse est stimuable par une inhalation d'éther mais la réponse est plus faible que chez l'adulte et plus éphémère chez le mâle que chez la femelle. L'injection de testostérone à la femelle au moment de la naissance confère à celle-ci une réponse de type mâle au stress à l'éther. La castration du nouveau-né mâle est sans effet. L'œstradiol et la testostérone ne modifient pas *in vitro* la sécrétion d'ACTH par le lobe antérieur de l'hypophyse (LA) d'animaux des deux sexes. La noradrénaline (NA) et la sérotonine potentialisent, dans les deux sexes, la réponse au stress éther; les effets de la NA sont diminués par un α -bloquant, la phénoxybenzamine. Par contre, *in vitro*, la NA diminue légèrement la sécrétion d'ACTH induite par le CRF à partir de LA de mâles mais non de femelles.

In vitro le CRF et l'AVP, mais non l'ocytocine (OT), sont capables d'induire une sécrétion élevée d'ACTH par des LA de mâles et de femelles. L'AVP dans les deux sexes et l'OT seulement chez les femelles potentialisent l'action du CRF. La lyspressine et le dDAVP, agonistes des récepteurs vasopressinergiques, stimulent également la sécrétion d'ACTH. Des antagonistes des récepteurs vasopressinergiques de type V1 et de type V2 inhibent ou diminuent l'effet ACTH-sécréteur propre et l'effet potentialisateur de l'AVP dans les deux sexes ainsi que l'action potentialisatrice de l'OT observée chez les femelles.

L'hypophyse du rat nouveau-né de 8 jours est donc capable de sécréter de l'ACTH en forte quantité *in vitro* sous l'impulsion du CRF mais faiblement *in vivo* lors d'un stress à l'éther.

Ces résultats suggèrent

- (1) une certaine déficience des mécanismes neuro-endocriniens impliqués dans l'activation de la fonction corticotrope du nouveau-né
- (2) une sexualisation périnatale de ces mécanismes qui pourrait être androgéno-dépendante et antérieure à la naissance chez le mâle
- (3) un effet stimulant de la noradrénaline sur l'activation de la fonction corticotrope
- (4) une modulation par l'AVP et/ou l'OT de la sécrétion d'ACTH induite par le CRF *in vitro*
- (5) l'existence dans le LA de l'hypophyse de nouveau-né de récepteurs vasopressinergiques différents des récepteurs de type V1 et de type V2 .