

N° d'ordre : 03/2003-E/S.N

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
HOUARI BOUMEDIENE
USTHB/ALGER
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES

THESE

Présentée pour l'obtention du grade de :

DOCTORAT D'ETAT

En : SCIENCE DE LA NATURE
SPECIALITE : Biologie Animale

Par : M^{me} Nemcha LEBAILI - BENMOUSSA

SUJET :

ETUDE DU LOBE INTERMEDIAIRE DE L'HYPOPHYSE ET DU
SYSTEME HYPOTHALAMO-NEUROHYPOPHYSIAIRE CHEZ UN RONGEUR
SAHARIEN : LA GERBILLE (*Gerbillus pyramidum*) DANS DES
CONDITIONS D'HYDRATATION ET DE DESHYDRATATION.

Analyses immunocytochimique et ultrastructurale en microscopie
électronique à transmission.

Soutenue publiquement le : 25 octobre 2003 Devant le jury composé de :

Mr G. AYAD	Professeur, USTHB-Alger	Président
Mme M. BENDJELLOUL	Professeur, USTHB-Alger	Directrice de Thèse
Mme M.E. STOECKEL	Professeur, ULP-Strasbourg	Examineur
Mme Z. AMIRAT	Professeur, USTHB-Alger	Examineur
Mr A. CALAS	Professeur, UPMC-Paris	Examineur
Mr A. CHAOUCH	Professeur, CHU-BA-Alger	Examineur

AVANT PROPOS

J'exprime ma vive reconnaissance à Madame Mounira BENDJELLOUL Professeur à l'USTHB d'Alger, pour m'avoir accueillie dans son équipe de recherche et qui par sa participation à l'encadrement de cette thèse, a toujours été présente par ses conseils fructueux. J'ai pu apprécier ses grandes qualités humaines, scientifiques et pédagogiques.

Je tiens également à témoigner ma profonde gratitude à Madame Marie-Elisabeth STOECKEL Directeur de recherche CNRS à l'Université Louis Pasteur de Strasbourg pour son accueil chaleureux dans son laboratoire de physiologie générale qui m'a permis de réaliser ce travail et de pouvoir bénéficier très souvent de son expérience et de son enseignement. Je voudrais pouvoir lui dire combien il est enrichissant de travailler sur ses conseils et avec son aide et combien je suis touchée par son soutien constant et très amical.

Monsieur Ghazi AYAD Professeur à l'USTHB d'Alger, a bien voulu me faire l'honneur d'accepter la présidence de ce jury. Je tiens à le remercier vivement pour ses encouragements et l'intérêt qu'il a manifesté à ce travail.

Monsieur André CALLAS Professeur à l'Université Pierre et Marie Curie de Paris, malgré ses nombreuses responsabilités a bien voulu prendre sur son précieux temps pour examiner mon travail et être membre du jury. Consciente de la valeur de son jugement, je l'assure de ma profonde gratitude.

Mademoiselle Zaina AMIRAT Professeur à l'USTHB d'Alger, me fait l'immense plaisir de participer à ce jury en accordant son attention à ce travail et en acceptant de le juger. Qu'elle trouve ici l'expression de mes vifs remerciements.

Monsieur Athmane CHAOUCH Professeur, chef de service de Neurologie de l'hôpital de Ben Aknoun d'Alger a, malgré ses nombreuses responsabilités dans le milieu hospitalo-universitaire, accepté d'examiner ce travail et de faire partie du jury. Qu'il soit assuré de mes meilleurs remerciements pour la critique de cette thèse.

Je tiens à remercier chaleureusement Sarah SCHIMCHOWITSCH et plus particulièrement Marie-Jeanne KLEIN pour la précieuse aide technique qu'elles ont souvent apporté à ce travail, pour leur amitié et leur gentillesse et pour m'avoir fait apprécier de nombreuses fois les sorties alsaciennes.

Je remercie également, tous les membres du laboratoire de physiologie cellulaire et intégrée de Strasbourg, auprès desquels j'ai trouvé gentillesse et assistance.

Je suis également heureuse de pouvoir remercier tous mes collègues du département de Biologie de l'Ecole Normale Supérieure de Kouba principalement Monsieur **ZAOUI**, chef de département ainsi que mes collègues et amis enseignants de physiologie animale pour leur aide et soutien.

Ma sympathie va également à mes collègues et amies du laboratoire de neurobiologie de la faculté de biologie à l'USTHB d'Alger.

J'exprime toute ma gratitude pour toutes les personnes qui, par leurs aides, conseils et collaborations ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Enfin, que tous les parents et amis qui m'ont apporté leur appui, soient chaleureusement remerciés.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION ET PRESENTATION DU SUJET	1
Chapitre I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	6
Partie I : Données anatomiques, structurales et physiologiques de l'hypophyse en général et du lobe intermédiaire en particulier	7
1- ANATOMIE DE L'HYPOPHYSE	8
1-1- Le lobe nerveux (LN)	8
1-2- L'adenohypophyse	8
2- HISTOLOGIE DE L'ADENOHYPOPHYSE DE RAT	9
2-1- Le lobe antérieur (LA)	9
2-2- Le lobe tubéral (LT)	11
2-3- Le lobe intermédiaire (LI)	11
2-3-1- Les divers types cellulaires	12
2-3-2- L'innervation	13
3- LA PROOPIOMELANOCORTINE (POMC)	14
3-1- Localisation	14
3-2- Gènes et modifications post-traductionnelles de la POMC	15
3-3- Expression de la POMC au cours du développement	16
3-4- Régulation de la synthèse et de la sécrétion des dérivés de la POMC dans l'hypophyse	17
3-4-1- Dans le LA	17
3-4-2- Dans le LI	19
3-4-2-1- La dopamine	19
3-4-2-2- L'acide gamma aminobutyrique (GABA)	20
3-4-2-3- La sérotonine	21
3-4-2-4- Les peptides	21
3-4-2-5- La CRH	21
3-4-2-6- La TRH	21

3-4-2-7- L'adrénaline et la noradrénaline	22
3-4-2-8- Les glucocorticoides (GC)	22
4- ROLE PHYSIOLOGIQUE DU LI	23
Partie II : Le système neurosécrétoire hypothalamo- neurohypophysaire : données anatomo-fonctionnelles.	25
1- NEUROANATOMIE DU SYSTEME	26
1-1- Les noyaux supraoptiques (NSO)	26
1-2- Les noyaux paraventriculaires (NPV)	26
1-3- Les neurones magnocellulaires	27
1-4- La neurohypophyse	28
1-4-1- L'éminence médiane (EM)	28
1-4-2- Le lobe nerveux (LN)	29
2- DIFFERENCIATION	30
3- PEPTIDES ET COLOCALISATIONS	31
4- INNERVATION ET REGULATION	34
5- ROLE PHYSIOLOGIQUE	35
Chapitre II : MATERIEL ET METHODES	40
1- BIOTOPE	41
2- ANIMAUX ET GROUPES EXPERIMENTAUX	41
2-1- Habitat et mœurs	41
2-2- Caractéristiques morphologiques	42
2-3- Capture et élevage	42
2-4- Traitement des animaux	43
3- PRELEVEMENT ET PREPARATION DES TISSUS	44
3-1- Fixation	44

3-2- Inclusion	45
3-3- Coupes	45
3-3-1- Coupes semi-fines	46
3-3-2- Coupes ultrafines	46
3- 3-3- Coupes au vibratome	46
4- IMMUNOCYTOCHIMIE	47
4-1- Principe	47
4-2- Techniques immunocytochimiques	51
4-2-1- Microscopie photonique	51
4-2-1-1- Traitement des coupes	52
4-2-1-1-1- Protocole d'immunohistochimie sur coupes semi-fines	52
- Technique du Fab couplés à la peroxydase de Raifort	52
- Technique du complexe « Avidine-Biotine-Peroxydase »	53
4-2-1-1-2- Protocole d'immunohistochimie sur coupes flottantes	54
4-2-2- Immunocytochimie ultrastructurale	54
4-2-3- Caractéristiques des anticorps utilisés	55
4-2-3-1- Anticorps primaires	55
4-2-3-2- Anticorps secondaires	56
4-2-3-3- Tests de spécificité	57
Chapitre III : ETUDE DU LOBE INTERMEDIAIRE DE L'HYPOPHYSE DE GERBILLE	58
1-INTRODUCTION	59
2- RESULTATS	60
2-1- Immunocytochimie en microscopie photonique	60
2-1-1- Les cellules glandulaires	60
2-1-2- Les cellules folliculostellaires (CFS)	60
2-1-3- L'innervation	61
2-2- Microscopie électronique	62
2-2-1- Les cellules glandulaires	62
2-2-1-1- Les cellules mélanotropes	62
2-2-1-2- Les cellules de type corticotrope	64
2-2-2- Les cellules folliculostellaires	65

2-2-3- L'innervation	65
3- DISCUSSION	66
3-1- Les cellules glandulaires	66
3-2- Les cellules folliculostellaires	68
3-3- L'innervation	70
3-4- Implications fonctionnelles	71
Chapitre IV : ETUDE DU SYSTEME NEUROSECRETIOIRE HYPOTHALAMO-NEUROHYPOPHYSAIRE	76
1- INTRODUCTION	77
2- RESULTATS	78
2-1- SPECIFICITE DES ANTICORPS	78
2-2- DISTRIBUTION DES NEURONES VP ET OT DANS LES NOYAUX HYPOTHALAMIQUES DE GERBILLE	79
2-2-1- Les noyaux supraoptiques (NSO)	79
2-2-2- Les noyaux rétrochiasmatiques (NRCh)	80
2-2-3- Les noyaux paraventriculaires (NPV)	80
2-2-4- Les noyaux accessoires	82
2-3- LA NEUROHYPOPHYSE	83
2-3-1- L'�minence médiane (EM)	83
2-3-2- Le lobe nerveux (LN)	84
2-3-2-1- Microscopie photonique	84
2-3-2-2- Microscopie �lectronique	85
2-4- VARIATIONS DU SYSTEME NEUROSECRETIOIRE HYPOTHALAMO-NEUROHYPOPHYSAIRE EN FONCTION DE L'ETAT D'HYDRATATION	86
2-4-1- Les neurones magnocellulaires	86
2-4-2- La neurohypophyse	87
2-4-2-1- L'�minence médiane	87

2-4-2-2- Le lobe nerveux	87
2-4-2-2-1- Immunocytochimie en microscopie photonique	87
2-4-2-2-2- Microscopie électronique	89
3- DISCUSSION	90
3-1- Considérations techniques	90
3-2- Distribution des neurones VP et OT	90
3-2-1- Les noyaux supraoptiques (NSO)	91
3-2-2- Les noyaux rétochiasmiques (NRCh)	92
3-2-3- Les noyaux paraventriculaires (NPV)	92
3-2-4- Les noyaux accessoires	94
3-3- Structure du LN	96
3-4- Effet de l'hydratation et de la déshydratation sur le système hypothalamo-neurohypophysaire	98
3-4-1- Les neurones magnocellulaires	98
3-4-2- Le lobe nerveux (LN)	102
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	108
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	119

ABBREVIATIONS UTILISEES

ABREVIATIONS UTILISEES :

ACTH :	adrenocorticotropique hormone.
AC :	anticorps.
AdC :	adenylate cyclase.
α MSH :	α -melanocyte stimulating hormone.
AMPC :	adenosine monophosphate cyclique.
ARNm :	acide ribonucléique messenger.
Arg :	arginine.
β -EP :	β - endorphine peptide.
β -LPH :	β - lipo protein hormone.
CLIP :	corticotropique like intermediate lobe peptide.
CRH :	corticotrophin relaising hormone (corticolibérine).
FSC :	cellule folliculostellaire.
FSH :	follicle stimulating hormone.
GABA :	γ -aminobutyric acid.
GAD :	glutamic acid decarboxylase.
GFAP :	glial fibrillary acid protein.
GC :	glucocorticoide.
GH :	growth hormone.
γ - LPH :	γ - lipo protein hormone.
GNS :	granules neurosécrétoires.
γ 3-mSH :	γ 3-melanocyte stimulating hormone.
HIS :	hibridation in situ.
ICSH :	interstitial cell stimulating hormone.
Ir :	immunoréactivité.
LA :	lobe antérieur.

LH:	luteinizing hormone.
LI :	lobe intermédiaire.
LN :	lobe nerveux.
LNI :	lobe neurointermediaire.
LT :	lobe tuberal.
Npe :	noyau périventriculaire
NPV :	noyau paraventriculaire.
NSO :	noyau supraoptique.
NSCh :	noyau suprachiasmatique
NRCh :	noyau rétrochiasmatique.
OT :	ocytocine.
OVLT :	organe vasculaire de la lame terminale.
PACAP :	peptide hypophysaire activateur de l'adenylate cyclase.
PC :	post coit.
PC1 :	endopeptidase 1.
PC2 :	endopeptidase 2.
PBS :	phosphate-buffered saline.
PKA :	proteine kinase AMPc dépendante.
POMC :	proopiomelanocortine.
PRL :	prolactine.
RG :	recepteur glucocorticoide.
TH :	tyrosine hydroxylase.
TN :	terminaison nerveuse.
TRH :	thyroïolibérine (thyreo-releasing hormone).
TSH :	thyroïostimuline (thyreo-stimulating hormone).
VIP :	peptide vasointestinal.
VP :	vasopressine.

INTRODUCTION et PRESENTATION DU SUJET

INTRODUCTION et PRESENTATION DU SUJET

Le Sahara, désert chaud des zones arides est caractérisé par des températures élevées et des précipitations faibles et irrégulières. Malgré leurs conditions climatiques défavorables et leur apparente inhospitalité, les déserts abritent de nombreuses espèces de mammifères. Pour y survivre, les rongeurs ont développé différentes stratégies adaptatives. Grâce à une double adaptation, comportementale et physiologique, la plupart des rongeurs désertiques sont capables d'assurer la régulation de leur température corporelle et parviennent à maintenir l'équilibre hydrique de leur organisme.

En effet, pour échapper aux conditions rigoureuses du climat, de nombreux rongeurs désertiques adaptent un rythme de vie nocturne et construisent des terriers plus ou moins profonds, maintenant ainsi un certain degré hygrométrique (Peter, 1961; Hooper et coll., 1972). L'économie de l'eau chez ces rongeurs constitue l'un des exemples les plus frappant de l'adaptation physiologique à l'environnement (Schmidt-Nielsen et Schmidt-Nielsen, 1961). Alors que les connaissances sur la régulation de l'équilibre hydrominéral chez les espèces vivant dans les zones tempérées sont exhaustives, celles concernant les espèces vivant dans les milieux arides sont moins nombreuses et sont généralement considérées surtout sur le plan des adaptations périphériques rénales. Les facteurs éthologiques et les adaptations physiologiques périphérique intervenant dans l'économie de l'eau chez les rongeurs désertiques, demeurent insuffisants sans une régulation centrale neuroendocrinienne. Le système hypothalamo-neurohypophysaire est le plus étudié et le mieux connu pour son implication dans la régulation hydrominérale.

Des études ont été réalisées sur le lobe intermédiaire de l'hypophyse chez différentes espèces de rongeurs et certaines données suggèrent son implication dans la régulation de l'équilibre hydrominéral. Ce lobe est essentiellement composé de cellules mélanotropes qui synthétisent l' α -MSH à partir d'un précurseur commun aux cellules corticotropes du lobe antérieur, la POMC (pro-opiomélanocortine). Legait et coll., (1966) ont rapporté que le lobe intermédiaire de l'hypophyse était particulièrement développé chez les rongeurs adaptés à la vie désertique et montre des modifications histologiques durant l'épreuve de déshydratation. L'injection d'une solution saline provoque une libération d' α -MSH chez le rat (Taleisnik et coll., 1973 ; Cyrkowics et Traczyk, 1975). Un effet natriurétique a été montré chez le rat (Orias et McCann, 1970, 1972), et le hamster (Hradec et Horkyk, 1979). Des variations histologiques du lobe intermédiaire et des changements dans le contenu en α -MSH après surcharge en sodium ont été observés chez le rat (Duchen, 1962 ; 1968 ; Kastin, 1967; Howe et Thody, 1970). Des études morphométriques chez la souris, révèlent une stimulation transitoire des cellules mélanotropes à la fois après surcharge ou privation en sodium (Kobayashi et Takema 1976, Shmitt et coll., 1982) et après hydratation excessive (Kobayashi et coll. 1984). D'autres observations ont montré une modification du contenu en α -MSH, du taux d'ARNm codant pour la POMC et de la biosynthèse de la POMC dans le lobe intermédiaire de souris après surcharge en sodium (Elkabes et Loh, 1988) et après déshydratation ou hydratation excessive (Leenders et coll., 1990), suggérant que les peptides dérivés de la POMC du lobe intermédiaire de l'hypophyse sont probablement impliqués dans l'osmorégulation.

Si le LI paraît bien caractérisé chez les différentes espèces de mammifères des zones tempérées, très peu de données concernent le LI de l'hypophyse des rongeurs désertiques. Dans ce contexte, nous avons entrepris dans

une première partie, l'étude détaillée du LI chez un rongeur désertique, la gerbille (*Gerbillus pyramidum*), dans laquelle nous décrivons au chapitre III les caractéristiques morphologiques, immunocytochimiques et ultrastructurales de ce lobe. Afin de dégager un aspect fonctionnel de la glande et son implication dans la régulation de l'équilibre hydrominéral, nous étudions les variations saisonnières et les effets de l'hydratation et de la déshydratation sur le LI de l'hypophyse de gerbille.

D'autre part, il est bien établi actuellement que les noyaux hypothalamiques supraoptiques (NSO) et paraventriculaires (NPV) contiennent des neurones neurosécrétoires qui synthétisent la vasopressine (VP) et l'ocytocine (OT) et leurs neurophysines respectives. Ces deux peptides majeurs sont, après transport axonal et stockage, libérés par les terminaisons nerveuses du lobe nerveux de l'hypophyse dans la circulation générale pour contrôler la balance hydrique (Emmers, 1973), la contractilité du muscle utérin et l'éjection de lait (Cross, 1958 ; Munsick, 1960).

L'organisation du système hypothalamo-hypophysaire a été décrite chez le rat (Vandesande et Dierickx, 1975; Sokol et coll., 1976) chez le cobaye (Sofroniew et coll., 1979; Dubois-Dauphin et coll., 1989a, 1989b). La distribution des neurones vasopressinergiques et ocytocinergiques dans le système nerveux central a été décrite chez la gerbille mongolienne (*Meriones inguiculatus*) (Ching-Ming WU et Ching-Liang Shen, 1994). Les neurones magnocellulaires sont donc répartis principalement dans deux formations bien délimitées de l'hypothalamus, les noyaux supraoptiques et paraventriculaires, mais aussi dans plusieurs noyaux accessoires. Dans tous ces noyaux, les deux types de neurones VP et OT coexistent dans des proportions variables selon les espèces. De nombreuses études ont été réalisées sur le système neurosécrétoire hypothalamo-hypophysaire chez différentes espèces de

mammifères des zones tempérées, mais, très peu de données concernent les rongeurs désertiques. Chez la gerboise, rongeur hibernant de zone semi-désertique, il a été rapporté que le système hypothalamo-posthypophysaire manifeste une faible réactivité à la stimulation osmotique (Raji et coll., 1994). Au contraire, Rabhi et coll., (1996) ont montré que l'activité du système hypothalamo-posthypophysaire chez la mérione (*Meriones shawi*), rongeur désertique, soumise à une déshydratation prolongée est augmentée par rapport à l'animal en régime libre.

Vu l'importance de la VP et de l'OT dans la régulation de l'équilibre hydrominéral, il nous a paru nécessaire d'étudier dans une deuxième partie, la distribution des neurones vasopressinergiques et ocytocinergiques dans les NSO, les NPV et les noyaux accessoires de l'hypothalamus ainsi que les variations éventuelles du système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire chez un rongeur saharien dans des conditions d'hydratation et de déshydratation.

Nous avons choisi la gerbille (*Gerbillus Pyramidum*) comme modèle expérimental pour cette étude, car ce rongeur désertique ne boit pas d'eau libre dans les conditions de vie sauvage. Maintenu en captivité au laboratoire, cette espèce est capable de résister à une déshydratation par privation d'eau pendant une longue période excédant les six mois, alors que la vie d'un rat déshydraté se limite à quelques jours.

Dans le chapitre I, sont rappelées les données bibliographiques concernant d'une part, l'hypophyse, en particulier le LI et d'autre part, le système neurosécrétoire hypothalamo-hypophysaire. Ces données concernent essentiellement l'hypophyse de rat, espèce la plus étudiée dans la littérature et modèle expérimental généralement utilisé. Après avoir présenté l'animal étudié et décrit les méthodes utilisées dans le Chapitre II, nous exposons dans le chapitre

III les résultats concernant l'étude du lobe intermédiaire de l'hypophyse et ses variations. L'étude du système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire fera l'objet du chapitre IV. Dans chacun des chapitres, seront discutés l'ensemble des résultats obtenus et une conclusion générale est donnée à la fin de ce mémoire, suivie des références bibliographiques qui ont été consultées.

Chapitre I

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

Ce chapitre bibliographique comprend deux parties : la première sera consacrée aux données anatomiques, structurales et physiologiques sur l'hypophyse, et plus particulièrement le lobe intermédiaire ; la deuxième partie comprendra des rappels anatomo-fonctionnels sur le système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire.

Partie I

Données anatomiques, structurales et physiologiques
sur l'hypophyse en général et sur le lobe
intermédiaire en particulier.

1-ANATOMIE DE L'HYPOPHYSE DE RAT

L'hypophyse est une glande endocrine située à la base du cerveau auquel elle est reliée par la tige hypophysaire ou tige pituitaire. Elle est constituée de deux régions distinctes de par leur origine embryologique et la nature des tissus qui la constituent: Le lobe nerveux (LN) ou posthypophyse et l'adénohypophyse, comportant le lobe antérieur (LA), le lobe tubéral (LT) et le lobe intermédiaire (LI).

1-1- Le lobe nerveux (LN) :

Le LN est une extension caudale du diencéphale. Il est constitué de terminaisons nerveuses entourées de cellules gliales: les pituicytes. Les terminaisons établissent des synapses neuro-hémales avec des capillaires sanguins dans lesquels elles secrètent deux hormones, l'ocytocine et la vasopressine, synthétisées dans des corps cellulaires distincts situés dans les noyaux supraoptiques et paraventriculaires de l'hypothalamus.

1-2- L'adénohypophyse :

Partie purement glandulaire de l'hypophyse, elle comprend trois parties distinctes: le lobe antérieur (LA), le lobe tubéral (LT) et le lobe intermédiaire (LI). Bien que le LI fasse partie de l'adénohypophyse du fait de son origine embryonnaire, il forme une entité anatomique avec le LN, appelée le lobe neuro-intermédiaire (LNI). Le LNI est séparé du LA par la fente hypophysaire, reliquat de la lumière de la poche de Rathke.

L'adénohypophyse se forme à partir d'une évagination de l'épithélium pharyngien, la poche de Rathke, qui se développe en direction du diencéphale vers le 11ème-12ème jour du développement embryonnaire chez le rat.

* La partie basale et antérieure de la poche de Rathke correspond à la région présomptive du LA.

* La partie dorsale postérieure de la poche de Rathke, qui entre en contact direct avec le LN, correspond au territoire présomptif du LI.

* Le lobe tubéral se forme à partir d'extensions antéro-latérales de la poche de Rathke, les lobes latéraux.

Bien que la formation de l'adénohypophyse et de l'hypothalamus soit sans relation apparente, il est intéressant de constater que leurs régions présomptives sont adjacentes et constituent déjà une entité aux stades précoces de l'embryogenèse (dès le stade neurula), comme cela a été démontré chez le poulet par les études de Couly et Le Douarin (1985) ; 1987), et chez le Xénope par les travaux de Kawamura et Kikuyama (1992), ainsi que par ceux de El Amraoui et Dubois (1993).

2- HISTOLOGIE DE L'ADENOHYPOPHYSE DE RAT

2-1- Le lobe antérieur (LA)

Le LA est constitué d'une population hétérogène de cellules glandulaires :

- Les cellules corticotropes qui synthétisent l'hormone corticotrope (ACTH, adrénocorticotropique hormone) à partir de la Proopiomélanocortine (POMC), précurseur commun aux cellules mélanotropes du LI. Elles représentent environ 5%

des cellules du LA. De forme polygonale ou étoilée, ces cellules contiennent des granules sécrétoires de 200 à 250 nm de diamètre alignés le long du plasmalemme.

- Les cellules lactotropes qui sécrètent de la prolactine (PRL). Ce sont des cellules rondes caractérisées par des granules sécrétoires généralement de grande taille (200 à 300 nm) et de forme irrégulière.

- Les cellules somatotropes qui synthétisent l'hormone de croissance (GH). De forme ronde ou ovale, ces cellules sont caractérisées par des granules de sécrétion de fort diamètre (300 à 350 nm).

- Les cellules gonadotropes qui synthétisent les hormones gonadotropes FSH (Follicle Stimulating Hormone) et LH (Luteinizing Hormone) chez la femelle ou ICSH (Interstitial Cell Stimulating Hormone) chez le mâle. De forme ronde ou polygonale, ces cellules contiennent des grains de sécrétion de 200 à 250 nm.

- les cellules thyrotropes qui synthétisent de la thyroïdostimuline ou TSH (Thyroid Stimulating Hormone). Ce sont des cellules polygonales, caractérisées par des granules sécrétoires de 100 à 120 nm de diamètre.

Ces différents types de cellules sont organisés en cordons cellulaires autour d'abondants capillaires sanguins à endothélium fenêtré dans lesquels elles déversent leurs produits de sécrétion. La sécrétion des hormones du lobe antérieur est régulée par voie humorale par les facteurs de libération relâchés par les terminaisons nerveuses au niveau de la zone externe de l'éminence médiane dans les capillaires du plexus primaire du système porte hypothalamo-hypophysaire.

Les cordons glandulaires contiennent également une population particulière de cellules gliales, les cellules folliculostellaires (CFS). Ces cellules de forme étoilée, sont souvent organisées en follicules. Si la structure de ces cellules est bien

décrite, leur fonction est encore mal connue. Certains auteurs leur attribuent un rôle dans la modulation des activités physiologiques du lobe par la libération de nombreuses substances bioactives (pour revue, voir Allaerts et coll., 1990).

2-2- Le lobe tubéral (LT)

Le LT s'étend sous l'éminence médiane. Il est constitué de «cellules propres» qui contiennent des vésicules de sécrétion denses aux électrons de 100 nm de diamètre (Stoeckel et coll., 1979). Au cours de l'ontogénèse ces cellules expriment très précocément (stade fœtal 12) la sous-unité α des hormones glycoprotéiques (Stoeckel et coll., 1993). Ce lobe contient également des cellules gonadotropes (Baker et coll., 1975) et des cellules de type glial. Il est richement vascularisé par les capillaires fenêtrés du plexus primaire du système porte hypothalamo-hypophysaire avec lesquels les fibres neurosécrétrices de l'hypothalamus établissent des contacts neuro-hémaux (Stoeckel et coll., 1979).

2-3- Le lobe intermédiaire (LI)

Le lobe intermédiaire de l'hypophyse fait partie intégrante du système hypothalamo-hypophysaire qui constitue un ensemble neuroglandulaire complexe.

2-3-1- Les divers types cellulaires :

Le LI est une structure compacte, pratiquement avasculaire, constitué à plus de 95% par des cellules mélanotropes. Tout comme les cellules corticotropes du LA, elles expriment le gène de la POMC et synthétisent principalement l' α -MSH (α -Melanocyte Stimulating Hormone) et la β -endorphine. Ces cellules sont

regroupées en lobules, tapissés par une lame basale et délimités par une fine couche de tissu conjonctif. De forme ronde ou polyédrique, elles présentent un appareil de Golgi et un ergastoplasme bien développés et contiennent un nombre important de grains de sécrétion d'un diamètre de 200 à 250 nm, caractérisés par leur densité très variable aux électrons. La variation de densité des grains est apparemment liée à la maturation de leur contenu sécrétoire (Stoeckel et coll., 1985a). Il existe également quelques cellules de type corticotrope localisées dans la région rostrale du LI, en bordure du LN. Ces cellules ont été particulièrement bien définies dans le LI de souris (Stoeckel et coll., 1971 ; 1981). Elles sont de taille plus petite que les cellules mélanotropes et présentent des signes d'activité de synthèse moins importante. Elles sont surtout caractérisées par la présence de grains de sécrétion de petit diamètre (environ 200 nm) régulièrement répartis dans le cytoplasme marginal, le long de la membrane plasmique.

Ces cellules morphologiquement assimilables à des cellules corticotropes réagissent comme les cellules corticotropes du lobe antérieur après surrénalectomie chez la souris et le rat (Stoeckel et coll., 1971, 1973 a et b).

Le LI contient aussi des cellules non glandulaires, ce sont des cellules épithéliales et des cellules de type glial appelées cellules folliculo-stellaires. Les cellules épithéliales bordent la fente hypophysaire; elles sont unies par des jonctions serrées (tight junctions) et des desmosomes. Les cellules folliculo-stellaires (CFS), riches en microfilaments et en microtubules accompagnent les fibres nerveuses et s'insinuent avec elles (par leurs extensions) dans les espaces intercellulaires. Contrairement aux cellules folliculo-stellaires du lobe antérieur, elles ne réagissent pas avec les anticorps dirigés contre la protéine gliale S100, mais elles réagissent intensément avec les anticorps anti GFAP, protéine spécifique

des astrocytes fibreux (Stoeckel et coll., 1981a). Comme les cellules glandulaires, les CFS du LI sont probablement aussi sous contrôle nerveux ainsi que le suggèrent les fréquents contacts synaptoides ou franchement synaptiques observés entre ces cellules et les fibres nerveuses qui leur sont associées (Schmitt, 1982).

S'il est pratiquement avasculaire, le LI de l'hypophyse possède par contre, une innervation bien développée.

2-3-2- L'innervation du LI .

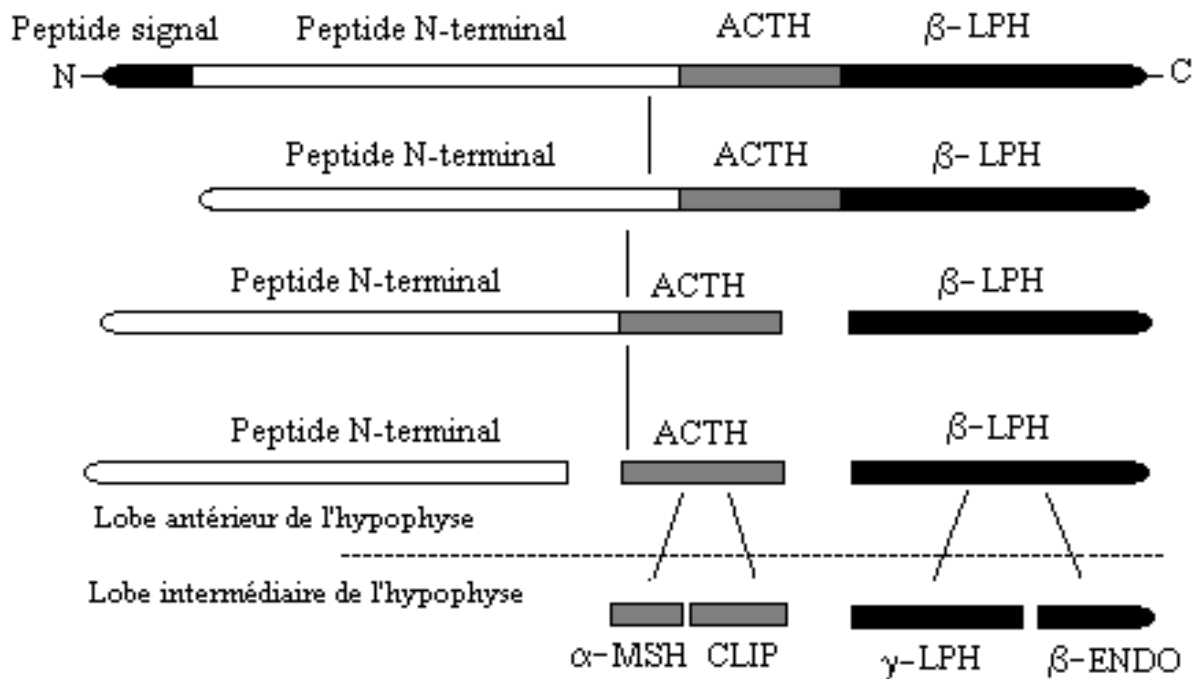
L'innervation du LI a été mise en évidence pour la première fois en 1894 par R.Y. Cajal. Les fibres qui pénètrent dans le LI établissent des contacts directs avec les cellules mélanotropes.

Ces fibres sont essentiellement des fibres dopaminergiques (Dahlstrom et Fuxe 1966, Bjorklund et coll., 1970) dont les corps cellulaires sont localisés dans les noyaux périventriculaires (groupe A14) (Goudreau et coll., 1992).

Le GABA (acide gamma-amino butyrique) est également détectable (Oertel et coll., 1982, Vincent et coll., 1982). Dans les fibres, il colocalise systématiquement avec la dopamine (Vuillez et coll., 1987).

Le troisième neurotransmetteur identifié dans les fibres innervant le LI est la sérotonine (Westlund et coll., 1982, Payette et coll., 1985). Elle colocalise de façon non systématique avec la dopamine (Saland et coll., 1988a). Les fibres sérotoninergiques non dopaminergiques seraient issues du noyau dorsomédian et du noyau du Raphé (Mezey et coll., 1984).

A ce jour, aucune innervation peptidergique systématique du LI n'a été mise en évidence chez le rat.



Maturation de la proopiomélanocortine (POMC) dans les lobes antérieur et intermédiaire de l'hypophyse chez le rat.

Les clivages indiqués au dessus de la ligne existent dans les deux lobes. Ceux du dessous n'existent que dans le lobe intermédiaire.

β-LPH : beta-lipotropine ; ACTH : hormone corticotrope ; α-MSH : hormone mélano-stimulante alpha ; β-ENDO : beta-endorphine ; CLIP : peptide du lobe intermédiaire. (D'après E. Herbert et coll., 1984. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 48 : 375-384.

3- LA PROOPIOMELANOCORTINE (POMC).

3-1- Localisation :

Dans l'hypophyse, le gène de la POMC est exprimé dans les cellules mélanotropes et les cellules corticotropes (Mains et Eipper, 1979).

Dans le système nerveux central, bien que l'ARNm de la POMC ait été détecté au niveau de l'amygdale, du tronc cérébral, du cervelet et du noyau arqué de l'hypothalamus (Civelli et coll., 1982), les corps cellulaires des neurones exprimant la POMC n'ont été localisés que dans le noyau arqué et le noyau du tractus solitaire (Gee et coll., 1983, Katchaturian et coll., 1985). Les fibres issues du noyau arqué projettent extensivement dans tout le cerveau et en particulier dans l'amygdale, l'aire préoptique, le lit de la strie terminale, le locus coeruleus, la substance noire et le noyau du tractus solitaire (Watson et coll., 1977), mais pas dans la zone externe de l'éminence médiane.

Au niveau périphérique, le gène de la POMC est exprimé dans la médullosurrénale (Civelli et coll., 1982, Jingami et coll., 1984) dans les ovaires (Chen et coll., 1986) et les testicules (Pintar et coll., 1984) et dans les macrophages (Lolait et coll., 1986).

3-2- Gène et modifications post-traductionnelles de la POMC :

Le gène de la POMC est un gène à copie unique d'environ 7kb. Il est constitué de trois exons séparés par de larges introns (d'environ 3,9 et 2,8kb) (schéma). Le site d'initiation de la traduction est situé à la fin du deuxième exon. Le premier exon (environ 100 nucléotides) et la moitié du second exon (environ 150

nucléotides) correspondent à des séquences non traduites. L'essentiel de l'information génétique pour la POMC mature est contenu dans le troisième exon.

Du côté 5' du gène, la région promotrice contient les informations nécessaires à la spécificité tissulaire de l'expression du gène et à sa régulation transcriptionnelle (pour revue voir Lundblad et Roberts, 1988).

La synthèse de la POMC suit la voie de synthèse des protéines de sécrétion décrite par Palade en 1975. La première étape de maturation de la POMC est la suppression de la séquence signal N-terminale (15 acides aminés), réalisée par une signalase. Ce clivage a lieu avant la fin de la traduction, dès que la protéine entre dans l'espace intracisternal de l'ergastoplasme (Blodel et Dobberstein, 1975a et b)

La prohormone subit ensuite une série de réactions de glycosylation qui se produisent dans le réticulum endoplasmique au niveau des séquences du peptide 16K, du CLIP et de la γ 3-MSH (Phillips et coll., 1981). Le poids moléculaire de la POMC varie de 31 à 36 KDa en fonction du degré de glycosylation. Après le transfert de la prohormone dans l'appareil de Golgi, il se produit une phosphorylation partielle au niveau de la séquence correspondant à l'ACTH (Bennet et coll., 1981).

La suite des processus de maturation comprend le clivage de la prohormone par des endo-peptidases puis par des exo-peptidases, et des réactions d'acétylation et d'amidation. Ces événements se produisent dans les vésicules de sécrétion comme cela a été montré par des études immunocytochimiques en microscopie électronique, à l'aide d'anticorps spécifiques dirigés contre différents peptides dérivés de la POMC (Stoeckel et coll., 1983 et 1985a).

La nature des produits finaux issus de la POMC dépend de l'équipement enzymatique présent dans les tissus. Dans les cellules corticotropes adultes, la POMC est clivée principalement au niveau de trois doublets Lys-Arg, engendrant le

peptide 16K, le peptide de jonction, l'ACTH 1-39 et la β -LPH. Les molécules synthétisées dans les cellules corticotropes ne sont jamais acétylées.

Dans les cellules mélanotropes adultes, un clivage s'effectue au niveau de plusieurs autres doublets basiques, donnant ainsi naissance aux différentes γ -MSH (γ_1 , γ_2 , γ_3 -MSH), à l' α -MSH, au CLIP, à la γ -LPH et aux endorphines. Ces modifications peuvent varier pendant l'ontogenèse et au cours du processus de régulation (Eberle, 1988; Smith et Funder, 1988).

3-3- Expression du gène de la POMC au cours du développement :

L'expression du gène de la POMC débute très tôt au cours du développement. Ainsi par hybridation in situ, des cellules contenant l'ARNm de la POMC peuvent être détectées dès le 15^{ème} jour PC, dans la partie ventrale du LA, puis 24 heures plus tard, dans la région médiane du LI, la plus étroitement associée au LN (Hindelang et coll., 1990). L'apparition de l'ARNm précède de 24 heures celle des peptides correspondants, détectés par immunocytochimie. A ce stade, il existe déjà un clivage de la POMC et les formes désacétylées de l' α -MSH et de la β -endorphine sont majoritaires (Pintar et Lugo, 1987 ; Hindelang et coll., 1990). Des études réalisées chez la souris ont montré que si la β -endorphine est déjà acétylée quelques jours avant la naissance, il n'en est pas de même pour l' α -MSH dont la forme acétylée n'apparaît qu'à partir du premier jour post-natal, avec la forme diacétylée. A partir du troisième jour post natal, l' α -MSH diacétylée devient majoritaire et le restera chez l'adulte (Leenders et coll., 1986). De plus, des études faites sur l'ontogénèse de l'expression des endopeptidases PC1 (enzyme responsable du clivage de la POMC en ACTH et en β -LPH) et PC2 (enzyme responsable du clivage de l'ACTH en α -MSH et de la β -LPH en β -endorphine)

(Bloomquist et coll., 1991; Zhou et coll., 1993) montrent que chez la souris, aux stades précoces, PC1 et PC2 sont exprimés dans les cellules du LI et les cellules corticotropes du LA, et que progressivement PC2 disparaît des cellules corticotropes (Marcinkiewicz et coll., 1993).

Dans le système nerveux central, le clivage de la POMC est comparable à celui observé dans les cellules mélanotropes, mais l' α -MSH se trouve essentiellement sous sa forme non acétylée (Turner et coll., 1983, Chrétien et coll., 1984).

3-4- Régulation de la synthèse et de la sécrétion des dérivés de la POMC dans l'hypophyse :

3-4-1- Dans le LA:

Les cellules corticotropes sont soumises à un contrôle de type humoral. Le facteur stimulant dont les effets sont les mieux documentés est la corticolibérine (CRH). Elle active des récepteurs membranaires, couplés positivement à l'adénylate cyclase (AdC), qui induisent une augmentation de la sécrétion et, à plus long terme, une stimulation de l'expression du gène de la POMC (Lunblad et Roberts 1988; Smith et Funder 1988). Les récepteurs de la vasopressine (VP) du lobe antérieur de l'hypophyse, sont couplés à une phospholipase C (Lutz-Bucher et Koch, 1983; Raymond et coll., 1985). Situés sur les cellules corticotropes (DuPasquier et coll., 1991), ces récepteurs sont impliqués dans la libération de l'hormone adrénocorticotrope, l'ACTH (Lutz-Bucher et Koch, 1983). Ils sont appelés V3 (Baertschi et Fredli, 1985) ou V1b (Jard et coll., 1986) pour les différencier des récepteurs V1a. La cellule corticotrope possède d'autres récepteurs couplés positivement à l'AdC tels que les récepteurs au peptide vaso-intestinal (VIP), au

peptide hypophysaire activateur de l'AdC (PACAP) ou les récepteurs β_2 -adrénergiques. Elle possède également d'autres récepteurs tels que les récepteurs de l'ocytocine, l'angiotensine II, la cholécystokinine, dont l'activation modifie le métabolisme des inositols phosphates et module l'activité des cellules corticotropes.

L'inhibition de l'activité de synthèse et de sécrétion des peptides dérivant de la POMC est assurée par les glucocorticoides (GC), dont la production est stimulée par l'ACTH au niveau du cortex surrénalien. Les effets des GC sont médiés par des récepteurs de type II. Bien qu'il semble nécessiter une interaction avec la séquence nGRE identifiée dans le promoteur du gène de la POMC, le mécanisme d'action impliqué au niveau génomique n'est pas, pour le moment, clairement établi.

3-4-2- Dans le LI :

Contrairement aux cellules corticotropes qui font l'objet d'une régulation purement humorale, les cellules mélanotropes sont principalement soumises à un contrôle nerveux direct impliquant les différents neurotransmetteurs cités précédemment ("Innervation du LI").

3-4-2-1- La Dopamine :

L'effet inhibiteur tonique de l'innervation dopaminergique a tout d'abord été démontré sur la libération des peptides dérivés de la POMC (Bower et coll., 1974, Tilders et coll., 1975), puis sur l'expression du gène de la POMC (Hollt et coll., 1982, Chen et coll., 1983). Il est médié par des récepteurs de type D2 (RD2), caractérisés pharmacologiquement par Munemura et coll., (1980) et par Lightman et

coll., (1982). La présence des RD2 au niveau des cellules mélanotropes a été démontrée par des études de liaison (Frey et coll., 1982, Salès et coll., 1989), puis les ARNm correspondants ont été détectés par hybridation in-situ (HIS) (Meador-Woodruff et coll., 1989). L'expression de ces récepteurs dans les cellules mélanotropes est soumise à un rétrocontrôle négatif par la dopamine elle-même (Autelitano et coll., 1989b). Ces récepteurs sont couplés négativement à l'AdC (Munemura et coll., 1980, Meunier et Labrie 1982, Cote et coll. 1986, Beaulieu et coll., 1986). Leur activation conduit à une diminution de l'AMPc qui s'accompagne d'une baisse de l'activité de la protéine-kinase AMPc-dépendante (PKA) (Miyazki et coll., 1984), à la stimulation des conductances potassiques qui conduit à l'hyperpolarisation des cellules et finalement, à l'inhibition de courants calciques sensibles à la toxine pertussique (TP) (Williams et coll., 1990). Des études électrophysiologiques (Stack et Surprenant 1991) suggèrent que l'inhibition de la sécrétion est un phénomène indépendant de l'AMPc, essentiellement lié à l'activation des canaux potassiques et, dans une moindre mesure à l'inhibition des courants calciques.

La dopamine intervient également dans la régulation d'activités enzymatiques impliquées dans des modifications post-traductionnelles des molécules dérivées de la POMC. Elle inhibe l'expression des endopeptidases PC1 et PC2 (Birch et coll., 1991, Eipper et coll., 1993) et l'activité de l'acétyltransférase, enzyme responsable de l'acétylation de l' α -MSH et de la β -endorphine (Millington et coll., 1986).

3-4-2-2- L'Acide gamma aminobutyrique (GABA) :

Dans le LI, un important réseau de fibres GABAergiques a été décrit par des études immunocytochimiques utilisant un anticorps anti-GAD (Glutamic Acid Décarboxylase), enzyme de synthèse du GABA (Oertel et coll., 1982; Vincent et coll., 1982) ou un anticorps anti-GABA (Rabhi et coll., 1987; Sakaue et coll., 1988). Le GABA colocalise systématiquement avec la dopamine (Vuillez et coll., 1987). La réponse cellulaire au GABA s'effectue en deux temps. Dans un premier temps, la stimulation des récepteurs GABA_A conduit à une libération rapide et de courte durée des peptides, et la stimulation des récepteurs GABA_B provoque ensuite une inhibition soutenue de la sécrétion (Tomiko et coll., 1983). Elle aboutit globalement à une inhibition de la sécrétion. Le GABA induit également une diminution de l'expression du gène de la POMC (Loeffler et coll., 1986).

3-4-2-3- La sérotonine :

Les effets de l'innervation sérotoninergique sont controversés. Il semblerait qu'elle ait un effet stimulant sur la sécrétion des cellules mélanotropes (Saland et coll., 1988 b).

3-4-2-4- Les Peptides :

Il n'existe pas d'innervation peptidergique du LI chez le rat. Parmi les mammifères, les Léporidés constituent une exception notable, car ils ne présentent pas d'innervation dopaminergiques et gabaergique. En effet, chez le lapin et le lièvre, le LI est envahi par un important plexus d'axones immunoréactifs pour l'ocytocine (OT) et la neurophysine associée, formant des contacts synaptiques

avec les cellules glandulaires (Schimchowitsch et coll., 1983). Le LI des léporidés est soumis à un contrôle peptidergique stimulant de type ocytocinergique.

3-4-2-5- La CRH :

Comme pour les cellules corticotropes, la CRH induit une augmentation de la libération d' α -MSH, corrélée à une augmentation de la concentration intracellulaire d'AMPc (Meunier et coll., 1985) et stimule l'expression du gène de la POMC (Loeffler et coll., 1985).

3-4-2-6- La TRH :

Elle stimule la sécrétion d' α -MSH par l'intermédiaire d'un récepteur couplé à la phospholipase (Trousard et coll., 1989).

3-4-2-7- L'adrénaline et la noradrénaline :

Elles agissent positivement sur l'expression du gène de la POMC (Loeffler et coll., 1988) et la sécrétion des peptides qui en dérivent (Bower et coll., 1974) via un récepteur de type β_2 couplé positivement à l'AdC (Cote et coll., 1980, De Souza 1985).

3-4-2-8- Les glucocorticoides (GC) :

Les effets des GC sur les cellules mélanotropes ont été longtemps controversés. Gagner et Drouin (1987) n'ont pas observé d'effet sur l'expression du gène de la POMC. Beaulieu et coll., (1988) ont montré une diminution de l'ARNm

de la POMC dans le LI d'animaux surrénalectomisés après traitement à la dexaméthasone, et Eberwine et coll., (1987) ont observé un effet comparable sur des cellules du LI en culture. Seger et coll. (1988) ont montré une stimulation de l'expression du gène de la POMC après section de la tige hypophysaire. A l'heure actuelle, il apparaît clairement que dans certaines conditions physiologiques, et en particulier en l'absence de toute stimulation dopaminergique, les GC agissent négativement sur l'expression du gène de la POMC. Cependant, les mécanismes précis par lesquels la régulation négative de l'expression du gène de la POMC est assurée ne sont pas élucidés. Il pourrait s'agir soit d'une liaison directe du RG activé sur la séquence nGRE identifiée dans le promoteur du gène de la POMC, soit d'un mécanisme plus complexe faisant intervenir des interactions RG-protéines (Sheppard et coll., 1993).

4- ROLE PHYSIOLOGIQUE DU LI :

Il semble difficile de dégager chez les mammifères une fonction spécifique du LI d'après les propriétés des divers peptides libérés par la glande, d'autant plus que ces peptides sont nombreux et que certains ne sont pas spécifiques des cellules mélanotropes et sont sécrétés par des types cellulaires soumis à des contrôles différents.

Le premier rôle mis en évidence de l' α -MSH est son pouvoir de dispersion de la mélanine dans les cellules pigmentaires de la peau, les mélanocytes, chez les Batraciens par un réflexe opto-pituitaire. De nombreux autres effets ont été décrits. Ainsi, l' α -MSH est impliquée dans des mécanismes tels que la régulation de la sécrétion de la prolactine (PRL) ou de LH (Ellerkman et coll., 1992), la thermorégulation (Murphy et coll., 1983), la modulation des réactions

inflammatoires (Cannon et coll., 1986 ; Davidson et coll., 1992), l'analgésie (Walker et coll., 1980) et le contrôle cardiovasculaire (Gruber et coll., 1982). Elle modifie le comportement, l'apprentissage et la mémorisation (De Wied et Jolles, 1982) comme, elle intervient en tant que facteur neurotrophique aussi bien au niveau périphérique que central (De Wied, 1990; Strand et coll., 1991; 1993). Ces effets neurotrophiques sont médiés comme dans certains autres effets physiologiques par des récepteurs des mélanocortines classés selon la nomenclature proposée par Chhajlani et coll. (1993) en MCR-1, MCR-2, MCR-3, MCR-4 et MCR-5.

Plus récemment, il a été suggéré que les peptides dérivés de la POMC du LI pourraient jouer un rôle modulateur du système immunitaire chez les mammifères (pour revue, voir Takeuchi, 2001).

Un certain nombre de travaux suggèrent que le LI soit impliqué dans le métabolisme hydrominéral. Ainsi, chez les rongeurs sahariens, il existe une relation évidente entre le volume de la glande et l'adaptation aux conditions désertiques (Legait et coll., 1966). Des changements dans le contenu en α -MSH de la glande ont été rapportés chez des animaux surchargés en sodium ou privés d'eau (Duchen, 1962 ; Kastin, 1967 ; Howe et Thody, 1970 ; Roux et Dubois, 1976). L'injection d'une solution saline provoque une libération d' α -MSH chez le rat (Taleisnik et coll., 1973 ; Cyrkowics et Traczyk, 1975 ; Van Wimersma-Greidanus et coll., 1979). Un effet natriurétique a été montré chez le rat (Orias et McCann, 1970, 1972), et le hamster (Hradec et Horkyk, 1979). Des études morphométriques chez la souris, révèlent une stimulation transitoire des cellules mélanotropes à la fois après surcharge ou privation en sodium (Kobayashi, 1974 ; 1977; Kobayashi et Takema 1976; Schmitt et coll., 1982) et après hydratation excessive (Kobayashi et coll. 1984). D'autres observations ont montré une modification du contenu en α -MSH, du

taux d'ARNm codant pour la POMC et de la biosynthèse de la POMC dans le LI de souris après surcharge en sodium (Elkabes et Loh, 1988) et après déshydratation ou hydratation excessive (Leenders et coll., 1990).

Partie II

Le système neurosécrétoire
hypothalamo-neurohypophysaire:
données anatomo-fonctionnelles.

1-NEUROANATOMIE DU SYSTEME

Le système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaires est parfaitement défini au plan anatomique et présente à cet égard des particularités remarquables : les corps cellulaires et les dendrites des neurones magnocellulaires sont essentiellement localisés dans les noyaux hypothalamiques supraoptiques et paraventriculaires. Les axones des neurones forment des faisceaux qui longent l'éminence médiane et les terminaisons de ces neurones sont principalement regroupés dans le LN (Bargman et Scharrer, 1951 ; Lederis, 1974).

1-1- Les noyaux supraoptiques (NSO):

Ce sont des noyaux pairs qui regroupent les corps cellulaires de deux populations de neurones peptidergiques à vasopressine (VP) et à ocytocine (OT). Ils sont localisés bilatéralement du chiasma optique et sont constitués exclusivement de neurones magnocellulaires (Swaab et coll., 1975 ; Vandesande et Diericks, 1975 ; Hou-Yu et coll., 1986).

1-2- Les noyaux paraventriculaires (NPV) :

Ces noyaux présentent une cytoarchitecture hétérogène dans laquelle des éléments magnocellulaires et parvocellulaires coexistent. Ils sont compartimentés. Les corps cellulaires des neurones magnocellulaires à VP sont regroupés dans la partie la plus latérale des noyaux. Les neurones à OT sont distribués autour des corps cellulaires des neurones à VP. Les neurones parvocellulaires, caractérisés par leur petite taille, sont regroupés dans la région proche du IIIème ventricule (Armstrong et coll., 1980).

1-3- Les neurones magnocellulaires :

Les neurones magnocellulaires sont des cellules de grande taille réparties principalement dans deux formations bien délimitées de l'hypothalamus, les noyaux supraoptiques (NSO) et paraventriculaires (NPV) (Bargmann et Scharrer, 1951; Du Vigneaud et coll., 1953 a, b) mais aussi dans plusieurs noyaux accessoires. Dans tous ces noyaux, les deux types de neurones à vasopressine (VP) et à ocytocine (OT) coexistent dans des proportions variables selon les espèces. Si les NSO et les noyaux accessoires ne contiennent que des neurones magnocellulaires, les NPV par contre, sont composés d'un mélange de neurones magnocellulaires et parvocellulaires. Ces derniers, facilement identifiés par leur petite taille, ne font pas partie du système hypothalamo-neurohypophysaire mais envoient des fibres vers les capillaires du système porte dans la zone externe de l'éminence médiane et projettent également vers de nombreuses aires extra-hypothalamiques du cerveau et de la moelle épinière où ils établissent des contacts synaptiques (Zimmerman, 1978 ; Sofroniew 1981 ; Sawchenko et Swanson, 1982 ; Silverman et coll., 1983). Les neurones magnocellulaires présentent des formes très hétérogènes. Ils possèdent un ou plusieurs prolongements dendritiques et un axone non ramifié. La taille et la forme des péricaryons varient considérablement. Certains sont ronds ou ovoïdes, d'autres ont une forme allongée et fusiforme (Sofroniew et Glasmann 1981; Masson et coll. 1984). Tous les axones de ces neurones magnocellulaires transitent par la zone interne de l'éminence médiane et aboutissent à la posthypophyse ou lobe nerveux (LN).

1-4- La neurohypophyse:

La neurohypophyse comprend deux parties : l'éminence médiane et le lobe nerveux.

1-4-1- L'éminence médiane (EM) :

Constituant le plancher du 3ème ventricule au niveau de l'hypothalamus, l'éminence médiane est formée de deux couches ou zones morphologiquement distinctes :

- La zone interne (ZI) ou zone fibreuse constitue le lieu de transit des axones peptidergiques ocytocinergiques et vasopressinergiques qui vont en direction du LN. Descendant en éventail à travers l'hypothalamus, les axones des noyaux paraventriculaires se regroupent en deux faisceaux, formant les tractus latéral et médian, qui fusionnent avant de s'engager dans la zone interne de l'éminence médiane. Ils sont rejoints, à l'entrée du LN par un autre faisceau qui transite par la paroi dorsale du recessus infundibulaire. Les fibres provenant des NSO longent la base du cerveau et se joignent au faisceau latéral et médian provenant du NPV à l'entrée de la zone interne de l'éminence médiane. L'ensemble de ces fibres forme le tractus supraoptico-paraventriculo-neurohypophysaire. Des axones dopaminergiques/GABAergiques transitent également par la zone interne de l'EM et se dirigent vers le LI de l'hypophyse. On y trouve également des fibres contenant de la somatostatine et du CRF (Corticotropin Releasing Factor). Ces fibres proviennent respectivement des neurones du noyau périventriculaire et des neurones parvocellulaires du noyau paraventriculaire (Fisher et coll., 1979 ; Zimmerman, 1985).

- La zone externe (ZE) est formée des terminaisons des neurones hypophysiotropes et des prolongements des tanicytes qui viennent se connecter aux capillaires à endothélium fenestré du plexus primaire du système porte hypothalamo-hypophysaire (Rodriguez, 1969; Doerr-Schott, 1970). Cet

arrangement de prolongements nerveux et gliaux lui donne un aspect palissadique caractéristique.

1-4-2- Le lobe nerveux (LN)

Le LN est constitué essentiellement de terminaisons nerveuses neuropeptidergiques et de cellules gliales astrocytaires spécialisées, les pituicytes. Il contient également des cellules microgliales. Comme le LA, il est très vascularisé. Les fibres neurosécrétrices qu'il contient proviennent essentiellement des neurones magnocellulaires des noyaux supraoptiques et paraventriculaires de l'hypothalamus. Ces axones transitent par la tige hypophysaire qui relie le LN à l'hypothalamus et forment des synapses neuro-hémales sur les capillaires. Ces neurones sécrètent la vasopressine, l'ocytocine et les neurophysines qui leur sont associées, ainsi que d'autres peptides colocalisés avec ces neurohormones. (Pickering, 1978 ; Castel et coll., 1984).

Un réseau dense de capillaires sanguins se développe dans le LN. Il provient principalement des ramifications des artères hypophysaires inférieures. Le sang contenant les neurohormones libérées par les fibres peptidergiques est drainé dans la circulation générale.

Les pituicytes constituent l'élément cellulaire majoritaire du LN avec les terminaisons peptidergiques. Ces cellules gliales de type astrocytaire spécialisées, sont étroitement associées aux terminaisons nerveuses et aux capillaires sanguins. Bien qu'elles aient longtemps été considérées comme des cellules gliales de support, elles exercent des activités biologiques : phagocytose des axones neurosécréteurs lésés (Dellman et coll., 1974), plasticité du LN en réponse à des stimuli

physiologiques (Luckman et Bicknell, 1990) ou encore modulation de la libération de neuropeptides (Hatton et coll., 1992).

2- DIFFERENCIATION DES NEURONES MAGNOCELLULAIRES:

Les cellules mères des neurones magnocellulaires des noyaux paraventriculaire et supra-optique terminent leur phase de multiplication cellulaire entre le 13ème et le 15ème jour embryonnaire chez le rat. Elles sont originaires de l'épithélium de la région du troisième ventricule (Altman et Bayer, 1978). A partir de cette zone, les futurs neurones magnocellulaires migrent latéralement pour donner le noyau paraventriculaire et ventrolatéralement pour donner le noyau supra-optique. L'expression des gènes de la vasopressine et de l'ocytocine révélée par la présence des ARNm correspondants, commence respectivement le 16ème et le 17ème jour embryonnaire dans le noyau supraoptique et le 18ème jour pour les deux gènes dans le noyau paraventriculaire (Reppert et Uhl, 1988; Laurent et coll., 1989). Les précurseurs protéiques de la vasopressine et de l'ocytocine ont été identifiés dans l'hypothalamus dès le 16ème jour embryonnaire (Whitnall et coll., 1985), suggérant que la traduction des ARNm des deux peptides se fait aussitôt après la transcription des gènes. Le peptide vasopressine apparaît le 16ème embryonnaire dans l'hypothalamus mais l'ocytocine n'y est pas détectable avant le 20ème jour embryonnaire (Choy et Watkins, 1979). Cela indique que le précurseur de l'ocytocine ne subit sa maturation que quatre jours après sa synthèse (Whitnall et coll., 1985).

Les noyaux hypothalamiques magnocellulaires sont capables d'une plasticité morphologique neuronales remarquable qui se manifeste par un remodelage permanent des contacts inter-neuronaux des synapses et des circuits neuroniques.

Cette plasticité implique également les cellules gliales en particulier les prolongements astrocytaires situés entre les neurones dans les noyaux supraoptiques (Théodosis et coll., 1981 ; Théodosis et Poulain, 1984).

Cette plasticité structurale est l'expression de la réponse du système nerveux aux différentes lésions et agression et plus particulièrement à l'environnement externe et interne ainsi qu'aux variations de l'apport alimentaire en eau. A cette plasticité structurale, vient s'ajouter une étonnante plasticité neurochimique qui s'observe dans les phénomènes de coexpression de molécules informatives par les neurones magnocellulaires et qui semble varier selon les circonstances physiologiques ou expérimentales (Tweedle et Hatton, 1977; 1980; Young et coll., 1987; Bondy et coll.1989; Calas, 1991; Trembleau et coll., 1993).

3- PEPTIDES ET COLOCALISATION :

Les noyaux hypothalamiques supraoptiques (NSO) et paraventriculaires (NPV) contiennent des neurones qui synthétisent la VP et l'OT et leurs protéines de transport respectives, les neurophysines (Bargmann et Scharrer, 1951; Scharrer et Scharrer, 1954). Ces deux hormones de structure voisine, sont synthétisées dans des neurones distincts, mais en cas de stimulation, un même neurone peut synthétiser les deux peptides (Calas, 1994). La VP et l'OT sont les produits de deux gènes distincts qui comportent de grandes similitudes dans leur organisation et leur séquence (Mohr et coll., 1991). Elles sont formées par neuf acides aminés et présentent un pont dissulfure entre deux cystéines en position 1 et 6. Elles diffèrent par deux acides aminés, l'un se trouve dans le cycle (position 4) et l'autre dans la partie linéaire de la molécule (position 7).

La VP est synthétisée avec la neurophysine II qui lui est associée, à partir d'un précurseur commun (Sachs et coll., 1967). Ce précurseur, d'un poids moléculaire (PM) de 21.000 daltons est appelé préprohormone. Il est glycosylé à la portion C terminale et contient 166 acides aminés. Le gène responsable de la synthèse de la VP serait formé de 3 exons. L'exon A code pour le peptide signal (19 acides aminés), l'AVP, une séquence d'acides aminés: Gly-Lys-Arg et la portion N terminale des neurophysines. L'exon B code la portion constante des neurophysines. L'exon C code la séquence variable C terminale des Neurophysines, l'arginine et un polypeptide contenant 39 acides aminés. Ce polypeptide contient le site de glycosylation Asn-Thr correspondant au résidu 114-116. Au niveau du réticulum endoplasmique, le peptide signal est clivé et la chaîne riche en mannose est attachée au site spécial de glycosylation pour donner une pro-hormone de 23.000 daltons. La pro-hormone glycosylée est transportée vers l'appareil de Golgi où elle sera emmagasinée dans des granules neurosécrétoires. C'est dans ces granules neurosécrétoires que la pro-hormone est clivée par des enzymes spécifiques en VP et neurophysine et produit l'amidation C terminale de la glycine de la VP (Richter, 1985). La glycine qui forme le pont entre la VP et la neurophysine, semble être nécessaire pour la transamidation oxydative C terminale de la VP. Une enzyme protéolytique relativement non spécifique scinde le glycopeptide de la pro-hormone (Robinson et Fitzsimmons, 1993).

L'OT est synthétisée de manière similaire. Son précurseur contient également une neurophysine (neurophysine I), mais ne comporte pas de glycopeptide.

Après leur synthèse, les neuropeptides sont empaquetés dans les granules de neurosécrétion (GNS), puis transportés le long des axones en subissant des

modifications post-traductionnelles. Les granules matures, qui contiennent l'une ou l'autre hormone en concentration équimoléculaire avec sa neurophysine provenant du même précurseur (Richter, 1985), parviennent ainsi aux terminaisons nerveuses. Ils sont stockés à ce niveau, avant de libérer leur contenu par exocytose dans les espaces péricapillaires de la neurohypophyse pour rejoindre la circulation sanguine.

En plus de la VP et de l'OT, les neurones magnocellulaires des NSO et NPV, produisent et stockent plusieurs autres messagers chimiques qui sont colocalisés avec la VP et/ou l'OT (Brownstein et Mezey, 1986). Il a été démontré que les neurones VP contiennent aussi de la galanine (Brownstein et Mezey, 1986 ; Melander et coll., 1986 ; Gaymann et Martin 1989 ; Meister et coll., 1990), de la dynorphine (Watson et coll., 1982 ; Gaymann et Martin, 1987; Meister et coll., 1990), de la leu-enkephaline (Gaymann et Martin, 1987; Meister et coll., 1990) et même de la dopamine (Calas, 1991), alors que les neurones OT contiennent de la cholecystokinine (Meister et coll., 1990) de la met-enképhaline (Gaymann et Martin, 1987) et du CRF, le facteur de libération de la corticotropine (Burlet et coll., 1983; Meister et coll., 1990). D'autres travaux ont montré la colocalisation de la galanine détectée par immunohistochimie et de l'ARNm de l'OT détecté par hybridation in situ dans les neurones magnocellulaires (Calas, 1991; Landry et coll., 1991).

4- INNERVATION ET REGULATION:

Les neurones magnocellulaires hypothalamiques sont sous le contrôle de plusieurs neurotransmetteurs. En effet, des études immunocytochimiques en microscopie électronique ont montré l'existence de contacts synaptiques entre ces neurones et des terminaisons nerveuses contenant de l'acide gamma-aminobutyrique

(Rabhi et coll., 1985; 1987; Decavel et coll., 1989), de la noradrénaline et de la dopamine (McNeill et Sladek, 1980; Decavel et coll., 1987).

L'innervation sérotoninergique des noyaux magnocellulaires hypothalamiques est très faible chez l'adulte. Cependant, Sawchenko et Swanson, (1983) et Decavel et coll., (1987) ont montré l'existence de quelques fibres dans la région dorsale et périphérique du NSO. Par ailleurs, des fibres sérotoninergiques plus nombreuses ont été observées dans sa région ventrale riche en dendrites (Decavel, 1987). Dans le noyau paraventriculaire magnocellulaire, une faible innervation sérotoninergique semble affecter principalement les zones riches en neurones à ocytocine (Sawchenko et Swanson, 1983; Decavel et coll. (1987)

Le noyau supraoptique et les régions magnocellulaires du noyau paraventriculaire reçoivent une importante innervation catécholaminergique. Cette innervation est principalement noradrénergique (Swanson et coll., 1981; Decavel et coll., 1987). Dans le NPV, de nombreuses fibres noradrénergiques sont localisées dans la région magnocellulaire latérale (Swanson et coll., 1981, Decavel et coll., 1987). Les fibres noradrénergiques sont nombreuses dans la région ventrale du NSO et moins abondantes dans sa région dorsale (Decavel et coll., 1987). Ces distributions dans les deux noyaux coïncident avec celles des neurones à vasopressine. Cependant, Decavel (1987) a montré par des doubles marquages immunocytochimiques que si la majorité des fibres noradrénergiques contactaient effectivement des neurones à vasopressine, il existe tout de même un certain nombre de contacts de ces fibres sur des neurones à ocytocine. L'innervation dopaminergique des NSO et NPV est plus faible et plus uniforme (Swanson et coll., 1981; Decavel et coll., 1987). Des expériences de double marquage immunocytochimique ont montré que ces fibres innervaient préférentiellement les

neurones à ocytocine. L'innervation adrénérgique des neurones magnocellulaires est peu abondante (Swanson et coll., 1981 ; Cunningham et coll., 1990).

D'autre part, grâce à la technique histoautoradiographique, Freund-Mercier et coll. (1994) ont rapporté l'existence d'auto-récepteurs OT dans les neurones OT chez le rat en lactation.

5- ROLE PHYSIOLOGIQUE :

Malgré la grande analogie de structure entre les molécules d'OT et de VP, les effets hormonaux sont très différents. La VP de tout temps plus étudiée que l'OT, agit principalement sur le néphron, les vaisseaux sanguins et les hépatocytes.

L'action périphérique essentielle de la VP se situe dans le rein où elle provoque la réabsorption de l'eau par les tubes collecteurs. La libération de l'hormone sous l'effet de variations de l'osmolarité plasmatique a été démontrée par Verney (1947), suggérant ainsi le rôle de la VP dans le maintien de l'équilibre hydrique de l'organisme. La VP exerce également une action vasoconstrictrice. Cette action de la VP semble intervenir dans des conditions extrêmes, telles que les hémorragies massives au cours desquelles l'hormone doit être libérée en quantité suffisante.

L'OT exerce surtout des effets hormonaux en relation avec la fonction de reproduction et son action s'effectue sur l'utérus et la glande mammaire dans le réflexe d'éjection du lait (Summerlee, 1981).

En plus de ses rôles bien connus dans la fonction de reproduction chez la femelle, l'ocytocine peut être impliquée dans la régulation de l'équilibre hydrominéral. En effet, il a été montré qu'à de fortes doses, l'OT exerce des

effets antidiurétiques chez le rat Brattleboro, alors qu'elle a un effet diurétique chez les rats non déficients en VP (Lyness et coll., 1985; Forsling et Brimble, 1985; Forsling et coll., 1994). En l'absence de VP, l'OT agirait comme un agoniste faible de la VP alors qu'en présence de VP, elle agirait comme un antagoniste faible.

L'OT exerce par ailleurs un effet plus spécifique en augmentant la filtration glomérulaire et la natriurèse. La filtration glomérulaire est sous le contrôle du feed-back tubuloglomérulaire dans lequel la macula densa joue le rôle de "plaque sensorielle" (Persson et coll., 1991).

En plus de leurs actions hormonales classiques, la VP et l'OT exercent également des effets de type neuromodulateurs dans plusieurs régions du système nerveux central et sont ainsi impliquées dans des réponses physiologiques végétatives et/ou comportementales.

Les effets centraux et périphériques de la VP et de l'OT impliquent l'existence de récepteurs spécifiques de ces neurohormones. Les récepteurs de la VP sont de deux types, les récepteurs V1 et V2, alors qu'un seul type de récepteur existe pour l'OT.

Les récepteurs V2 rénaux sont situés sur la membrane plasmique basale des cellules épithéliales des tubes collecteurs corticaux et médullaires où ils contrôlent la réabsorption de l'eau, et sur les cellules épithéliales de l'anse de Henlé où ils participent à la réabsorption du sodium (Jard et coll., 1986). L'interaction de la VP avec les récepteurs V2 active une adénylate cyclase, ce qui a pour conséquence une augmentation de l'AMP cyclique intracellulaire et l'augmentation de la perméabilité apicale des cellules épithéliales des tubes collecteurs (Charlton et Baylis, 1988). L'autre type de récepteur VP est le récepteur V1, localisé essentiellement sur les hépatocytes où il stimule la glycogénolyse et sur les cellules

musculaires lisses des vaisseaux sanguins où il participe à l'action de la VP sur la pression artérielle (Jard et coll., 1987; Guillon, 1989). Ces sites sont couplés à une phospholipase C et à des variations du taux des inositols phosphates associés à la libération du calcium intracellulaire (Jard et coll., 1987).

Les récepteurs de la VP du lobe antérieur de l'hypophyse, possèdent une affinité très faible pour certains antagonistes du récepteur V1 (Antoni, 1984; Jard et coll., 1986). Comme les récepteurs hépatiques et vasculaires, ils sont couplés à une phospholipase C (Lutz-Bucher et Koch, 1983; Raymond et coll., 1985). Situés sur les cellules corticotropes (DuPasquier et coll., 1991), ces récepteurs sont impliqués dans la libération de l'hormone adrénocorticotrope, l'ACTH (Lutz-Bucher et Koch, 1983). Ils sont appelés V3 (Baertschi et Fredli, 1985) ou V1b (Jard et coll., 1986) pour les différencier des récepteurs V1a. Les récepteurs V1a ont été mis en évidence dans le système nerveux central par autoradiographie (Schmidt et coll., 1991; Johnson et coll., 1993; Krémarik et coll., 1993; 1994) et dans le rein (Ammar et coll., 1991; 1992).

Une forte concentration de sites OT a été démontré par histoautoradiographie sur les cellules de la macula densa dans l'appareil juxtaglomérulaire (Stoeckel et coll.1987; Stoeckel et Freund-Mercier, 1989; Schmidt et coll., 1990) et plus précisément dans la membrane plasmique des cellules (Stoeckel et coll., 1991).

Plusieurs études sur l'effet du stimulus osmotique ont été réalisés chez différentes espèces. L'effet osmotique stimulant s'exerce aussi bien sur la sécrétion des neurohormones que sur leur synthèse (Gainer et coll., 1977). De nombreuses observations morphologiques considèrent l'effet de la stimulation osmotique sur la plasticité de l'axe hypothalamo-neurohypophysaire comme une

preuve de l'augmentation de son activité fonctionnelle (Tweedle et Hatton, 1977; Modney et Hatton, 1989; Luchman et Bicknell, 1990; Beagley et coll., 1992; Marzban et coll., 1992; Rabhi, 1993).

De nombreux travaux ont montré que l'administration des stimulus hypertoniques provoque chez le rat des changements dans les NSO (Masson, 1980) et les NPV, qui se traduisent par une augmentation de la taille des neurones (Kalimo, 1975 ; Rabhi et coll., 1993), une diminution de leurs contacts avec les cellules gliales (Hatton et coll., 1984), ainsi qu'une baisse des niveaux plasmatiques de la VP et de l'OT (George, 1976; Zerbe et Palkovits, 1984). La déshydratation provoquée par une surcharge saline entraîne chez le rat une augmentation des ARNm de la VP et de la dynorphine (Sherman et coll., 1986), de l'OT (Van Tol et coll., 1987), de la CRH et de la tyrosine hydroxylase (Young, 1986; Young et coll., 1987).

Chapitre II

MATERIEL ET METHODES

1- BIOTOPE :

Pour l'étude des variations saisonnières, des prélèvements sur des gerbilles ont été réalisés dans le laboratoire de l'unité de recherche sur les zones arides (URZA), située dans l'Oasis de Beni Abbes. Cette région s'étend sur la rive gauche de l'Oued Saoura. Distante de plus de 200 km de la ville de Béchar, cette palmeraie se trouve dans la partie la plus orientale du Sahara occidental.

Le climat désertique est de type méditerranéen avec des saisons pluvieuses au printemps et en automne. La moyenne annuelle des précipitations est relativement faible, de l'ordre de 33 mm. Le taux d'humidité passe de 15 % en été à 45% en hiver. La température moyenne est voisine de 22°C. Elle passe de 19°C au mois de janvier à 43°C au mois de juillet.

La photopériode longue offre en été 14 heures d'éclairement et en hiver, la photopériode courte se réduit à 10 heures d'éclairement.

2- ANIMAUX ET GROUPES EXPERIMENTAUX :

2-1- Habitat et mœurs :

Gerbillus Pyramidum est une gerbille relativement de grande taille considérée comme une espèce spécifique du Sahara; elle vit dans les milieux ensablés. Elle creuse des terriers au pied des touffes de végétaux ou sur le flanc d'une dune de sable au pied d'un palmier. Le terrier comprend généralement deux entrées qui sont systématiquement obturées le jour, ce qui constitue sans doute un moyen d'y maintenir un certain degré d'humidité (Petter, 1961)

Cette espèce mène une vie nocturne. Elle sort dès la tombée de la nuit pour creuser les terriers, construire les nids et chercher sa nourriture. Ses périodes d'inactivité ne sont pas

obligatoirement accompagnées d'une hypothermie notable (Petter, 1961). L'activité sexuelle de *Gerbillus pyramidum* a lieu d'Avril à Juin (Le Berre 1990).

Tout comme les autres espèces de rongeurs nocturnes, *Gerbillus pyramidum* est essentiellement granivore qui ne boit pas d'eau. Dès le crépuscule, elle commence de longues randonnées à la recherche de la nourriture.

2-2- Caractéristiques morphologiques :

Gerbillus pyramidum se distingue des autres gerbilles de la région (*Gerbillus campestris*, *Gerbillus nanus* et *Gerbillus gerbillus*) par sa grande taille (30 à 65 g) et ses caractères dentaires (Petter, 1961). Son pelage dorsal est de couleur fauve roux, plus clair sur les flancs et sur le ventre. Ses pattes postérieures sont plus longues que ses membres antérieurs. La queue est aussi longue que le corps de l'animal et se termine en pinceau souvent réduit.

2-3- Capture et élevage :

La chasse se déroule généralement en fin de journée avant le coucher du soleil. Après repérage des terriers peuplés reconnus à la présence de traces fraîches et des excréments, les pièges sont placés à l'entrée des orifices, puis récupérés le lendemain dès l'aube, avant le lever du soleil.

Les animaux sont placés dans des cages individuelles en salle d'élevage. La durée d'éclairage de la journée est conforme à la saison, la température de 25°C, est identique à celle des terriers. Les cages sont équipées d'une literie en sciure,

renouvelée deux fois par semaine et d'une petite boîte en bois, permettant à l'animal de s'y abriter.

2-4- Traitement des animaux :

Nos expériences sont réalisées sur des gerbilles adultes mâles et femelles (*Gerbillus pyramidum*), au poids corporel compris entre 30 et 45 g.

Des prélèvements d'hypophyse sont effectués dans le biotope naturel de l'animal au cours de deux périodes saisonnières différentes, l'été et l'hiver, en raison des variations de températures et du taux d'humidité qui caractérisent ces deux périodes de l'année au Sahara. Pour l'étude des variations saisonnières, les animaux sont sacrifiés dans les 24 heures qui suivent leur capture.

D'autres prélèvements d'hypophyse et d'hypothalamus sont effectués sur deux lots de 10 animaux chacun, après un séjour de 3 à 4 mois au laboratoire de physiologie animale de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) de Kouba à Alger. Le premier lot reçoit une nourriture sèche, composée exclusivement de grains d'orge. Il constitue le groupe d'animaux déshydratés. Le deuxième lot reçoit en plus des grains d'orge, des légumes riches en eau (des feuilles de laitue et des concombres ad-libitum) et il constitue le groupe d'animaux hydratés.

3- PRELEVEMENT ET PREPARATION DES TISSUS

Dans tous les cas, les prélèvements d'hypophyses et d'hypothalamus sont effectués au même moment de la journée entre 09 h 00 et 12 h 00, sur des gerbilles anesthésiées soit à l'hydrate de chloral (70g/l, 3ml/kg), soit à l'uréthane (50%, 3ml/kg) et après décapitation ou après perfusion intracardiaque. La perfusion

intracardiaque consiste à introduire le fixateur à l'aide d'une canule dans le ventricule gauche et écoulement par l'oreillette droite avec un débit de 30 ml/min pendant 15 à 20 mn. Les hypophyses et les cerveaux disséqués sont ensuite post-fixés par immersion dans le même fixateur.

3-1- Fixation :

Tous les fixateurs utilisés sont en solution dans le tampon phosphate 0,1 M, pH 7,4 (voir annexe) .

Pour l'étude immunohistochimique en microscopie photonique, les tissus sont fixés par le formaldéhyde à 4%. Une suspension de paraformaldéhyde à 8% dans l'eau distillée est chauffée à 70°C et éclaircie par quelques gouttes de NaOH N/10. Après refroidissement, cette solution est mélangée à parties égales avec une solution de tampon phosphate de 0,2M, pH 7,4. La durée de fixation varie de 4 à 6 heures.

Pour l'étude immunocytochimique en microscopie électronique, Le fixateur est composé d'un mélange comportant 4% de formaldéhyde et 0,25% de glutaraldéhyde dans le tampon. Il permet la détection immunocytochimique des peptides par la technique des anticorps couplés à l'or colloïdal après enrobage. Mais la conservation des structures cellulaires est souvent médiocre.

Pour les prélèvements destinés uniquement à l'étude ultrastructurale en microscopie électronique, la fixation se fait par le glutaraldéhyde 5% pendant 6 heures. Elle est suivie d'une post-fixation d'une heure par le tétroxyde d'osmium à 1% dans du tampon phosphate 0,1M, pH 7,4 à 4°C.

3-2- Inclusions :

Seuls les échantillons qui seront débités en coupes semi-fines ou ultra-fines seront inclus dans un mélange d'inclusion. Les échantillons débités au vibratome seront utilisés pour la technique d'immunocytochimie sur coupes flottantes.

Après la fixation, les échantillons sont rincés dans le tampon phosphate 0,1 M, pH 7,4, dans le cas d'une fixation par les aldéhydes, dans l'eau distillée après post-fixation osmiée, et déshydratés dans des bains d'alcool éthylique de concentration croissante (1X10 mn alcool 70°, 2X10 mn alcool 95°, 3X20 mn alcool 100°). La déshydratation peut être interrompue pendant la nuit dans l'alcool à 70°. Après deux bains de 10 mn. dans l'oxyde de propylène, les pièces sont infiltrées par le milieu d'inclusion.

Le mélange d'inclusion est préparé extemporanément en mélangeant soigneusement :

- Araldite : 4 ml
- Epon : 5 ml
- DBA (durcisseur) : 12 ml
- DMP 30 (accélérateur) : 1 ml.

Un bain d'une heure, à parties égales, oxyde de propylène-milieu d'inclusion est suivi de deux bains d'une heure chacun dans le milieu d'inclusion, sous lampe chauffante qui permet une meilleure pénétration du milieu d'inclusion dans les tissus.

L'inclusion est réalisée dans un moule compartimenté à fond plat qui permet l'orientation précise des échantillons. La polymérisation s'effectue à 70° pendant au moins 48 heures.

3-3- Coupes :

3-3-1- Coupes semi-fines :

Les coupes semi-fines sont faites pour l'étude immunohistochimique en microscopie photonique sur les tissus fixés par le paraformaldéhyde 4%. Les coupes sériées de 1 ou 2 µm d'épaisseur sont réalisées sur ultramicrotome Reichert OMU2 ou OMU3, à l'aide de couteaux de verre. Elles sont montées sur lames de verre revêtues de gélatine.

Pour l'étude en microscopie électronique, l'examen de coupes semi-fines colorées rapidement par le bleu de toluidine 1% dans une solution de borate de sodium à 5% à chaud, permet une sélection précise des zones à étudier.

3-3-2- Coupes ultrafines :

Les coupes «ultrafines», couleur argent, sont faites à l'aide de couteaux de verre ou de diamant et recueillies sur des grilles en cuivre. Pour l'application de la technique de marquage par l'or colloïdal, les grilles en cuivre de large ouverture (100 mesh) sont préalablement revêtues d'une membrane de formvar.

Pour l'examen au microscope électronique, les coupes sont contrastées par l'acétate d'uranyle (5% dans l'eau distillée) pendant 20 minutes à l'obscurité, et après rinçage par le citrate de plomb pendant 5 minutes (Reynolds, 1963). Elles sont ensuite stabilisées par une fine couche de carbone déposée dans un évaporateur Edwards. Elles sont étudiées au microscope électronique Jeol 100 CX.

3-3-3- Coupes au vibratome :

Après la postfixation, le cerveau est découpé transversalement en plusieurs tranches de quelques millimètres d'épaisseur qui sont rincées dans du tampon PBS

(tampon phosphate salin). La tranche du cerveau contenant l'hypothalamus est séchée au niveau de sa section caudale qui est collée à la «cyanolite» sur un porte objet. Le porte objet est fixé dans la cuve du vibratome qui est rempli de PBS. Les coupes frontales sériées de 50 µm d'épaisseur sont récupérées dans des puits successifs préalablement remplis de PBS

4- IMMUNOCYTOCHIMIE :

4-1- Principe :

Des molécules organiques complexes et de poids moléculaire relativement élevé sont capables, lorsqu'elles sont injectées à un animal d'une espèce différente de leur espèce productrice, d'induire la synthèse par les lymphocytes B de l'hôte de molécules spécifiques, les anticorps, qui vont les reconnaître. Les molécules susceptibles d'induire la synthèse d'anticorps sont appelées antigènes. L'antigène et l'anticorps forment un complexe de très haute stabilité qui, dans l'organisme est ensuite phagocyté pour permettre son élimination.

L'immunocytochimie utilise cette forte affinité " antigène-anticorps " pour visualiser les molécules biologiques dans les tissus ainsi que dans les cultures cellulaires. En immunocytochimie, l'anticorps dirigé contre la molécule étudiée porte le nom d'anticorps primaire. On utilise deux types d'anticorps primaires :

a - Les immunosérums obtenus en injectant une molécule donnée à un animal, en général un lapin, et en recueillant le sérum de cet animal immunisé. Les immunosérums sont donc constitués d'un mélange d'anticorps dirigés contre les divers épitopes (régions d'une molécule susceptibles d'induire la formation d'anticorps spécifiques) d'une molécule et sont donc des anticorps polyclonaux. Un

immunsérum peut être purifié par chromatographie d'affinité, ce qui permet d'obtenir une fraction anticorps purifiée.

b - Les anticorps monoclonaux obtenus par fusion d'une population de lymphocytes B producteurs d'anticorps (plasmocytes) avec des cellules d'une lignée tumorale non sécrétante pour former des hybridomes. Les cellules ainsi immortalisées sont ensuite sélectionnées de façon à conserver le clone qui produira l'anticorps désiré ; les anticorps monoclonaux sont donc dirigés contre un seul épitope d'une molécule donnée. Ils sont généralement produits par des cellules de souris.

La détection du complexe "antigène-anticorps primaire" nécessite l'utilisation d'un marqueur de l'anticorps qui va permettre sa visualisation. On utilise divers types de marqueurs pour les réactions immunocytologiques :

a- Les fluorochromes. Il s'agit de molécules qui lorsqu'elles sont excitées à une longueur d'onde donnée émettent une lumière de longueur d'onde différente. Les marquages par immunofluorescence sont plus sensibles et plus fins que les marquages par enzymes ; néanmoins, les fluorochromes présentent le net désavantage de subir une extinction de leurs propriétés fluorescentes après irradiation, ce qui interdit la conservation des marquages à long terme.

b- Les enzymes comme la peroxydase de Raifort (Horse Radish Peroxidase ou HRP), la phosphatase alcaline ou la glucose oxydase qui catalysent la transformation d'un substrat soluble incolore en un composé coloré visible en microscopie photonique. La diaminobenzidine (DAB), substrat le plus couramment utilisé pour la peroxydase de Raifort, donne lieu à un dépôt brun que l'on peut éventuellement intensifier par adjonction d'un sel de nickel dans le milieu réactionnel. Cette intensification par les sels de nickel est due à la capacité du produit de réaction de

le DAB de se combiner aux sels de métaux lourds. Il devient alors opaque aux électrons ce qui permet sa détection en microscopie électronique.

c- Les particules d'or colloïdal. Elles se lient à l'anticorps par le biais d'une interaction électrostatique. Cette technique est surtout utilisée en microscopie électronique, bien qu'elle soit également applicable à la microscopie photonique. Plus le diamètre du grain sera faible, plus le marquage sera fin et précis.

d- Les isotopes radioactifs. L'isotope le plus couramment utilisé est le ^{125}I . Cette technique permet d'obtenir des marquages beaucoup plus sensibles mais nécessite beaucoup plus de temps, en raison du temps d'exposition des coupes.

Plusieurs techniques de marquage sont envisageables:

a- Le marquage immunohistochimique direct. Le marqueur est couplé chimiquement à l'anticorps primaire. Cette technique est très peu utilisée car elle nécessite la purification des anticorps primaires.

b- Le marquage immunohistochimique indirect <en sandwich>. Le marqueur est couplé à un second anticorps ou anticorps secondaire qui est spécifique du fragment constant (Fc) des immunoglobulines de l'espèce productrice de l'anticorps primaire. Les anticorps secondaires ne sont généralement pas des immunoglobulines complètes, mais se limitent aux fragments Fab (Fragment antibody-binding) qui contiennent le site de reconnaissance de l'antigène.

c- Le marquage immunohistochimique indirect à la «Biotine-Avidine». L'anticorps secondaire est couplé à une molécule de biotine. La biotine montre une très forte affinité pour l'avidine ou la streptavidine, une des plus fortes affinités existant dans les interactions moléculaires. La dernière étape consiste à mettre

l'avidine ou la streptavidine porteuse du marqueur (enzyme, fluorochrome ou or colloïdal) en présence de la biotine.

d- La technique du complexe «Avidine-Biotine-Peroxydase». L'anticorps secondaire est couplé à une molécule de biotine. Un complexe «Avidine-Biotine-Peroxydase» préparé extemporanément est ensuite appliqué. La présence de multiples sites de reconnaissance pour la biotine sur la molécule d'avidine va permettre sa fixation sur l'anticorps secondaire biotinylé et donc l'intensification du signal (x molécules de HRP par site antigénique contre 1 dans la technique indirecte «en sandwich» conventionnelle).

e- La technique du complexe peroxydase-anti-peroxydase (PAP). L'anticorps non marqué est appliqué en excès de façon à ce qu'un site Fab demeure libre. Par la suite, ce site Fab sera utilisé pour fixer un complexe PAP (Peroxydase-Anti-Peroxydase) produit chez l'espèce productrice de l'anticorps primaire. Ce protocole permet également une intensification du signal (3 molécules de HRP par site antigénique contre 1 dans les techniques conventionnelles).

Dans cette étude, nous avons utilisé la peroxydase de Raifort comme marqueur dans les réactions immunohistochimiques. Nous avons employé, en microscopie photonique la technique indirecte et la technique du complexe «Avidine-Biotine-Peroxydase». En microscopie électronique, nous avons appliqué la technique indirecte utilisant des immunoglobulines (IgG) marquées à l'or colloïdal, suivant le protocole mis au point par Garaud et coll. (1982).

4-2- Techniques immunocytochimiques

4-2-1- Microscopie photonique :

L'immunohistochimie a été réalisée sur des coupes semi-fines pour l'étude du LI de l'hypophyse et sur des coupes au vibratome flottantes, pour l'étude de l'hypothalamus.

Nous avons appliqué la technique indirecte «en sandwich» utilisant un anticorps secondaire marqué. Le marqueur enzymatique utilisé est la peroxydase de raifort dont l'activité, en présence de diaminobenzidine (DAB) et d'eau oxygénée produit un précipité brun stable et permanent.

4-2-1-1- Traitement des coupes

4-2-1-1-1- Protocole d'immunohistochimie sur coupes semi-fines :

Avant l'application des antisera, les coupes sont traitées par le méthoxyde de sodium, pendant une minute pour dissoudre le milieu d'inclusion. Elles sont ensuite rincées par l'acétone et réhydratées.

Quel que soit leur traitement ultérieur, les coupes sont d'abord incubées en présence de sérum normal de mouton à 5% dans du tampon phosphate 0,1M pendant 30 mn (ce qui permet de bloquer les sites de fixation non spécifiques), puis rincées (3x10mn) dans du PBS 0,1M à PH 7,4.

Les antisera sont dilués dans le diluant pour marquages en microscopie photonique (diluant MP) (tampon phosphate salin (PBS) N/10, additionné de 0,5% de TritonX100, détergent qui favorise la pénétration des anticorps dans la coupe et de 0,02% de merthiolate de sodium qui inhibe la prolifération bactérienne). Ils sont

laissés au contact des coupes pendant 14 heures, en chambre humide à la température ambiante.

Rincées dans du PBS (3x10 min), les coupes sont ensuite incubées dans l'anticorps secondaire dilué dans le diluant MP pendant 2 heures à température ambiante.

Selon la nature des anticorps, deux protocoles de mode de révélation ont été utilisés :

- Technique du Fab couplés à la peroxydase de Raifort

Les coupes incubées en présence d'anticorps polyclonaux sont traitées avec des fragments Fab anti-immunoglobulines de Lapin, marqués par la peroxydase (Biosys) dilués à 1/100, pendant 45 min à l'obscurité.

Dans le cas où l'anticorps primaire serait produit par une espèce autre que le Lapin (par exemple la chèvre dans le cas de l'immunserum anti GAD), les coupes sont traitées par un antiserum de Lapin dirigé contre les immunoglobulines de l'espèce productrice de l'anticorps primaire, dilué à 1/50 pendant 30 min, avant l'application des Fab anti-immunoglobulines de Lapin. Après 3 lavages par le PBS, les coupes sont traitées par la 3-3-diaminobenzidine tétrahydrochloride (DAB) à 0,05% dans le tampon Tris HCL 0,05 M, pH 7,6, additionné d'eau oxygénée (30 µl H₂O₂) (Kit DAB, Vector). La formation du produit de réaction est suivie au microscope photonique et est arrêtée quand le rapport signal/bruit de fond apparaît optimal. A ce stade, l'intensité du marquage peut être renforcée par le traitement des coupes par une solution diluée de tétroxyde d'osmium. Néanmoins, cette opération augmente aussi sensiblement le bruit de fond.

Les coupes collées aux lames sont ensuite lavées par l'eau courante, déshydratées dans l'alcool, éclaircies dans le xylol et montées entre lame et lamelle dans l'Eukitt.

- Technique du complexe "Avidine- Biotine-Peroxydase" :

Les coupes traitées avec les anticorps monoclonaux sont incubées pendant 2 heures en présence de fragments Fab anti-souris biotinylés. Après rinçage (3x10 min) dans du PBS, les coupes sont traitées avec le complexe Avidine-Biotine-Peroxydase de Raifort (Kit ABC, Vector) préparé dans le diluant MP pendant 1 heure. La révélation de la peroxydase et le montage des coupes sont réalisés de la même façon que dans le protocole ci-dessus.

4-2-1-1-2- Protocole d'immunohistochimie sur coupes flottantes :

Les marquages sont appliqués sur des coupes successives de 50 µm d'épaisseur, réalisées au vibratome et qui ont été récupérées dans des puits de boîtes de culture. Toutes les étapes de la technique sont réalisées dans ces puits à température ambiante, dans un volume variant de 0,5 à 1 ml de solution, et sous agitation.

Pour ces marquages, nous avons utilisé le même protocole de la technique du complexe Avidine-Biotine-peroxydase (Kit ABC, Vector). Enfin, la peroxydase est révélée selon la même méthode que celle décrite plus haut, puis les coupes sont montées sur lames gélatinées, déshydratées et recouvertes d'une lamelle dans l'Eukit.

4-2-2- Immunocytochimie ultrastructurale :

Méthode des anticorps marqués par l'or colloïdal.

Cette technique est appliquée en utilisant des immunoglobulines (IgG) marquées à l'or colloïdal, mise au point par J. C. Garaud (Garaud et coll., 1982). Il s'agit d'une technique indirecte, en deux temps:

- fixation de l'anticorps primaire spécifique sur les sites antigéniques.
- révélation de cette fixation grâce à l'anticorps secondaire couplé à des particules d'or colloïdal, facilement identifiables au microscope électronique grâce à leur haute densité aux électrons.

Les coupes, montées sur grilles de 200 mesh préalablement recouvertes d'une membrane de formvar (0,2% dans le dichloréthane), sont d'abord traitées par du lait écrémé en poudre (0,2%) pendant 30 min, pour saturer les sites non spécifiques. Après rinçages dans le diluant de microscopie électronique (diluant ME) (tampon phosphate 0,05M, additionné de NaN_3 et de Tween 20 au 1/2500), elles sont incubées en présence de l'anticorps primaire pendant 1 heure à 25°C. Après 3 lavages au diluant ME, elles sont incubées en présence d'une solution d'immunoglobulines anti-immunoglobulines de Lapin, couplées à des particules d'or colloïdal de 5 nm de diamètre. Après 3 lavages brefs par le diluant ME, puis par l'eau distillée, les coupes sont contrastées par l'acétate d'uranyle (5% en solution aqueuse), rincées par l'eau distillée et observées au microscope électronique.

Cette technique a été utilisée pour le marquage de l' α -MSH. Les anticorps ont été appliqués aux mêmes dilutions qu'en microscopie photonique.

4-2-3- Caractérisation des anticorps utilisés :

4-2-3-1- Anticorps primaires

Anticorps appliqués sur les coupes semi-fines d'hypophyse:

- Anticorps anti- α -MSH : polyclonal de lapin (G. Schmitt, Strasbourg), dilué au 1/10000.
- Anticorps anti-Tyrosine hydroxylase (TH) : monoclonal de souris, (Chemicom MAB318), dilué au 1:1000.
- Anticorps anti-Gad : polyclonal de chèvre (Dr M.L. Tappaz), dilué au 1:2500.
- Anticorps anti-GFAP: polyclonal de lapin (Dakopatt), dilué au 1/3000.
- Anticorps anti-vimentine: monoclonal de souris (Boehringer), dilué au 1/100.
- Anticorps anti-VP: polyclonal de lapin (Dr G.Tramu), dilué au 1/10000.
- Anticorps anti-OT: polyclonal de lapin, (Dr G.Tramu), dilué au 1/20000.
- Anticorps anti-AVP: polyclonal de lapin (Dr F. René), dilué au 1/1000.
- Anticorps anti-OT/neurophysine : monoclonal de lapin (Gainer), dilué au 1/200.

Anticorps appliqués sur les coupes flottantes d'hypothalamus:

- Anticorps anti-VP: polyclonal de lapin (Dr G.Tramu), dilué au 1/10000.
- Anticorps anti-OT: polyclonal de lapin, (Dr G.Tramu), dilué au 1/20000.

4-2-3-2- Anticorps secondaires

- Fab-HRP anti-IgG de lapin, origine chèvre (Biosys, France), dilué au 1/200.
- Fab-Biotinylé anti-IgG de souris, origine chèvre (Biosys, France), dilué au 1/500.

- Fab-Biotinylé anti-IgG de lapin, origine chèvre (Biosys, France), dilué au 1/500.

4-2-3-3- Tests de spécificité

Technique d'extinction :

La spécificité des réactions immunocytochimiques est vérifiée par des tests d'extinction. Cette technique consiste à saturer l'anticorps par son antigène et à vérifier son absence de réactivité en présence de l'antigène tissulaire. Ces tests permettent également de mettre en évidence d'éventuelles réactions croisées de l'anticorps.

Les immun-séra sont incubés pendant 1 heure à 37° C en présence de leur antigène correspondant ou avec un antigène susceptible de présenter une réaction croisée, avant d'être utilisés dans les conditions standard.

Les immun-séra anti-vasopressine et anti-ocytocine ont été testés sur des coupes au vibratome d'hypothalamus de rat et des coupes semi-fines d'hypophyse de gerbille.

Quand l'antigène n'est pas disponible (GAD, TH...) la spécificité de la réaction est testée en appliquant le protocole de marquage en omettant l'anticorps primaire.

Chapitre III

ETUDE DU LOBE INTERMEDIAIRE DE L'HYPOPHYSE DE GERBILLE

1- INTRODUCTION

Accolé étroitement au LN qu'il enveloppe partiellement, le LI de l'hypophyse de gerbille est séparé du LA par la fente hypophysaire (schéma). Caractérisé par sa structure compacte, il est constitué de gros lobules tapissés par une lame basale et séparés par de faibles espaces de tissus conjonctif contenant quelques rares vaisseaux sanguins. Les lobules contiennent des cellules endocrines constituées en majorité de cellules mélanotropes, qui ont une forme polygonale, une surface d'environ $20 \mu\text{m}^2$ et renferme un volumineux noyau. Quelques cellules apparentées aux cellules corticotropes, représentent un second type de cellules glandulaires. Beaucoup moins fréquents que les cellules mélanotropes, elles sont observées principalement le long du LN dans lequel elles migrent parfois. Ces cellules sont plus petites, allongées, et possèdent des caractéristiques ultrastructurales et immunocytochimiques identiques à celles des cellules corticotropes du LA.

En bordure de la fente hypophysaire, le LI est recouvert d'une couche monocellulaire non glandulaire, les cellules épithéliales. Ces cellules sont étroitement associées les unes aux autres par des jonctions serrées apicales et quelques desmosomes. D'autres cellules non glandulaires, étoilées, insinuent leurs prolongements riches en microfilaments et en microtubules entre les cellules mélanotropes. Elles s'associent souvent en follicules et constituent ainsi les cellules folliculo-stellaires (CFS) du LI.

2- Résultats

2-1- Immunocytochimie en microscopie photonique :

2-1-1- Les cellules glandulaires :

L'anticorps (AC) anti- α -MSH marque intensément les cellules mélanotropes qui sont largement prédominantes dans les lobules du LI. Elles sont tout à fait comparables par leur structure aux cellules mélanotropes décrites chez d'autres mammifères étudiés.

Ces volumineuses cellules de forme polygonale, montrent une nette variation dans la distribution et l'intensité de l'immunoréactivité (ir) à l'AC anti- α -MSH, selon l'état d'hydratation de l'animal. Chez la gerbille déshydratée, l'immunoréactivité est intense et remplit l'ensemble du cytoplasme (fig. 1 a), alors que chez l'animal hydraté, l'immunoréactivité est irrégulière et apparaît plus concentrée le long de la membrane cytoplasmique (fig. 1 b).

Un deuxième type de cellules immunoréactives à l'AC anti- α MSH est observé à l'interface entre le LI et le LN (fig. 1 a, b flèches). Ces cellules sont moins nombreuses et diffèrent des cellules mélanotropes par leur forme allongée et leur localisation ainsi que par l'intensité de leur marquage. Leur marquage à l'AC anti- α -MSH ne varie pas entre l'animal hydraté et l'animal déshydraté.

Il est à noter que les cellules corticotropes du LA sont également fortement immunoréactives à l'AC anti- α -MSH.

2-1-2- Les cellules folliculostellaires (CFS) :

Le marquage immunocytochimique de la vimentine et de la GFAP révèle la présence de CFS qui envoient de fins prolongements entre les cellules mélanotropes et entourent fréquemment les lobules. Ces cellules sont plus abondantes dans la zone caudale du LI.

Chez la gerbille hydratée (fig. 1 d, f), les corps cellulaires des CFS sont apparemment plus volumineux et leurs prolongements sont plus développés que ceux observés chez l'animal déshydraté (fig. 1 c, e). En effet, le LI de gerbille hydratée montre une intense immunoréactivité à la vimentine (fig. 1 d), portée par des prolongements plus ou moins épais qui entourent les lobules et par des prolongements plus fins qui s'insinuent dans le corps des lobules. Quelques cellules multipolaires et ramifiées sont observées à l'intérieur des lobules (fig. 1 d, flèche). Chez la gerbille déshydratée, l'immunoréactivité à la vimentine est très faible et punctiforme (fig. 1 c).

Dans le cas de la GFAP, de multiples prolongements épais de CFS fortement marqués sont détectables dans le LI de gerbille hydratée (fig. 1 f, flèche). Quelques corps cellulaires marqués sont également observés. D'autres prolongements très épais et fortement immunoréactifs sont observés sur le contour du LN bordant le LI. Chez l'animal déshydraté, l'immunoréactivité à la GFAP est nettement atténuée (fig. 1 e). L'épithélium bordant la fente hypophysaire ne montre pas de marquage par les deux anticorps.

2-1-3- L'innervation :

Le LI de gerbille, comme celui des autres rongeurs étudiés est abondamment innervé. D'abondants éléments nerveux TH-immunoréactifs et GAD-immunoréactifs sont régulièrement distribués à travers le LI (fig. 1 g-k). L'anticorps anti-TH marque des structures punctiformes et filamenteuses qui correspondent aux terminaisons nerveuses et aux axones (fig. 1 g, h). Avec l'anticorps anti-GAD, l'immunoréactivité est essentiellement punctiforme et serait apparemment limitée aux boutons synaptiques (fig. 1 i, k). La comparaison des coupes adjacentes montre dans l'ensemble, une distribution similaire de l'immunoréactivité aux deux anticorps.

2-2- Microscopie électronique :

2-2-1- Les cellules glandulaires :

Deux types de cellules glandulaires peuvent être distingués par leur ultrastructure: Les cellules mélanotropes proprement dites et les cellules de type corticotrope.

2-2-1-1- les cellules mélanotropes :

Les cellules mélanotropes qui représentent la grande majorité des cellules glandulaires du LI, sont des cellules volumineuses de forme polygonale. Elles apparaissent étroitement associées avec de fréquentes interdigitations de leurs membranes plasmiques. Riches en mitochondries et en structures golgiennes et ergastoplasmiques, elles sont surtout caractérisées par l'accumulation de granules sécrétoires de 150 à 300 nm de diamètre, de densité très variable aux électrons. Les granules nouvellement formés dans la zone golgienne sont remarquablement denses et toujours bien conservés par la fixation. Ils s'éclaircissent progressivement lorsqu'ils quittent l'appareil de Golgi pour s'accumuler à la périphérie de la cellule.

Les cellules mélanotropes du LI de gerbille manifestent de nettes modifications morphologiques selon la saison de capture de l'animal dans son biotope (été ou hiver) et selon les conditions expérimentales de déshydratation ou d'hydratation des animaux maintenus en captivité au laboratoire. On peut considérer que dans le biotope de la gerbille, la période estivale caractérisée par une grande déshydratation des aliments correspond à un régime déshydraté alors qu'en hiver, grâce aux rosées matinales, l'animal dispose d'une alimentation plus riche en eau.

L'observation ultrastructurale du LI de l'hypophyse de gerbille révèle que les cellules mélanotropes présentent deux aspects distincts :

- Le premier aspect caractérise les prélèvements d'hypophyse effectués sur des gerbilles en été dans le biotope naturel (fig. 2 a) et ceux effectués sur des gerbilles maintenues au laboratoire dans des conditions de déshydratation (fig. 3 a). En effet, dans ces deux cas, les cellules mélanotropes du LI contiennent de nombreuses vésicules sécrétoires réparties à travers tout le cytoplasme. On note une hétérogénéité du matériel sécrétoire et surtout l'abondance des vésicules sécrétoires claires ou de faible densité, qui représentent les vésicules sécrétoires matures. Ces vésicules claires sont plus abondantes chez l'animal déshydraté expérimentalement. Dans les deux cas, l'ergastoplasme est peu développé et très épars. Les structures golgiennes sont réduites et les granules denses golgiens sont rares.

Le deuxième aspect concerne les prélèvements effectués sur des gerbilles en période d'hiver dans le biotope naturel (fig. 2 b) et ceux effectués sur des gerbilles maintenues au laboratoire dans des conditions d'hydratation (fig.3 b). Dans ces deux cas, le cytoplasme des cellules mélanotropes est très pauvre en vésicules sécrétoires matures caractérisées par l'hétérogénéité de la densité de leur contenu. On observe une prolifération importante des citernes ergastoplasmiques souvent dilatées, occupant un volume cytoplasmique très étendu. Les citernes ergastoplasmiques sont souvent associées aux mitochondries. L'ergastoplasme apparaît plus dilaté et vésiculaire chez l'animal capturé en hiver. Les structures golgiennes sont remarquablement plus développées que chez l'animal déshydraté. Des grains de sécrétion denses nouvellement formés et des condensations granulaires intragolgiennes, sont fréquemment observés dans la région golgienne. Toutes ces caractéristiques ultrastructurales témoignent d'une intense activité de synthèse et de sécrétion protéique.

2-2-1-2- Les cellules de type corticotrope

Outre les cellules mélanotropes typiques, le LI de gerbille renferme un deuxième type de cellules glandulaires, morphologiquement différent des cellules mélanotropes proprement dites et nettement moins abondant. Elles sont souvent détectées au contact du LN, dans les zones où la lame basale séparant les deux lobes est absente (fig. 4 a). Elles présentent de nombreux contacts synaptiques avec des terminaisons nerveuses (fig. 4 b).

Ces cellules de forme allongée, possèdent un appareil de Golgi et un réticulum modérément développés. Elles contiennent des grains de sécrétion de grande taille (250 - 350 nm de diamètre), de forme souvent irrégulière et très denses aux électrons répartis dans tout le cytoplasme (fig. 4 a).

L'application de la technique d'immunocytochimie à l'or colloïdal en microscopie électronique, utilisant l'anticorps anti- α MSH, permet la mise en évidence de l'hormone au niveau des vésicules sécrétoires dans les cellules mélanotropes du LI (fig. 4 d). Cet anticorps marque également de façon très intense les cellules corticotropes du lobe antérieur (fig. 4 c). Les caractéristiques morphologiques des cellules corticotropes du LA, telles que la forme et la taille des granules sécrétoires diffèrent nettement de celles des cellules mélanotropes mais sont comparables à celles observées dans le deuxième type de cellules glandulaires du LI. Cette similitude morphologique entre ces deux types de cellules suggère fortement que le deuxième type de cellules glandulaires observé dans le LI de l'hypophyse de gerbille serait de type corticotrope.

Il est à noter que les cellules de type corticotrope du LI de gerbille ne montrent pas de variations ultrastructurales dans les conditions expérimentales de déshydratation (fig. 5 a) et d'hydratation (fig. 5 b) étudiées. En effet, dans les deux cas, le nombre, la forme et la répartition des granules sécrétoires sont comparables et les structures ergastoplasmiques sont très peu développées.

2-2-2- Les cellules folliculostellaires (CFS) :

Des extensions de CFS, riches en microfilaments et en microtubules sont observées entre les cellules mélanotropes et à la périphérie des lobules. Ils accompagnent souvent les fibres nerveuses et s'insinuent avec elles dans les espaces intercellulaires (fig. 6 a). Contrairement à ce qui a été observé chez le rat et la souris, les CFS du LI de gerbilles s'organisent souvent en follicules avec une lumière plus ou moins dilatée, dans laquelle plongent de nombreuses villosités (fig. 6 b, d, e). Ces cellules sont reliées entre elles par des desmosomes et contiennent souvent des vésicules à contenu très dense aux électrons, généralement de grande taille (plus de 400 nm). Ces vésicules sont systématiquement disposées de façon apicale à proximité des complexes de jonction membranaire et en bordure de la lumière du follicule (fig. 6 b, c, d, e).

2-2-3- L'Innervation :

Le LI de l'hypophyse de gerbille présente une innervation abondante. Les axones cheminant entre les cordons cellulaires pénètrent aussi à l'intérieur de ces derniers et entrent en contact direct avec les cellules mélanotropes. Des contacts neuroglandulaires de type synaptique ou synaptoides (encroûtement postsynaptique absent ou peu marqué) sont fréquemment observés entre axones et cellules mélanotropes. Dans ces zones de contact, les axones présentent des agglomérats de fines vésicules claires (50 nm) de type synaptique, en relation avec l'encroûtement plus ou moins marqué de la membrane neuronale (fig. 7, a, b, c, d). Ces terminaisons nerveuses renferment outre les petites vésicules synaptiques claires, des vésicules à cœur dense de taille variable, de 80 à 120 nm de diamètre (fig. 7 a, b, c). Un même bouton terminal formant des synapses avec deux cellules mélanotropes peut être observé (fig. 7 b). Les cellules de type corticotrope du LI de gerbille présentent également de nombreux contacts synaptiques avec des fibres nerveuses (fig. 4 b).

3- DISCUSSION

Cette étude immunocytochimique et ultrastructurale est réalisée pour la première fois sur le lobe intermédiaire de l'hypophyse de gerbille (*Gerbillus pyramidum*), rongeur désertique saharien, nocturne. Bien que ces caractères morphologiques soient dans l'ensemble comparables à ceux décrits chez d'autres rongeurs, le LI chez cette espèce présente des caractéristiques particulières très intéressantes, telles que l'existence de cellules glandulaires de type corticotrope, morphologiquement très différentes des cellules corticotropes décrites chez les autres espèces de mammifères, et la présence de cellules folliculostellaires (CFS) contenant des granules de grande taille très denses aux électrons et localisés dans la zone apicale.

Les modifications morphologiques observées dans des conditions physiologiques et expérimentales, suggèrent fortement l'implication du LI de ce rongeur adapté à la vie désertique, dans la régulation du métabolisme hydrominéral.

3-1- Les cellules glandulaires :

Comme dans toutes les espèces de mammifères étudiées, les cellules mélanotropes constituent la population largement prédominante du LI. Leurs caractères ultrastructuraux sont comparables à ceux décrits chez d'autres mammifères. Elles sont souvent caractérisées par la présence de vésicules sécrétoires de densité variable aux électrons. Chez les animaux capturés dans leur biotope naturel, les cellules mélanotropes montrent des variations saisonnières importantes dans la morphologie sécrétoire concernant le développement de l'ergastoplasme, l'extension de l'appareil de Golgi et le nombre de vésicules sécrétoires dans le cytoplasme, traduisant ainsi une forte activité sécrétoire en hiver et un repos fonctionnel en été. Dans les conditions expérimentales

d'hydratation et de déshydratation des animaux, une forte activité est observée dans les cellules mélanotropes des gerbilles hydratées, alors que chez les animaux déshydratés l'activité sécrétoire des cellules mélanotropes apparaît très diminuée. La signification fonctionnelle de ces modifications sera discutée plus loin.

Le deuxième type de cellules glandulaires morphologiquement distinct des cellules mélanotropes est peu abondant dans le LI de gerbille. Ces cellules sont surtout disséminées tout le long du LN. Tout comme les cellules corticotropes du LA, ces cellules réagissent à l'anticorps anti- α MSH. Cela nous laisse supposer deux hypothèses possibles: soit que ces cellules contiennent réellement de l' α -MSH, soit que l'anticorps reconnaît la séquence 1 - 13 de l'ACTH dans ces cellules. Toutefois, les granules sécrétoires que contiennent ces cellules sont nettement différents de ceux contenus dans les cellules mélanotropes. De grande taille (250 - 350 nm) et de forme irrégulière, ils sont répartis dans tout le cytoplasme, et sont comparables à ceux observés dans les cellules corticotropes du LA. Ces grains de sécrétion, contrairement aux grains matures des cellules mélanotropes, sont toujours bien conservés par la fixation. Ces cellules pourraient donc être considérées comme d'authentiques cellules corticotropes propres au LI. Il est intéressant de noter que chez la gerbille les caractères morphologiques des cellules corticotropes sont nettement différents de ceux observés dans l'hypophyse de rat et de souris. En effet, les cellules corticotropes chez le rat et la souris ont été décrit par Siperstein et Miller (1970) comme des cellules étoilées de petite taille, renfermant des grains de sécrétion de petit diamètre (150 à 180 nm) à disposition marginale caractéristique. La présence de cellules corticotropes a été rapportée dans la zone rostrale du LI et tout le long du LN chez la souris et le rat (Stoeckel et coll., 1971 ; 1973 a et b), alors que leur absence a été signalée dans le LI de vison (Weman et Nobin, 1973).

La présence de deux types cellulaires glandulaires dans le LI de gerbille synthétisant le même précurseur, la POMC, semble donc bien établie puisque morphologiquement, ces deux types de cellules sont nettement différents. Il paraît donc évident, d'après ces critères morphologiques, que ces deux types cellulaires ne peuvent exercer une même fonction. Mais en dépit de leurs analogies structurales et immunocytochimiques avec les cellules corticotropes du lobe antérieur, on ne peut cependant affirmer que les cellules de type corticotropes du LI constituent un système corticotrope équivalent à celui du lobe antérieur dont il ne différencierait que par sa seule localisation dans le lobe intermédiaire. Car, contrairement aux cellules corticotropes du LA qui sont soumises à un contrôle purement humoral, ces cellules présentent des contacts synaptiques avec des fibres nerveuses et semblent donc être sous contrôle nerveux comme les cellules mélanotropes. La signification fonctionnelle de ces cellules qui sont soumises à une régulation nerveuse reste à établir. Dans les cellules de type corticotrope du LI de gerbille, l'absence de modifications morphologiques dans les différentes conditions physiologiques examinées, suggère qu'elles jouent un rôle distinct de celui des cellules mélanotropes.

3-2- Les cellules folliculostellaires (CFS) :

Des CFS sont fréquemment observées dans le LI de l'hypophyse de gerbille en microscopie photonique par marquage immunocytochimique de la GFAP ou de la vimentine et en microscopie électronique. Contrairement au LI de rat, chez la gerbille ces cellules s'organisent souvent en petits follicules. Des granules denses de grande taille entourés de membrane et localisés dans le cytoplasme apical de ces cellules, n'ont jamais été, à notre connaissance, rapportés dans le LI chez d'autres espèces de rongeurs dans des conditions normales. Des formations similaires ont

été décrites dans les cellules folliculostellaires du LA chez le chien (Kagayama, 1965). Dans le LA de l'hypophyse de rat, de tels granules, absents à l'état normal, apparaissent dispersés dans le cytoplasme après thyroïdectomie (Yoshimura et coll. 1977). Ils ont été considérés comme des indicateurs de l'état de différenciation endocrinienne des cellules folliculaires. La nature et l'origine des CFS ont donné lieu à de nombreuses controverses. Elles ont été considérées comme des cellules matures différenciées ou encore comme des cellules glandulaires dédifférenciées (pour revue, voir Allaert et coll., 1990). Plus fréquemment décrites dans le LA, elles ont toujours été considérées comme non glandulaires du fait de l'absence de granules sécrétoire. Toutefois, certains auteurs ont démontré que les CFS du LA sont capables de sécréter des polypeptides bioactifs, tel que la protéine S100 (Ishikawa et coll., 1983), l'interleukine-6 (Vankelecom et coll., 1989 ; Spangelo et coll., 1990), le VEGF (vascular endothelial growth factor) et la follistatine (Gospodarowicz et Lau, 1989). La concentration apicale des granules dans les cellules folliculaires du LI de gerbille suggère l'implication de ces cellules dans certains processus sécrétoires polarisés à travers la lumière des follicules.

L'immunocytochimie montre de nombreux prolongements et quelques corps cellulaires de CFS marqués par les anticorps anti-vimentine et anti-GFAP dont la distribution sur les coupes adjacentes laisse entrevoir une possible colocalisation, toutefois, les structures GFAP-immunoréactives sont moins abondantes. Il a été rapporté qu'au cours du développement chez le rat, on assiste au remplacement de l'expression de la vimentine par l'expression de la GFAP à un stade postnatal précoce (Gary et coll., 1995). Chez cette espèce, la GFAP est exprimée chez l'adulte par une sous-population de CFS dont le nombre, la forme et la taille varient selon les conditions physiologiques. Chez la gerbille, l'expression de la vimentine persiste chez l'adulte dans les CFS qui expriment la GFAP. Dans les mêmes conditions techniques, l'anticorps anti-vimentine utilisé marque de façon similaire

les CFS chez le rat adulte (Berardi, communication personnelle). Ces résultats, en contradiction avec les observations de Gary et coll., (1995), semblent être liés aux types d'anticorps utilisés. D'autre part, le LI de gerbille montre une variation de l'immunoréactivité à la vimentine et à la GFAP selon l'état d'hydratation ou de déshydratation de l'animal. En effet, dans le LI de gerbilles capturées dans leur biotope en été et celles soumises à une déshydratation expérimentale, le nombre de prolongements des CFS, éléments immunoréactifs à la vimentine ou à la GFAP est nettement diminué par rapport à celui observé chez les animaux hydratés. Ces observations sont en accord avec les résultats obtenus par Gary et Chronwall (1995) chez le rat soumis à une surcharge saline. Elles suggèrent l'existence d'une relation fonctionnelle entre les CFS et l'activité sécrétoire des cellules mélanotropes.

3-3- L'Innervation :

L'innervation du LI de l'hypophyse de gerbille est nettement plus abondante que celle du LI du rat et de la souris observée dans les mêmes conditions techniques. La distribution similaire de l'immunoréactivité pour la TH et la GAD chez la gerbille suggère fortement une colocalisation du GABA et de la dopamine, déjà rapportée chez d'autres mammifères (Vuillez et coll., 1987 ; Schimchowitsch et coll., 1991). Les deux neurotransmetteurs qui exercent un effet inhibiteur tonique sur l'activité fonctionnelle des cellules mélanotropes, ne sont apparemment pas associés à des neuropeptides, comme dans le cas des amphibiens (Tonon et coll., 1992).

3-4- Implications fonctionnelles :

Le LI de l'hypophyse de gerbille montre clairement des modifications immunocytochimiques et ultrastructurales des cellules mélanotropes et une

modification des CFS liées d'une part, à des variations saisonnières et d'autre part, à des conditions expérimentales d'hydratation des animaux, alors que les cellules de type corticotrope ne sont pas affectées. En effet, ces variations traduites par des modifications ultrastructurales pourraient être corrélées avec l'activité glandulaire du LI. Les critères morphologiques reflétant le plus fidèlement cette activité glandulaire sont manifestement les variations de l'ergastoplasme et des saccules golgiens, qui peuvent être directement reliés à l'intensité d'élaboration du matériel sécrétoire dans les cellules. Ces critères se sont révélés les plus fiables pour définir le comportement du LI lors de perturbations de l'équilibre hydrominéral chez la souris (Kobayashi et coll., 1976 ; Schmitt et coll., 1982).

Au vu des variations saisonnières de leur morphologie, les cellules mélanotropes seraient manifestement très actives en hiver et présentent un repos relatif en été, caractérisé par un stockage important de vésicules sécrétoires matures. Les modifications ultrastructurales saisonnières du LI de gerbilles semblent étroitement liées aux variations hygrométriques dans le biotope naturel de l'animal. En effet, chez les animaux capturés dans leur biotope en été, période excessivement chaude au Sahara, caractérisée par la raréfaction extrême de l'eau et où l'animal est soumis à un état de déshydratation chronique, les cellules mélanotropes présentent un état d'activité sécrétoire ralenti voir même inhibé marqué par un stockage important des granules sécrétoires matures et une faible teneur en structures ergastoplasmiques. Ce même aspect des cellules mélanotropes est observé chez les gerbilles dans des conditions expérimentales de déshydratation. Alors que chez les animaux capturés dans leur biotope en hiver, période relativement humide au Sahara où les animaux peuvent accéder à une alimentation hydratée, toutes les caractéristiques ultrastructurales d'une intense activité de synthèse protéique sont observables dans les cellules mélanotropes. En effet, le cytoplasme de ces cellules, pauvre en granules sécrétoires matures montre une prolifération des citernes ergastoplasmiques très dilatés ainsi qu'une augmentation du nombre de granules nouvellement formés dans les zones golgiennes. De telles modifications sont retrouvées chez les gerbilles dans des conditions expérimentales d'hydratation. Des études morphologique et biochimique ont montré une stimulation sécrétoire et une augmentation de la biosynthèse de la POMC dans les cellules mélanotropes de souris soumises à une hydratation excessive (Kobayashi

et coll., 1984 ; Leenders et coll., 1990) ou privées de sodium (Kobayashi et Takema, 1976 ; Schmitt et coll., 1982). Cette stimulation a été interprétée comme une implication de l' α -MSH dans la régulation de la synthèse de l'aldostérone dans la zone glomérulaire corticosurrénalienne. D'autres études expérimentales confirment l'hypothèse de l'effet stimulateur de l' α -MSH sur la production d'aldostérone (Vinson et coll., 1980; Shenker et coll., 1985). Plus récemment, cependant, Allen et coll. (1995) ont rapporté que chez les souris transgéniques dans lesquelles l'expression du gène de la POMC dans les cellules hypophysaires (aussi bien corticotropes que mélanotropes) a été supprimé à 98%, aucune modification dans la synthèse de l'ARNm de l'aldostérone n'a été observée.

La déshydratation par privation d'eau ou surcharge saline exerce des effets complexes sur l'activité du LI et engendre des résultats contradictoires. Chez la souris, une surcharge en chlorure de sodium à 2% dans l'eau de boisson, provoque une diminution de l'ARNm de la POMC dès le premier jour du traitement (Elkabetz et Peng Loh, 1988). Leenders et coll. (1990) ont rapporté que l'ingestion de NaCl à 2% augmente la natrémie chez la souris et le rat, en provoquant une hyperhydratation chez la souris et une déshydratation chez le rat. Les études morphométriques chez la souris recevant 2 à 5% de NaCl, montrent que ce traitement provoque une réponse biphasique des cellules mélanotropes qui consiste en une stimulation pendant 2 à 4 jours suivie d'une inhibition de leur activité sécrétoire (Schmitt et coll., 1982). Une telle réponse biphasique a également été rapportée chez le rat soumis au même type de traitement (Howe et Tody, 1970). Les réponses biphasiques constatées reflètent l'influence de stimuli opposés sur le LI. La stimulation initiale peut résulter de l'activation des récepteurs β -adrénergiques par les cathécholamines circulantes, due à une situation de stress, ce qui entraverait l'effet inhibiteur dopaminergique tonique. En effet, chez la souris hypernatrémique, la dopamine est clairement antagonisée par les facteurs stimulants comme le montre le traitement par un agoniste de la dopamine, la bromocriptine, qui n'a plus aucun effet inhibiteur sur le LI stimulé de souris traitées par le NaCl à 2% (Schmitt et coll., 1982).

Les variations saisonnières ultrastructurales du LI de gerbille reflètent une fonction modulée des cellules mélanotropes. L'action inhibitrice de la dopamine médiée par les récepteurs D2, est manifestement prédominante au cours de la déshydratation chronique. En effet, Alper et coll., (1980) ont montré qu'une déshydratation sévère chez le rat activait le système tubérohypophysaire dopaminergique ce qui entraîne un renforcement de l'inhibition tonique du LI. Nos observations apportent un argument en faveur d'une inhibition de l'activité sécrétoire des cellules mélanotropes de gerbilles soumises à une déshydratation chronique expérimentale ou de gerbilles capturées dans leur biotope en période d'été. Ces observations suggèrent également, que l'hydratation semble entraîner une levée de l'inhibition dopaminergique conduisant à une hyperactivité des cellules mélanotropes du LI, aussi bien chez les gerbilles soumises à une hydratation expérimentale que chez les gerbilles capturées en hiver (Lebailly et coll., 1999).

La relation entre le développement anatomique du LI et l'aptitude de l'animal à résister à la déshydratation et par conséquent son pouvoir d'adaptation à la vie désertique suggère l'intervention de la glande dans le contrôle des processus physiologiques impliqués (Legait et coll., 1966). Les mêmes auteurs ont également rapporté que les mammifères désertiques, présentent une régression du LI dans des conditions d'extrême déshydratation et acquièrent un lobe plus développé quand ils ont libre accès à l'eau (Legait et Roux, 1961). Nos observations morphologiques et immunocytochimiques suggèrent fortement une implication fonctionnelle des cellules mélanotropes dans la régulation de l'équilibre hydrominéral chez la gerbille. Les mécanismes avec lesquels cette glande exerce ses effets sont encore inconnus. Il est évident que la compréhension du rôle du LI dans la régulation de l'équilibre hydrominéral, passe inévitablement par l'acquisition de données précises sur le mode d'action des différents peptides libérés par la glande et la détermination de leurs cellules cibles. Récemment, une étude ultrastructurale de la zone glomérulée

corticosurrénalienne de gerbille dans des conditions d'hydratation et de déshydratation, a révélé que les cellules glomérulaires présentent des images de stimulation de la synthèse de l'aldostérone chez l'animal hydraté (Saadi, 2001). Une relation du LI avec le système Rénine-Angiotensine-Aldostérone est envisageable et reste à démontrer.

Pour comprendre la signification du cycle sécrétoire saisonnier des cellules mélanotropes, il est nécessaire de considérer l'écologie de cet animal dans son biotope. En effet, dans chaque biotope, les variations journalières et annuelles des facteurs physiques et chimiques de l'environnement (photopériode, température, degré hygrométrique, régime des pluies, qualité et disponibilité de la nourriture...) déterminent les conditions bioclimatiques auxquelles sont soumis ces animaux.

Cette thèse n'avait pas pour objectif l'étude de l'influence de l'environnement extérieur sur la fonction mélanotrope. Mais il est évident, que cet aspect devra être étudié pour savoir dans quelle mesure les facteurs climatiques tels que la photopériode, la température et le degré hygrométrique, sont susceptibles d'être impliqués directement ou par l'intermédiaire de la nourriture, dans le déterminisme des variations saisonnières de l'activité des cellules mélanotropes de gerbille dans son biotope naturel, et quel est leur site privilégié d'action: au niveau de l'activité mélanotrope du LI et/ou sur les facteurs de régulation de cette activité.

Chapitre IV

ETUDE DU SYSTEME NEUROSECRETIOIRE HYPOTHALAMO- NEUROHYPOPHYSAIRE.

1- INTRODUCTION

Le système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire est formé essentiellement de deux populations de neurones à VP et à OT réparties en majorité dans les noyaux supraoptiques et paraventriculaires. Ces neurones projettent principalement dans la neurohypophyse où ils envoient des terminaisons au contact des capillaires sanguins. Le neurosécrétat provenant de ces neurones est transporté le long des axones vers le lobe nerveux où il sera stocké dans les corps de Herring avant d'être libéré selon les besoins dans la circulation sanguine.

Nous avons décrit précédemment la structure du LI de l'hypophyse qui fait partie intégrante du système hypothalamo-hypophysaire, ensemble neuroglandulaire complexe et nous avons montré que la déshydratation chronique chez la gerbille affecte l'activité sécrétoire des cellules mélanotropes alors que l'hydratation en provoque la stimulation. Ces résultats suggèrent fortement que le LI de l'hypophyse de gerbille est impliqué dans la régulation du métabolisme hydrominéral. La gerbille est un rongeur qui manifeste une excellente adaptation à la vie désertique puisqu'elle est capable de survivre à une déshydratation poussée par privation d'eau durant une longue période. Vu l'importance des hormones neurohypophysaires et en particulier la VP dans la régulation de l'équilibre hydrominéral de l'organisme, il nous a paru intéressant de réaliser une description de la répartition des neurones VP et OT dans les noyaux hypothalamiques de gerbille et d'étudier les variations éventuelles du système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire dans les conditions expérimentales d'hydratation et de déshydratation de l'animal, afin de pouvoir mieux apprécier les potentialités de son adaptation au milieu aride.

2- RESULTATS

2-1- spécificité des anticorps:

Bien que les marquages par les anticorps anti-VP et anti-OT utilisés montrent une distribution différente des deux populations de neurones dans l'hypothalamus de gerbille, les tests d'extinction réalisés sur des coupes d'hypothalamus de rat montrent la possibilité de réaction croisée (voir tableau I).

Le marquage par l'anticorps anti-OT est aboli en présence de 10 ou 20 $\mu\text{l/ml}$ de OT mais il est aussi atténué en présence de mêmes concentrations de VP. Cependant, Il faut noter que cet anticorps ne reconnaît pas les neurones du noyau supra-chiasmatique.

Avec l'anti-VP, le marquage est fortement atténué en présence de 10 et 20 $\mu\text{l/ml}$ de VP dans les neurones magnocellulaires. Il est totalement aboli à 20 $\mu\text{l/ml}$ de VP dans les neurones du noyau suprachiasmatique. En présence de OT (10 ou 20 $\mu\text{l/ml}$), un certain nombre de neurones magnocellulaires présentent un marquage

atténué alors que les autres restent intensément marqués. Le marquage du noyau supra-chiasmatique n'est pas affecté. En présence d'OT, le marquage par l'anti-VP du lobe nerveux de l'hypophyse de gerbille est plutôt renforcé.

Il faut cependant signaler que dans ces réactions croisées, les marquages résultant sont relativement faibles.

En revanche, le marquage alternatif des coupes sériées d'hypothalamus de gerbille par les anticorps anti-OT et anti-VP révèle des distributions nettement différentes des neurones synthétisant ces deux peptides.

2-2- Distribution des neurones VP et OT dans les noyaux hypothalamiques de gerbille

Chez la gerbille, comme chez les autres mammifères étudiés, les neurones magnocellulaires neurosécrétoires sont principalement concentrés dans les noyaux supraoptiques (NSO) et paraventriculaires (NPV). Ils sont également présents dans les noyaux accessoires: commissural antérieur et circulaire. Chez la gerbille, le nombre de neurones magnocellulaires plus ou moins dispersés dans l'hypothalamus antérieur est particulièrement frappant.

Les neurones immunoréactifs pour la VP et pour l'OT les plus antérieurs, sont détectés au même niveau, à proximité de l'organe vasculaire de la lame terminale. Le noyau supraoptique rétrochiasmatique (NRCh) est particulièrement bien développé chez la gerbille.

2-2-1- Les noyaux supraoptiques (NSO) :

Rostralement, la partie antérieure des NSO commence par quelques neurones situés à proximité du tractus optique et qui sont adjacents à l'organe vasculaire de la lame terminale (OVLT) (fig. 8 a, b). En allant vers la partie caudale des noyaux, le nombre de neurones augmentent progressivement et forme un groupe dense de neurones localisés dorso-latéralement par rapport au chiasma optique (CO) (fig. 8 c, d, e, f, g, h, i, k). Cette partie antérieure des NSO montre une codistribution de neurones à VP et à OT dans des proportions presque équivalentes.

Dans leur partie médiane, les NSO atteignent leur taille maximale. Ils s'étalent médialement en allant vers le 3ème ventricule et s'accroissent étroitement à la face dorso-latérale du chiasma optique (fig. 9 a, b, c, d, e, f). Bien qu'il n'y ait pas de séparation nette dans la distribution spatiale des deux types de neurones, on observe toutefois que la surface de marquage par l'anticorps anti-VP dans cette partie des NSO est beaucoup plus épaisse et plus étendue et s'étale beaucoup plus

latéralement que celle du marquage de l'OT. Ce qui montre que le nombre de neurones VP est à ce niveau là plus important.

Dans leur partie postérieure, les NSO s'étendent dans l'aire tubérale dont ils occupent les zones latérales (fig. 9 g, h). A ce niveau, le nombre de corps cellulaires devient faible et on remarque une légère prédominance de neurones VP par rapport au nombre de neurones OT.

2-2-2- Les noyaux rétrochiasmatisques (NRCh):

Les NRCh, souvent considérés comme une subdivision postérieure des NSO sont séparés de leur partie antérieure par le tractus optique. Ils sont observés à un niveau où les deux tractus optiques sont nettement séparés. Chez la gerbille, les NRCh sont très développés et présentent une extension postérieure très importante avec une forte intensité du marquage immunocytochimique aussi bien de la VP que de l'OT (fig. 10 c, d, e, f, g, h). Ils sont constitués d'une bande épaisse de neurones qui s'étale entre la face interne du tractus optique et l'éminence médiane. Les neurones VP et OT sont présents dans des proportions comparables. Dans ces noyaux, la taille des neurones paraît plus réduite que celle des neurones magnocellulaires des NSO et des NPV.

2-2-3- Les noyaux paraventriculaires (NPV) :

Les NPV, comme les NSO, présentent une grande extension rostro-caudale. Des coupes successives nous permettent de subdiviser le NPV en trois parties: le NPV rostral, le NPV médian et le NPV caudal. Contrairement aux NSO qui sont formés exclusivement de neurones magnocellulaires, les NPV présentent une cytoarchitecture hétérogène composée de neurones de grande taille, les magnocellulaires et de neurones de petite taille, les parvocellulaires. Chez la gerbille, les neurones parvocellulaires ne sont pas regroupés dans une région précise des NPV, mais ils sont dispersés entre les neurones magnocellulaires.

Le NPV commence dans l'hypothalamus antérieur par un amas de neurones disposés le long de la partie dorsale du 3ème ventricule, formant ainsi un noyau allongé correspondant au noyau périventriculaire. Dans ce noyau, on observe une immunoréactivité positive aussi bien de la VP que de l'OT (fig. 9 a, b). A ce niveau, le plexus subépendymaire est bien développé dans la partie dorsale et ventrale qui présentent une forte immunoréactivité VP alors que seulement quelques corps cellulaires immunoréactifs pour l'OT sont observés le long du 3ème ventricule.

Dans la partie rostrale latérale du NPV correspondant au noyau commissural antérieur décrit par Peterson (1966) chez le rat, on observe un mélange de neurones vasopressinergiques et ocytocinergiques. A travers l'extension rostro-

caudale de cette subdivision, les neurones VP et OT peuvent être répartis en un groupe médian situé dorsalement de part et d'autre du 3ème ventricule et en un groupe étalé dorsolatéralement par rapport au 3ème ventricule (fig. 9 c, d).

Le NPV médian, correspondant au NPV classiquement défini, est composé d'un mélange de cellules à VP et à OT. Dans la moitié rostrale du NPV médian, les neurones VP et OT coexistent dans des proportions comparables avec une forte concentration de corps cellulaires dans sa partie ventro-médiane (fig. 9 e, f, g, h). A ce niveau, l'immunoréactivité VP marque intensément le plexus subépendymaire aussi bien dans sa partie dorsale que ventrale alors qu'un marquage net à l'anticorps anti-OT est détectable dans quelques neurones situés le long du plexus subépendymaire. De cette partie du NPV part un important faisceau latéral d'axones intensément marqués s'intégrant dans le tractus neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire.

Dans sa moitié caudale, le NPV médian est organisé en forme conique caractéristique (fig. 10 a, b, c, d). A ce niveau, la concentration des corps cellulaires diminue et on observe toujours des neurones VP et OT, ces derniers étant localisés périphériquement. De nombreuses projections axoniques partent de ce niveau du NPV pour rejoindre le tractus hypothalamo-neurohypophysaire.

Le NPV caudal, s'étire latéralement et change de forme. Il est composé d'un mélange de neurones VP et OT, mais la concentration de l'immunoréactivité aussi bien VP que OT a nettement diminuée et les neurones sont peu nombreux et très éparpillés (fig. 10 c, d). A ce niveau, certains neurones envoient des projections axoniques vers le noyau périfornical postérieur dont les neurones sont fortement marqués par l'anticorps anti-VP.

2-2-4- Noyaux accessoires

On appelle noyaux accessoires, tous les groupes de neurones immunoréactifs pour la VP et l'OT qui sont localisés en dehors des NSO et des NPV. Comme dans le NSO, seuls des neurones de grande taille (magnocellulaires) sont observés dans ces noyaux. Chez la gerbille, la présence de ces groupes de neurones commence à être détectée dans la zone préoptique. Le noyau préoptique médian ventral comporte des neurones neurosécrétoires immunoréactifs pour la VP et l'OT (fig. 8 g, h). Chez la gerbille, il existe une importante population de neurones VP et OT dispersés dans l'hypothalamus antérieur, limités antérieurement au niveau de l'OVLT et ne dépassent guère, postérieurement le niveau du NPV. (Fig. 8 i, k ; fig. 9 a, b, c, d, e, f). Dans le noyau périfornical antérieur, un groupe de neurones est marqué par l'anticorps anti-VP, alors que le marquage pour l'OT est absent (fig. 9 c,d,e,f). Quelques neurones VP et OT sont dispersés le long du faisceau latéral provenant du

NPV et rejoignant le tractus hypothalamo-neurohypophysaire (fig. 9 c, d). Au niveau du noyau périfornical postérieur, des neurones vasopressinergiques et ocytocinergiques coexistent (fig. 10 c, d, e, f).

2-3- NEUROHYPOPHYSE

Comme chez les autres espèces de mammifères étudiés, la neurohypophyse de gerbille est un organe neuro-glio-vasculaire. Elle comprend deux régions différentes : l'éminence médiane et le lobe nerveux.

2-3-1- L'éminence médiane

Elle constitue la partie proximale de la neurohypophyse qui forme le plancher du 3ème ventricule et qui se prolonge par la tige pituitaire. Elle est formée de deux couches morphologiquement distinctes :

- La zone interne (ZI) est une zone fibreuse proche du 3ème ventricule qui constitue le lieu de transit des axones peptidergiques immunoréactifs à l'anticorps anti-VP (fig.11a) et anti-OT (fig.11b) qui se dirigent vers le lobe nerveux et des axones dopaminergiques et Gabaergiques immunoréactifs à l'anticorps anti-TH (fig.11c) et anti-GAD (fig.11d), qui vont en direction du lobe nerveux et du lobe intermédiaire de l'hypophyse.

- La zone externe (ZE) est une zone superficielle qui diffère de la ZI par son aspect palissadique caractéristique dû à un arrangement de prolongements nerveux et gliaux qui viennent se connecter aux capillaires à endothélium fenêtré du plexus primaire du système porte hypothalamo-hypophysaire. Des terminaisons nerveuses immunoréactives à l'anticorps anti-VP sont présentes à ce niveau (fig. 11 a) mais le marquage à l'anti-OT est pratiquement absent (fig.11b). Des fibres TH immunoréactives et GAD-immunoréactives transitent également par cette zone (fig. 11 c) et (fig. 11 d).

2-3-2- Le lobe nerveux (LN)

2-3-2-1- Microscopie photonique

Comparé au LN de rat dont la vascularisation est formée d'un réseau très fourni de petits capillaires (fig.12b), le LN de gerbille est caractérisé par la présence de vaisseaux de grand diamètre qui lui confèrent une structure très particulière (fig.12a).

Le tissu nerveux, délimité par une lame basale, constitue la masse principale de la glande. Il contient essentiellement des fibres et des terminaisons nerveuses provenant de l'hypothalamus.

Les marquages immunocytochimiques avec les anticorps anti-VP et anti-OT, montrent en microscopie photonique une distribution de l'immunoréactivité VP

relativement homogène sur toute la surface du LN, alors que l'immunoréactivité OT est préférentiellement localisée à la périphérie du LN. Ces marquages présentent une concentration de l'immunoréactivité Vp (fig. 13 a) et OT (fig. 13 b) au contact des espaces péricapillaires plus ou moins dilatés. Cette organisation palissadique autour de grands capillaires, rappelle la structure de la ZE de l'éminence médiane. Des formations arrondies pouvant atteindre plusieurs μm présentant une forte immunoréactivité VP ou OT sont souvent observées dans le LN, plus fréquemment au niveau rostral que caudal. Ce sont des portions dilatées d'axones habituellement appelées corps de Herring (fig. 13 a et b).

La vimentine et la GFAP sont deux marqueurs de la glie. Dans le LN, ils mettent en évidence la présence des pituicytes et leurs prolongements.

Chez la gerbille, l'anticorps anti-vim marque intensément le LN de l'hypophyse. L'immunoréactivité vim est uniformément répartie dans le lobe et caractérise de nombreux prolongements (fig. 13 c).

L'immunoréactivité GFAP du LN de gerbille est plus faible. Elle est essentiellement localisée dans la zone rostrale. Quelques corps cellulaires et des prolongements épais sont fortement marqués (fig. 13 d).

2-3-2-2- Structure en microscopie électronique

Les terminaisons neurosécrétoires présentent une organisation en palissade serrée au contact de la basale nerveuse limitant de larges espaces périvasculaires. Ces terminaisons renferment de nombreux granules neurosécrétoires, de densité variable et des microvésicules de type synaptique. Ces dernières sont mêlées aux granules neurosécrétoires et regroupées en amas polarisés au voisinage de la membrane plasmique qui, au contact de la lame basale, présente un encroûtement caractéristique de la synapse neurohémale (fig. 14 a).

Des axones plus ou moins dilatés, renfermant en général beaucoup moins de granules que les terminaisons périvasculaires occupent la zone interne aux palissades. Dans l'ensemble des axones neurosécrétoires, comme chez le rat, deux types de fibres peuvent être distingués en fonction du diamètre des granules (100 à 200 nm) (fig. 14 b). Des formations granulo-membranaires complexes de type autophagique sont parfois rencontrées, en particulier dans de volumineuses dilatations axonales de type corps de Herring.

Les corps cellulaires des pituicytes sont localisés dans des zones internes et n'envoient que des prolongements au contact de la membrane basale. Ces cellules présentent des caractères ultrastructuraux comparables à ceux du rat, avec cependant une absence notable d'inclusions lipidiques, fréquemment rencontrées chez le rat et la souris.

Les vastes espaces périvasculaires contiennent des cellules présentant les caractères morphologiques de macrophages et de fibroblastes ainsi que des trousseaux de fibrilles de collagènes. Les capillaires présentent un endothélium fenêtré.

2-4- VARIATION DU SYSTEME NEUROSECRETIOIRE HYPOTHALAMO-NEUROHYPOPHYSAIRE EN FONCTION DE L'ETAT D'HYDRATATION

La comparaison de l'immunoréactivité pour la VP et l'OT chez les animaux hydratés et déshydratés montre des différences dans la densité et la distribution du marquage au niveau des neurones magnocellulaires, aussi bien dans les NSO que dans les NPV et les noyaux accessoires ainsi qu'au niveau de la neurohypophyse.

2-4-1- Les neurones magnocellulaires

Chez la gerbille déshydratée, l'immunoréactivité pour la VP et l'OT est très intense dans les neurones magnocellulaires. Elle est caractérisée par une forte densité du marquage dans les corps cellulaires et les prolongements au niveau des NSO (fig. 15 a et b; 18 a), des NPV (fig. 16 a et 18 c), des NPe (fig.16 c) et des noyaux accessoires (fig. 17 a et c; 19 a).

Ce marquage nous permet de distinguer deux types de prolongements ; ceux très chargés de matériel immunoréactif, apparaissent très épais et s'apparentent à des dendrites et d'autres, plus fins et moins fortement marqués, se détachent des noyaux et semblent constituer des axones (fig. 15 d). Les neurones VP et OT révélés par immunocytochimie, n'augmentent pas de taille chez l'animal déshydraté par rapport à l'animal hydraté, mais l'épaississement de leurs dendrites chargés de matériel fortement immunoréactif laisse supposer un développement spatial de ces neurones.

Chez l'animal hydraté, le marquage à l'anticorps anti-VP et anti-OT est positif dans les neurones magnocellulaires des noyaux hypothalamiques tels que les NSO (fig. 15 c et d et 18 b), les NPV (fig. 16 b et 18 d), les NPe (fig. 16 d) et les noyaux accessoires en général (fig. 17 b et d; 19b). Toutefois, l'intensité du marquage est sensiblement plus faible dans les corps cellulaires qui présentent souvent un cœur relativement clair notamment pour la VP au niveau des NSO (fig. 15 c). Les dendrites sont moins chargés en matériel immunoréactif pour la VP et l'OT dans tous les noyaux magnocellulaires et apparaissent nettement moins épais que chez l'animal déshydraté. Les fibres axoniques immunoréactives des NSO en particulier, présentent des varicosités (fig. 15 d).

2-4-2- La neurohypophyse

2-4-2-1- L'éminence médiane

Chez la gerbille, le tractus hypothalamo-neurohypophysaire est immunoréactif à la VP (fig. 20 a et b) et à l'OT (fig. 20 c et d) dans la zone interne de l'EM, quelque soit l'état d'hydratation de l'animal. Toutefois, la densité du marquage est plus forte chez l'animal déshydraté aussi bien pour la VP que pour l'OT. Quelques dilatations d'axones attribuées à des corps de Herring sont immunoréactives à l'anticorps anti-VP (fig. 20 a) et à l'anticorps anti-OT (fig. 20 b).

2-4-2-2- Le lobe nerveux

2-4-2-2-1- Immunocytochimie en microscopie photonique

Chez l'animal déshydraté, le LN montre une forte immunoréactivité avec l'anticorps anti-VP. Le marquage est très étendu et présente une distribution palissadique très épaisse autour des capillaires sanguins. De nombreuses dilatations axonales sont observées ; certaines sont moins fortement marquées que d'autres (fig. 21 a).

L'immunoréactivité OT du LN est également intense, mais moins étendue qu'avec la VP. Le marquage est plutôt périphérique et montre également une distribution palissadique épaisse autour des espaces péricapillaires. De grosses dilatations fortement immunoréactives sont présentes (fig.21 c).

Chez la gerbille hydratée, l'immunoréactivité VP (fig. 21 b) et OT (fig. 21 d) du LN est positive. Toutefois, la densité du marquage est faible et la distribution palissadique du marquage autour des espaces péricapillaires décrite chez l'animal déshydraté n'est pas observée. Le marquage est plutôt diffus et occupe les zones internes aux palissades. Des dilatations nettement moins volumineuses que celles observées dans le LN de gerbille déshydratée sont intensément marquées par l'anticorps anti-VP (fig. 21 b) et anti-OT (fig. 21 d).

L'anticorps anti-vim marque intensément le LN quel que soit l'état d'hydratation de l'animal. Cependant, chez la gerbille déshydratée, l'immunoréactivité caractérise des prolongements courts et épais (fig. 22 a) alors que chez l'animal hydratée, les prolongements immunoréactifs apparaissent plutôt longs et fins (fig. 22 b).

Avec l'anticorps anti-GFAP, de multiples prolongements très épais fortement marqués sont essentiellement concentrés dans la zone rostrale du LN de gerbille hydratée (fig. 22 d), alors que chez la gerbille déshydratée, l'immunoréactivité à la GFAP est nettement atténuée (fig.22 c). Le marquage est porté par de fins et courts prolongements localisés surtout dans la zone rostrale (fig. 22 c).

2-4-2-2-2- Aspect ultrastructural

L'observation en microscopie électronique montre que le LN d'hypophyse de gerbille présente des compartiments sécrétoires riches en granules neurosécrétoires (GNS) quel que soit l'état d'hydratation de l'animal (fig.23 a et b). Toutefois, il faut noter que chez l'animal déshydraté, les GNS sont nettement plus denses et apparaissent plus nombreux (fig. 23 a). Ils sont stockés surtout dans des expansions axonales volumineuses appelées corps de Herring. Les zones palissadiques formées par les terminaisons nerveuses au contact de la basale limitant les espaces périvasculaires, sont plus développées chez l'animal déshydraté (fig. 23 c) que chez l'animal hydraté (fig. 23 d).

Par ailleurs, des corps de Herring riches en lysosomes et contenant de nombreuses formations granulo-membranaires sont plus fréquemment observés dans le LN de gerbille déshydratée (fig. 24 a et c) que dans celui de l'animal hydraté (fig. 24 b et d).

D'autre part, chez la gerbille hydratée, les pituicytes envoient de nombreux prolongements longs et fins qui s'insinuent entre les terminaisons nerveuses les englobant parfois entièrement (fig. 25 b et 26 b). Ces expansions cytoplasmiques des pituicytes s'intercalent souvent entre les terminaisons nerveuses et la lame basale qui sépare le parenchyme de l'espace périvasculaire (fig. 26 b). Par contre, chez l'animal déshydraté, les pituicytes présentent des prolongements cytoplasmiques souvent rétractés (fig.25 a). Les images des expansions cytoplasmiques s'intercalant entre les terminaisons nerveuses sont plus rares alors que ces prolongements sont quasiment absents au niveau des espaces périvasculaires entre la lame basale et les terminaisons nerveuses qui forment des palissades très serrées (fig. 26 b), offrant ainsi un large espace pour l'établissement de synapses neurohémales.

3- DISCUSSION

3-1- Considérations techniques:

Les tests de saturation des anticorps anti-VP et anti-OT utilisés, montrent que leur spécificité n'est pas absolue ; ils ont dû être réalisés chez le rat pour contrôler cette spécificité.

Cependant, l'observation du marquage réalisé chez la gerbille aussi bien dans l'hypothalamus que dans l'hypophyse, plaide fortement en faveur de marquage plus spécifique dans cette espèce. Ainsi, l'immunoréactivité OT est positive dans les noyaux suprachiasmatiques chez le rat, alors qu'elle est négative chez la gerbille.

De plus, la distribution du marquage est différente pour les deux neurohormones dans le système neurosécrétoires hypothalamo-neurohypophysaire. En effet, les

coupes adjacentes d'hypothalamus, montrent clairement une distribution différente des neurones magnocellulaires VP et OT dans les différents noyaux. D'autre part, les marquages effectués avec ces anticorps dans l'hypophyse, révèlent une répartition nettement distincte de l'immunoréactivité VP et OT dans les terminaisons nerveuses.

3-2- Distribution des neurones VP et OT dans l'hypothalamus de gerbille

L'utilisation de la technique immunocytochimique à l'aide d'anticorps anti-VP et anti-OT, nous a permis de décrire pour la première fois la distribution des neurones vasopressinergiques et ocytocinergiques dans l'hypothalamus de gerbille. La mise en évidence de la VP sur une coupe histologique et de l'OT sur la coupe histologique immédiatement voisine a permis d'établir une cartographie de la distribution de ces deux types de neurones dans les noyaux hypothalamiques.

Comme chez les autres mammifères étudiés (Silverman et Zimmerman, 1983), les neurones magnocellulaires à VP et à OT sont répartis principalement dans les deux formations bien délimitées de l'hypothalamus, les NSO et les NPV, mais aussi dans plusieurs régions accessoires. Toutefois, les deux populations de cellules neuropeptidergiques présentent une différence frappante dans leur distribution par rapport à celle décrite habituellement chez les autres mammifères.

3-2-1- Les noyaux supraoptiques (NSO) :

La disposition de ces noyaux est complètement différente de celle du rat. Ils sont en effet, très allongés et s'étendent sur la partie dorso-latérale du chiasma optique, ce qui leur confère une forme et une disposition très caractéristiques des rongeurs désertiques, décrites également chez la gerboise (Lakhdar-Ghazal, 1992) et la mérione (Rabhi et coll., 1993). Chez la gerbille comme chez les autres espèces étudiées, les NSO sont composés exclusivement de neurones magnocellulaires. Contrairement à ce qui a été observé chez d'autres espèces où les corps cellulaires des neurones à OT occupent la partie antéro-dorsale et ceux des neurones à VP la partie postéro-ventrale des NSO (Swaab et coll., 1975; Vandesande et Diericks, 1975; Hou-Yu et coll., 1986; Wu et Shen, 1994), un mélange sans délimitation spatiale précise des deux types de neurones est observé tout le long des NSO chez la gerbille.

Dans la partie antérieure rostrale des NSO, les neurones à VP et à OT coexistent dans des proportions presque équivalentes alors que chez le rat et d'autres mammifères étudiés, seuls des neurones à OT ont été décrits dans cette partie (Swaab et coll., 1975 a et b; Hou-Yu et coll., 1986). Dans la partie

médiane des NSO de gerbille, la surface marquée par l'anticorps anti-VP est nettement plus épaisse et plus étendue que celle marquée par l'anticorps anti-OT, ce qui témoigne d'une prédominance de cellules vasopressinergiques.

L'intense immunoréactivité VP observée dans les NSO chez la gerbille, témoigne de l'abondance des neurones vasopressinergiques. Ceci pourrait être en liaison avec l'importance physiologique particulière des neurones à VP puisqu'il semble que chez le rat le NSO possède une certaine primauté dans la synthèse et la libération de la VP (Scherman et coll., 1986; Reppert et Uhl, 1988).

3-2-2- Les noyaux rétrochiasmatiques (NRCh)

Les noyaux rétrochiasmatiques, souvent considérés comme la partie postérieure des NSO sont particulièrement développés chez la gerbille, où ils se présentent sous forme d'une bande épaisse fortement immunoréactive pour la VP et l'OT, alors que ces noyaux se limitent à une fine couche de neurones chez le rat. Le marquage est cependant plus étendu pour la VP ce qui témoigne d'un nombre plus important de neurones VP. Dans ce noyau, la taille des neurones paraît plus réduite que celle des neurones magnocellulaires des NSO et des NPV et constitue probablement une caractéristique de cette espèce.

3-2-3- Les noyaux paraventriculaires (NPV)

Les NPV sont des structures complexes avec une cytoarchitecture hétérogène dans laquelle des éléments magnocellulaires et parvocellulaires ont été décrit depuis longtemps (Krieg, 1932; Armstrong et coll., 1980). Mais si dans les NPV de rat on observe un regroupement des corps cellulaires des neurones magnocellulaires dans la région la plus latérale et des neurones parvocellulaires dans la région proche du 3^{ème} ventricule, chez la gerbille par contre, les NPV ne sont pas compartimentés. Les neurones parvocellulaires facilement identifiés par leur petite taille, sont dispersés entre les éléments magnocellulaires. La portion magnocellulaire du NPV a été subdivisée par certains auteurs en partie médio-ventrale et en partie dorso-latérale chez différents mammifères étudiés (Defendini et Zimmerman, 1978; Hosoya et Matsushita, 1979). D'autres auteurs le subdivisent en NPV rostral qui correspond au noyau de la commissure antérieure de Peterson (1966) et en NPV caudal qui désigne la division magnocellulaire classique du NPV (Buijs, 1978; Swaab et coll., 1975b; Kiss, 1988).

Chez la gerbille, le NPV semble moins structuré que chez le rat. Il ne présente pas une délimitation apparente entre les éléments magnocellulaires et parvocellulaires. Les neurones parvocellulaires sont faiblement éparpillés entre les neurones magnocellulaires qui sont plus abondants. Cependant, chez la gerbille le

NPV peut être subdivisé en 3 parties: le NPV rostral, le NPV médian, le NPV caudal, en se basant sur l'immunoréactivité VP et OT des structures magnocellulaires qui le composent .

Le NPV rostral:

Cette partie du NPV constituée par le noyau de la commissure antérieure (NCA) de Peterson (1966), est située des deux côtés du 3ème ventricule. Chez le rat, le NCA est séparé du NPV médian par un espace de 100 à 150 μm occupé par des cellules éparses; ce qui a conduit certains auteurs à le classer parmi le groupe des noyaux accessoires (Peterson, 1966). Chez la gerbille, cet espace de séparation entre le NCA et le NPV médian n'est pas observé et l'on peut déduire que le NCA forme réellement la partie rostrale du NPV. D'autre part, il est intéressant de noter que chez la gerbille le NCA est composée d'un mélange de neurones à VP et à OT, alors que chez le rat, il est formé exclusivement de neurones ocytocinergiques (Rhodes et coll., 1981; Hou-Yu et coll., 1986).

Le NPV médian et le NPV caudal:

Dans sa partie médiane, le NPV atteint son développement maximal révélé par la densité du marquage qui met en évidence la présence des deux populations de neurones peptidergiques. Les deux types de neurones dans le NPV médian et caudal ne montrent pas de différence spatiale notable dans leur distribution, contrairement à ce qui a été décrit chez d'autres espèces où, les neurones à VP sont situés dans la partie caudale ventrale du NPV et les neurone à OT dans sa partie rostro-dorsale (Swaab et coll., 1975b ; Vandesande et Dierickx, 1975; Hou-Yu et coll., 1986 ; Wu et Shen, 1994). Chez la gerbille, les neurones à VP et à OT coexistent dans le NPV médian et caudal et sont répartis uniformément tout le long de ces structures avec cependant un nombre plus important de neurones vasopressinergiques. L'étude comparative de la distribution des deux types de cellules neuropeptidergiques chez le rat (Hou-Yu et coll., 1986) fait ressortir au contraire, une prédominance de neurones à OT dans ces structures.

3-2-4- Les noyaux accessoires:

L'hypothalamus de gerbille est caractérisé par la présence de nombreux neurones immunoréactifs pour la VP et l'OT localisés en dehors des NSO et NPV. Ces neurones sont généralement de grande taille et forment de nombreux noyaux accessoires bien développés. Dans ces noyaux, le nombre des neurones VP est nettement plus important que celui des neurones OT, alors que dans l'hypothalamus de rat, ce sont les neurones OT qui prédominent dans la majorité de ces groupes

accessoires (Rhodes et coll., 1981; Armstrong, 1985). Depuis les travaux les plus anciens consacrés à l'étude du système hypothalamo-neurohypophysaire, par des techniques histochimiques classiques, on sait qu'un certain nombre de neurones magnocellulaires peuvent être mis en évidence en dehors des NSO et des NPV des mammifères (Bargmann et coll., 1950). Peterson (1966) propose une nomenclature pour les différents groupes accessoires qu'il décrit chez le rat. La fonction de ces groupes de neurones dispersés n'est pas encore bien claire. Ces neurones montrent une morphologie très hétérogène avec une grande variation de la taille et la forme des corps cellulaires, le nombre et les ramifications des dendrites et la direction que prennent les axones (Sofroniew et Glasmann, 1981). Bien que les NSO et les NPV ont toujours focalisé l'attention et l'intérêt des chercheurs, les groupes accessoires constituent néanmoins, une proportion substantielle de projections vasopressinergiques et ocytocinergiques vers la neurohypophyse très étudiées chez divers rongeurs (Rhodes et coll., 1981; Armstrong, 1985). Toutes ces données ont conduit un certain nombre de travaux à envisager un rôle particulier à chacun de ces groupes accessoires, rôle plus ou moins étroitement intégré à ceux connus des NSO et des NPV. C'est ainsi que Tweedle et Hatton (1976) envisagent un regroupement des osmorégulateurs de Verney dans le noyau circulaire de Peterson.

L'étude immunocytochimique comparative de la distribution des neurones VP et OT dans l'hypothalamus de gerbille, montre d'une part, l'existence des deux populations de cellules neuropeptidergiques dans des zones ne contenant que des neurones à OT chez le rat et d'autre part, une prédominance des neurones VP dans les NSO et les NPV ainsi que dans les nombreux noyaux accessoires. Il est actuellement bien établi que la majorité des fibres à VP et à OT provenant des NSO et des NPV et de certains noyaux accessoires projettent vers la neurohypophyse. En effet, depuis les travaux de Bargmann et Scharrer (1954), l'origine hypothalamique et le rôle de la sécrétion neurohypophysaire ne sont plus contestés et le schéma qui met en œuvre sa synthèse dans l'hypothalamus, son passage par la tige pituitaire et son accumulation dans la neurohypophyse sont bien admis.

L'abondance des neurones vasopressinergiques observés par immunocytochimie, révèle donc l'existence d'un système vasopressinergique particulièrement développé dans les aires hypothalamiques de gerbille, rongeur désertique, et suggère qu'en plus de son rôle périphérique connu dans le maintien de l'équilibre hydrominéral, la vasopressine pourrait également intervenir à d'autres niveaux dans les mécanismes d'adaptation à la vie désertique, à travers des projections centrales. En effet, une étude comparative de la distribution des sites de la VP et de l'OT, dans le système nerveux central de la mérione, une autre espèce

de rongeur désertique, a révélé l'existence de nombreux sites VP dans plusieurs parties du SNC qui seraient modulés dans certaines régions par la déshydratation (Rabhi, 1995).

3-3- Structure du LN

Mis à part sa vascularisation formée de vaisseaux de grand diamètre qui lui confère un aspect caractéristique, le LN ne diffère pas sur le plan structural de celui des autres espèces étudiées (Morris, 1976b ; Tweedle, 1983 ; Nordmann, 1983). Le tissu nerveux de ce lobe, délimité par une lame basale, est composé d'axones non dilatés, de terminaisons nerveuses (TN) et de dilatations axonales.

Les axones non dilatés assureraient comme chez le rat, le transport de type rapide du matériel de neurosécrétion (Swann et Pickering, 1976). Les microtubules qu'ils contiennent, seraient impliqués dans la fonction de transport (Muller et coll., 1987).

Chez la gerbille, les TN contiennent de nombreuses microvésicules regroupées en amas. Le rôle de ces microvésicules n'est pas encore bien élucidé. Néanmoins, Stoeckel et coll. (1975), utilisant la technique de précipitation par le pyroantimonate, ont suggéré qu'elles contiennent une forte concentration de calcium ionisable. D'autres auteurs leur attribuent un rôle dans la recapture à haute affinité du Ca^{++} (Nordmann et Chevallier, 1980 ; Shaw et Morris, 1980), mais aussi une régulation et un recyclage des récepteurs de surface (Johnston et coll., 1989). Les TN sont en contact direct avec les vaisseaux sanguins. Ceci suggère qu'elles seraient le site actif principal de la sécrétion hormonale (Morris et coll., 1987).

Le fait que les dilatations axonales sont plus chargées en grains de neurosécrétion que les TN, qu'elles aient une teneur en lysosomes relativement élevée et qu'elles soient situés loin des espaces péricapillaires est en faveur de l'hypothèse générale qui considère ce compartiment comme un lieu de stockage et de dégradation des hormones âgées (Nordmann et Labouesse, 1980). Il faut noter cependant, que les dilatations axonales peuvent être le siège d'une libération hormonale même si elles ne sont pas en contact avec la membrane basale (Nordmann et coll., 1988; Morris et Pow, 1988; Tweedle et coll., 1988).

Chez la gerbille, les pituicytes, cellules gliales spécifiques du LN (Salm et coll., 1982), sont comme chez le rat, morphologiquement faciles à identifier par leur forme étoilée et leurs prolongements cellulaires qui s'intercalent entre les composantes neurosécrétrices, entourent les TN et remplissent les espaces entre les axones. Toutefois, les inclusions lipidiques fréquemment observées dans les pituicytes de rat (Wittkowski, 1986) et de gerboise (Raji, 1994), sont quasiment absentes dans le LN de gerbille.

3-4- Effet de l'hydratation et de la déshydratation sur le système hypothalamo-neurohypophysaire:

3-4-1- Les neurones magnocellulaires:

La comparaison de l'immunoréactivité VP et OT observée dans les neurones des différents noyaux hypothalamiques chez les animaux hydratés et déshydratés, montre une différence dans l'intensité du marquage. Chez la gerbille déshydratée, le marquage est très dense dans les corps cellulaires et les dendrites qui montrent une véritable accumulation de matériel immunoréactif aussi bien pour la VP que pour l'OT. Les neurones magnocellulaires montrent un épaississement remarquable des dendrites. Ces observations témoignent d'une modification morphologique traduite par un développement spatial de ces neurones. Au contraire, chez l'animal hydraté, la densité du marquage diminue relativement dans les corps cellulaires et les prolongements nerveux correspondant aux dendrites qui apparaissent nettement plus fins. Cette diminution est beaucoup plus remarquable dans les neurones VP.

La variation détectable du contenu hormonal des neurones traduit sans doute une modification fonctionnelle qui dépend de l'équilibre synthèse-transport et/ou libération. L'accumulation du matériel immunoréactif dans le corps cellulaire et les dendrites chez l'animal déshydraté, peut signifier une augmentation de la synthèse qui dépasse la capacité de transport comme elle peut signifier aussi un ralentissement de la sécrétion d'où accumulation du matériel neurosécrétoire.

Depuis les travaux de Verney (1947) qui ont démontré très tôt, l'importance de la stimulation osmotique dans la régulation de la sécrétion de la VP, le changement de l'osmolarité constitue le stimulus de choix dans l'étude de la réponse hypothalamique. La déshydratation et l'hydratation sont deux situations physiologiques connues pour modifier aussi bien la sécrétion des neurohormones que leur biosynthèse (Gainer et coll., 1977; Hans et coll., 1986). En effet, Les données basées sur les observations morphologiques chez le rat, considèrent les effets de la stimulation osmotique sur la plasticité de l'axe hypothalamo-neurohypophysaire comme une preuve de l'augmentation de son activité fonctionnelle (Tweedle et Hatton, 1977 ; Modney et coll., 1988; Luchman et Bicknell, 1990; Beay et coll., 1992; Marzban et coll., 1992; Rabhi, 1993).

D'autres travaux ont rapporté l'action de cette stimulation sur l'expression génétique des deux neurohormones hypothalamiques. Dans la plupart des cas, les ARNm de la VP et de l'OT mais aussi d'autres neuropeptides sont augmentés après stimulation dans les noyaux hypothalamiques (Majzoub et coll., 1983 ; Burbach et coll., 1984; Sherman et coll., 1986; Zingg et coll., 1986; Van Tol et coll.,

1987; Hyodo et coll., 1989; Meister et coll., 1990; Burbach et Wiegant, 1990; Meister et coll., 1990; Arnould et coll., 1993; Day et Yao, 1995). Des études antérieures de l'axe hypothalamo-neurohypophysaire, réalisées chez deux espèces de rongeurs désertiques, en l'occurrence, la gerboise et la mérione, présentent deux résultats différents. Chez la gerboise, l'examen de l'état de la biosynthèse dans les noyaux hypothalamiques ne montre pas de différence importante dans le contenu en ARNm de la VP entre l'animal déshydraté et le témoin (Raji, 1994). Au contraire, chez la mérione, la déshydratation provoque une augmentation de la concentration de VP dans les noyaux hypothalamiques et une augmentation importante des ARNm de la VP et de l'OT dans ces noyaux magnocellulaires (Rabhi, 1995). La mérione semble se rapprocher d'avantage du rat, où la déshydratation induit une augmentation des ARNm de la VP et de l'OT dans les noyaux magnocellulaires. La différence dans l'intensité du marquage de la VP et de l'OT observée dans les neurones des différents noyaux hypothalamiques de gerbille témoigne de l'existence de deux effets différents selon que l'animal est hydraté ou déshydraté. Ces effets sont traduits d'une part, par une forte densité du matériel immunoréactif dans les neurones magnocellulaires des noyaux hypothalamiques, avec un épaissement remarquable des dendrites chez l'animal déshydraté, et d'autre part, par la réduction significative du marquage dans ces neurones immunoréactifs à la VP et à l'OT chez l'animal hydraté. L'accumulation importante du matériel VP-immunoréactif et OT-immunoréactif dans les neurones magnocellulaires de l'hypothalamus de gerbille après trois mois de déshydratation, pourrait refléter une augmentation soutenue de la synthèse des neurohormones qui se maintient pendant une longue période de restriction hydrique. Cependant, l'hydratation engendre une diminution de la densité du marquage qui serait probablement due à une baisse de la synthèse hormonale. Chez la mérione déshydratée, le contenu en VP décelable par immunocytochimie est nettement augmenté dans les neurones supraoptiques et paraventriculaires. Cette augmentation se maintient après un mois et plus de déshydratation (Rabhi, 1995), alors que chez le rat, les niveaux de VP mais aussi d'OT, baissent dans les noyaux après quelques jours de déshydratation (George, 1976) et de surcharge saline (Dellmann et coll., 1988). Par ailleurs, Dellmann et coll. (1988) ont observé une accumulation à des stades tardifs de déshydratation, de matériel VP-immunoréactif et OT-immunoréactif dans les dendrites des neurones magnocellulaires des NSO et des NPV chez les rats qui survivent à une déshydratation par surcharge saline pendant une longue période. Nos observations ayant été réalisées sur des animaux après une longue période de privation d'eau (3 mois), il est intéressant de constater que les neurones magnocellulaires manifestent les mêmes signes que ceux observés chez les rats qui survivent à une surcharge

saline, c'est à dire, une accumulation de matériel VP immunoréactif et OT immunoréactif dans les dendrites. La gerbille, rongeur désertique, est capable de survivre de très longues périodes sans absorber d'eau libre. Elle a certainement développé des mécanismes adaptatifs qui l'accommodent à cette privation d'eau prolongée. Le marquage des neuropeptides particulièrement dense dans les péricaryons et les dendrites des noyaux hypothalamiques chez la gerbille déshydratée, peut être considéré comme l'expression d'un état physiologique probablement lié à cette capacité d'adaptation, qui pourrait permettre à l'animal de faire face à tout moment à une demande hormonale accrue conditionnée par les aléas d'un milieu peu favorable à la vie. La différence des marquages immunocytochimiques concerne aussi bien les neurones à VP que les neurone à OT, ce qui suggère que les neurones à OT comme ceux à VP sont impliqués dans des réponses physiologiques liées à l'état d'hydratation de l'organisme et que l'OT pourrait jouer un rôle non négligeable dans les mécanismes de la régulation de l'équilibre hydrominéral chez la gerbille. Chez le rat, les neurones OT aussi bien que les neurones VP, sont activés au cours de la deshydratation chronique (Wakerley et coll., 1978). Les taux d'ARNm OT et des peptides OT posthypophysaires sont également augmentés au cours de l'hyperosmolarité chez le rat (Majzoub et coll., 1983 ; Burbach et coll., 1984; Sherman et coll., 1986; Kiss et Mezey ; 1986; Young et coll. ; 1987 ; Van Tol et coll., 1987). L'augmentation de l'ARNm OT comme celle de l'ARNm VP, consécutives à une stimulation osmotique est accompagnée par une activation de facteur de la transcription tel que le cfos, témoin habituel de l'activité neuronale (Sharp et coll., 1991 ; Giovannelli et coll., 1990 ; Fenelon et coll., 1993).

3-4-2- Lobe nerveux (LN)

L'analyse immunocytochimique du LN de gerbille après trois mois de déshydratation, montre une forte concentration de l'immunoréactivité VP et OT, notamment au niveau des TN qui forment des palissades serrées autour des espaces péricapillaires, alors que chez les animaux hydratés, la densité du marquage a nettement diminué mais reste assez significative. Ces observations laissent supposer que le contenu hormonal du LN de gerbille reste élevé pendant la déshydratation et serait même augmenté par rapport à celui de l'animal hydraté. Une étude réalisée chez une autre espèce de rongeur désertique, *Meriones unguiculatus*, a aussi montré que la déshydratation par privation d'eau n'affecte que très peu le stock de VP neurohypophysaire (Buchanan et Stewart, 1974). Les travaux effectués chez la gerboise (*Jaculus orientalis*) ont également révélé que le contenu neuropeptidergique du LN de l'hypophyse chez l'animal déshydraté reste

élevé et comparable à celui de l'animal témoin, alors que la déshydratation provoque une augmentation spectaculaire de la concentration de la VP circulante (Baddouri, 1984 ; Raji, 1994 ; Raji et Nordmann, 1994). Chez la gerbille déshydratée par contre, la réserve hormonale semble avoir augmenté, au vu de la concentration du marquage observé dans le LN. Au contraire, chez le rat, la déshydratation pendant quelques jours provoque une chute de la concentration tissulaire de VP et d'OT (Jones et Pickering, 1969; Meister et coll., 1990), alors que leur taux plasmatique augmente (Balment et coll., 1980; Zerbe et Palkovits, 1984). Une étude immunocytochimique effectuée chez le rat soumis à une surcharge saline (Dellmann et coll., 1988) a montré que le LN présente une déplétion hormonale qui concerne aussi bien la VP que l'OT, pendant la première semaine de déshydratation puis se charge progressivement en matériel immunoréactif pour la VP et l'OT à des stades tardifs suggérant ainsi que les animaux qui ont survécu à la déshydratation pendant de longues périodes, ont probablement développé des mécanismes d'adaptation à la surcharge saline. Dans le LN de la mérione (*Meriones shawi*), la déplétion hormonale est également considérable après un mois de déshydratation, par contre, le taux de VP plasmatique varie très peu par rapport au témoin qui possède au départ, un taux plasmatique de VP nettement plus élevé que celui du rat (Rabhi, 1995). Cette sensibilité du système neurosécrétoire hypothalamique de la mérione à la déshydratation est comparable à la réaction obtenue chez le rat déshydraté (Jones et Pickering, 1969; Meister et coll., 1990), mais contraste avec nos observations sur la gerbille et ceux rapportés chez les autres rongeurs désertiques étudiés. Il est probable qu'elle soit liée aux conditions d'élevage des animaux qui ont servi à cette étude. En effet, les mériones utilisées, proviennent d'élevages sur plusieurs générations dans les mêmes conditions que les rats de laboratoire. Ce sont donc des animaux qui ont développé une certaine dépendance vis à vis de l'eau de boisson, et une déshydratation par privation d'eau affecte significativement l'activité de leur axe hypothalamo-neurohypophysaire et provoque comme chez le rat, sa stimulation. Cependant, chez la mérione le système hypothalamo-neurohypophysaire reste actif durant des périodes de déshydratation plus longue que chez le rat (Rabhi, 1995).

Des travaux antérieurs réalisés sur deux espèces de rongeurs désertiques (*Jaculus orientalis* et *Jaculus deserti*), ont révélé que la concentration plasmatique de VP est remarquablement élevée chez ces espèces. Elle est 200 fois supérieure à celle du rat en régime libre et 20 fois plus importante que celle du rat privé d'eau de boisson pendant 48 h (Baddouri et coll., 1981). Des concentrations de VP du même ordre ont été mesurées chez d'autres espèces désertiques telles que *Meriones crassus* (Baddouri et coll., 1991) et *Gerbillus campestris* (Laamarti et

coll., 1991). Une étude plus ancienne effectuée sur *Gerbillus gerbillus*, espèce désertique, sympatrique de *Gerbillus pyramidum*, notre modèle d'étude, a montré que le taux de VP plasmatique était plus élevé chez cet animal en période chaude (période d'été) et chez la gerbille soumise à un régime déshydraté que chez l'animal en période d'hiver ou soumis à un régime alimentaire hydraté (El-Husseini et Haggag, 1974). Ainsi, un taux de VP plasmatique très élevé caractérise donc la plupart des rongeurs désertiques. Cette augmentation du taux de VP plasmatique chez ces espèces, ne peut que favoriser une économie d'eau nécessaire à leur survie dans des conditions extrêmes de leur biotope car, la VP par son action sur le tube collecteur du néphron, permet d'augmenter très significativement la réabsorption d'eau et donc de réduire le débit urinaire (De Rouffignac et Morel, 1965 ; Baddouri et coll., 1984 ; De Rouffignac et Bankir, 1990). En effet, il a été rapporté que les rongeurs désertiques sont dotés d'un pouvoir extraordinaire de concentration urinaire ce qui leur permet une excrétion importante de produits du métabolisme sous un faible volume d'eau (Schmidt-Nielsen et Schmidt-Nielsen, 1961 ; Schmidt-Nielsen et Odell, 1961; La concentration préférentielle du marquage immunocytochimique autour des espaces péricapillaires chez la gerbille déshydratée suggère une sécrétion hormonale importante. Toutefois, cette hypothèse reste à confirmer par des dosages radioimmunologiques des taux de la VP et de l'OT dans le plasma et dans le LN, dans nos conditions expérimentales.

D'autre part, le LN présente une variation de l'immunoréactivité à la vimentine et à la GFAP selon que l'animal est hydraté ou déshydraté. En effet, chez l'animal hydraté, les prolongements immunoréactifs à la vimentine sont longs et fins alors que chez la gerbille déshydratée, ils apparaissent relativement courts et épais. Avec l'anticorps anti-GFAP, le marquage intense de prolongements plus ou moins longs et épais chez la gerbille hydratée s'atténue nettement dans le LN de gerbille déshydratée et caractérise de courts et fins prolongements. Ces variations de l'immunoréactivité à la vimentine et à la GFAP du LN de gerbille pourraient être liés à une modification morphologique et fonctionnelle des pituicytes induite par l'état d'hydratation ou de déshydratation de l'animal et plaident en faveur d'un rôle physiologique des pituicytes dans la modulation de la neurosécrétion chez la gerbille.

L'organisation ultrastructurale de base du LN de gerbille est comparable à celle du rat. Cependant, leurs réponses respectives à la déshydratation qui constitue un stimulus osmotique, laisse penser à l'existence de deux systèmes de régulation nettement différents dans les deux espèces. Chez la gerbille, l'examen au microscope électronique à transmission du LN, montre des compartiments sécrétoires riches en grains neurosécrétoires (GNS) dans les deux conditions d'hydratation. Toutefois, lors de la déshydratation, l'effectif des GNS dans les TN

paraît plus élevé que dans les conditions d'hydratation. Ces observations ultrastructurales semblent confirmer les résultats immunocytochimiques qui montrent une immunoractivité VP et OT nettement plus dense chez l'animal déshydraté. Chez le rat par contre, le stimulus osmotique provoque une forte décharge hormonale et donne une image de vidange, en l'occurrence, une forte diminution du nombre de GNS dans les compartiments neurosécrétoires (Palay, 1957; Nordmann et Morris, 1976; Nordmann, 1985). En revanche, l'étude morphométrique effectuée chez la gerboise, rongeur semi-désertique, a montré une constance des GNS dans le LN, ce qui témoigne d'une stabilité du contenu hormonal de la glande quelles que soient les conditions d'hydratation de l'organisme (Raji, 1994). La forte densité des GNS observée dans le LN de gerbille déshydratée atteste de la présence d'un stock hormonal plutôt important. L'organisation des TN en palissade serrées autour de la lame basale péricapillaire fréquemment observée chez l'animal déshydraté pourrait constituer un indice d'une éventuelle stimulation de l'activité sécrétoire du LN. De plus, la présence de vaisseaux sanguins de grand diamètre dans le LN nerveux de gerbille lui confère une structure très caractéristique. Cette structure pourrait favoriser une irrigation sanguine intense.

Le maintien d'une réserve hormonale élevée dans le LN alors que la demande hormonale est accrue peut être expliquée par une augmentation de la synthèse des neuropeptides qui alimentent de façon continue en matériel neurosécrétoire nouvellement synthétisé, les compartiments sécrétoires afin de compenser la sécrétion pendant de longues périodes de déshydratation.

Chez la gerbille déshydratée, nous avons observé par ailleurs une tendance à l'augmentation du nombre de lysosomes secondaires dans de nombreuses dilatations axonales ou corps de Herring. Il est tentant de penser qu'au cours de la déshydratation, il se produit une activation enzymatique, ce qui conduirait à une dégradation massive des GNS âgés. Ceci ménagerait ainsi un espace libre dans les dilatations axonales, qui deviendraient aptes à recevoir des GNS nouvellement synthétisés permettant ainsi leur transformation en TN. Dans cette hypothèse, le signal initiant la digestion des GNS âgés, souvent cité comme d'origine endogène dû à un processus chimique de vieillissement intragranulaire observé dans les conditions normales (Dellmann et Rodriguez, 1970; Rufener, 1970), peut avoir en plus un promoteur exogène lié à l'état de stimulation de la glande qui, par un mécanisme inconnu, amorcerait le processus de dégradation des granules âgés. La libération hormonale serait le seul fait des granules jeunes (Nordmann et Labouesse, 1981; Nordmann, 1982; Nordmann et coll., 1984)

D'autre part, il est intéressant de noter que chez la gerbille hydratée, des images de pituicytes entourant et englobant des terminaisons nerveuses, sont

fréquemment observées dans le LN. De plus des prolongements de pituicytes s'intercalent souvent entre les terminaisons synaptiques et la lame basale péricapillaire réduisant ainsi les contacts entre la membrane neuronale et la lame basale. Par contre, chez la gerbille en privation d'eau, le déploiement des prolongements cytoplasmiques pituicytaires entre les TN est très réduit ; ces expansions sont pratiquement absentes entre les terminaisons synaptiques et la lame basale périvasculaire, ce qui leur permet d'avoir une plus grande surface de contact avec la lame basale et favorise probablement une sécrétion hormonale importante. Les modifications de la distribution du marquage de la Vim et de la GFAP dans le LN liées à l'état d'hydratation et de déshydratation de la gerbille sont certainement en étroite relation avec ces mouvements des prolongements des pituicytes. Des observations similaires ont déjà été rapportées chez le rat après déshydratation par privation d'eau (Tweedle et Hatton, 1980) et in vitro par modification de la pression osmotique (Perlmutter et coll., 1984). Des modifications dépendant de l'état fonctionnel du LN apparaissent au niveau des contacts entre les pituicytes et les fibres suggérant une participation des pituicytes dans la fonction sécrétrice des TN des neurones magnocellulaires. Bien que la fonction des pituicytes dans la régulation de la sécrétion hormonale soit encore mal connue, il semble qu'ils jouent un rôle important dans le contrôle de l'environnement chimique des TN. En ce sens, plusieurs hypothèses ont été suggérées pour tenter d'expliquer ce rôle. Le déploiement des prolongements cytoplasmiques pourrait réduire ou augmenter les contacts TN-compartiment vasculaire. Ces changements morphologiques constituent l'une des modalités les mieux connues qui permet de faciliter ou d'entraver la sécrétion hormonale selon le besoin hormonal de l'animal (Bicknell et coll., 1989).

CONCLUSION GENERALE et PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE et PERSPECTIVES

L'étude du lobe intermédiaire de l'hypophyse et du système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire en microscopie électronique et par immunocytochimie est réalisée pour la première fois chez la gerbille (*Gerbillus pyramidum*), rongeur désertique, dans des conditions d'hydratation et de déshydratation.

L'ensemble des données rapportées et discutées dans ce travail permet de dégager les faits suivants :

I - Le lobe intermédiaire de l'hypophyse :

1- Structure :

Bien que ses caractères morphologiques soient dans l'ensemble comparables à ceux décrits chez d'autres rongeurs, le LI de l'hypophyse de gerbille présente, des caractéristiques particulières très intéressantes, telles que :

- l'existence de cellules glandulaires de type corticotrope, morphologiquement comparables à celles du lobe antérieur mais très différentes des cellules corticotropes décrites chez les autres espèces de mammifères. Les granules sécrétoires que contiennent ces cellules sont de grande taille (250 - 350 nm) et de forme irrégulière, répartis dans tout le cytoplasme. Chez le rat et la souris les cellules de type corticotrope sont caractérisées par des grains de sécrétion de plus petit diamètre (150 à 200 nm) et répartis marginalement le long de la membrane cytoplasmique (Stoeckel et coll., 1971). Contrairement aux cellules corticotropes du LA qui sont soumis à un contrôle purement humoral, dans le

LI ces cellules sont sous contrôle nerveux comme les cellules mélanotropes. L'absence de modifications morphologiques au niveau des cellules de type corticotrope du LI de gerbille dans les différentes conditions physiologiques examinées, suggère que ces cellules jouent un rôle distinct de celui des cellules mélanotropes.

- la présence dans les cellules folliculostellaires (CFS) de granules de grande taille, très denses aux électrons et localisés apicalement, suggère l'implication de ces cellules dans certains processus sécrétoires polarisés vers la lumière des follicules. L'immunocytochimie montre quelques corps cellulaires de CFS et de nombreux prolongements marqués par les anticorps anti-vimentine et anti-GFAP. L'intensité et la distribution de ces marquages varient selon l'état d'hydratation ou de déshydratation de l'animal, suggérant l'existence d'une relation fonctionnelle entre les CFS et l'activité sécrétoire des cellules mélanotropes.

- L'innervation du LI de l'hypophyse de gerbille est nettement plus abondante que celle du LI du rat et de la souris observée dans les mêmes conditions techniques. La distribution similaire des immunoréactivités TH et GABA chez la gerbille suggère fortement la colocalisation du GABA et de la dopamine, déjà rapportée chez d'autres mammifères (Vuillez et coll., 1987 ; Schimchowitsch et coll., 1991).

2- Implications fonctionnelles :

Le LI de l'hypophyse de gerbille présente clairement des modifications immunocytochimiques et ultrastructurales des cellules mélanotropes et des CFS liées d'une part, à des variations saisonnières et d'autre part, à des conditions expérimentales d'hydratation et de déshydratation des animaux, alors que les cellules de type corticotrope ne sont pas affectées. Au vu des variations saisonnières de leur morphologie, les cellules mélanotropes seraient manifestement

très actives en hiver et présentent un état de repos relatif en été, caractérisé par un stockage important de vésicules sécrétoires matures. Les modifications ultrastructurales saisonnières du LI de gerbille semblent étroitement liées aux variations hygrométriques dans le biotope naturel de l'animal, puisque la déshydratation expérimentale ralentit également l'activité sécrétoire des cellules mélanotropes du LI chez la gerbille, alors que l'hydratation provoque une stimulation. Nos observations ultrastructurales et immunocytochimiques suggèrent une implication fonctionnelle des cellules mélanotropes dans la régulation de l'équilibre hydrominéral chez la gerbille. Les mécanismes par lesquels cette glande exerce ses effets restent à élucider. Il est évident que la compréhension du rôle du LI de l'hypophyse dans la régulation de l'équilibre hydrominéral, nécessite l'acquisition de données précises sur le mode d'action des différents peptides libérés par la glande et la détermination de leurs cellules cibles.

II - Le système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire

1- Distribution des neurones VP et OT dans les noyaux hypothalamiques

Chez la gerbille, les deux populations de cellules neuropeptidergiques présentent une différence dans leur distribution spatiale au niveau des noyaux hypothalamiques par rapport à celle décrite habituellement chez les autres mammifères.

Dans la partie antérieure rostrale du noyau supraoptique les neurones VP et OT coexistent alors que chez le rat et d'autres mammifères étudiés, seuls des neurones à OT ont été décrits dans cette partie du NSO (Swaab et coll., 1975 ; Hou-Yu et coll., 1986). Dans la partie médiane du NSO de gerbille, l'immunoréactivité VP est nettement plus dense et plus étendue que

l'immunoréactivité OT, ce qui témoigne d'une prédominance de cellules vasopressinergiques. Très allongé, le NSO s'étend sur la partie dorso-latérale du chiasma optique et prend ainsi une forme et une disposition très caractéristiques des rongeurs désertiques. Le noyau rétrochiasmatique est particulièrement bien développé chez la gerbille.

Les noyaux rétrochiasmatiques, sont particulièrement développés chez la gerbille, où ils se présentent sous forme d'une bande épaisse fortement immunoréactive pour la VP et l'OT. Dans ces noyaux, la taille des neurones paraît plus réduite que celle des neurones magnocellulaires des NSO et des NPV et constitue probablement une caractéristique de cette espèce.

Chez la gerbille le NPV peut être subdivisé en 3 parties : le NPV rostral, le NPV médian, le NPV caudal.

Le NPV rostral, constitué par le noyau de la commissure antérieure de Peterson (1966), est composée d'un mélange de neurones VP et OT, alors que chez le rat, il est formé exclusivement de neurones ocytocinergiques (Rhodes et coll., 1981 ; Hou-Yu et coll., 1986).

Dans le NPV médian et caudal les neurones VP et OT coexistent et ne montrent pas de différence spatiale notable dans leur distribution. Ils sont répartis uniformément tout le long de ces structures avec cependant un nombre plus important de neurones vasopressinergiques.

L'hypothalamus de gerbille est aussi caractérisé par la présence de nombreux neurones immunoréactifs pour la VP et l'OT localisés en dehors des NSO et NPV. Ces neurones dispersés ou regroupés en noyaux accessoires bien développés, sont nettement plus nombreux que chez le rat. Dans ces noyaux, les neurones VP sont plus abondants que les neurones OT, alors que chez le rat, ce sont les neurones OT qui prédominent dans la plupart de ces noyaux accessoires.

L'étude comparative de la distribution des neurones VP et OT révèle donc l'existence des deux types de populations neuronales dans des noyaux ne contenant que des neurones à OT chez le rat et d'autres espèces étudiées (Swaab et coll., 1975b ; Vandesande et Dierickx, 1975 ; Hou-Yu et coll., 1986 ; Wu et Shen, 1994). Elle montre également une nette prédominance des neurones VP aussi bien dans les NSO et les NPV que dans les nombreux noyaux accessoires décrits. L'abondance des neurones magnocellulaires VP dans l'hypothalamus de gerbille témoigne de l'importance du rôle de la vasopressine dans le maintien de l'équilibre hydrique chez cet animal pendant les longues périodes de déshydratation et suggère que cette hormone pourrait également intervenir à d'autres niveaux de régulation dans les mécanismes d'adaptation à la vie désertique à travers des projections centrales.

2- Effet de la déshydratation et de l'hydratation sur le système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire

Les résultats immunocytochimiques obtenus chez la gerbille dans des conditions d'hydratation et de déshydratation montrent une différence dans l'intensité du marquage concernant aussi bien la VP que l'OT dans les neurones des différents noyaux hypothalamiques et les terminaisons nerveuses au niveau de LN de l'hypophyse. Ces différences de marquage immunocytochimique pour la VP et pour l'OT observés aussi bien au niveau des noyaux hypothalamiques qu'au niveau du LN de l'hypophyse démontrent les effets du régime alimentaire hydraté ou déshydraté sur le système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire de la gerbille. Ces effets sont exprimés par une forte densité de l'immunoréactivité VP et OT dans les neurones hypothalamiques et au niveau du LN de l'hypophyse de

l'animal déshydraté et une diminution significative de l'immunoréactivité VP et OT dans ces mêmes structures chez la gerbille hydratée. Chez la mérione, une autre espèce désertique, la déshydratation provoque également une augmentation de la concentration de la VP dans les noyaux hypothalamiques qui reste importante après un mois et plus de déshydratation (Rabhi, 1995), alors que chez le rat les niveaux de VP mais aussi de OT diminuent dans les noyaux hypothalamiques après seulement quelques jours de déshydratation (George, 1976).

L'accumulation importante de matériel immunoréactif à l'anticorps anti-VP et anti-OT dans les neurones magnocellulaires de gerbille déshydratée serait probablement le résultat d'une augmentation de la synthèse des neurohormones qui se maintient pendant une longue période de déshydratation. Néanmoins, pour confirmer cette hypothèse, une analyse quantitative de l'activité de synthèse est nécessaire. Il conviendrait donc d'effectuer des expériences d'hybridation in situ en procédant à une quantification du signal.

La forte concentration de l'immunoréactivité VP et OT dans le LN de l'hypophyse de gerbille déshydratée, suggère que le contenu neuropeptidergique du LN est augmenté par rapport à l'animal hydraté. Comparées aux résultats obtenus chez le rat (Jones et Pickering, 1969; Dellmann et coll., 1988; Meister et coll., 1990) et la mérione (Rabhi, 1995) qui montrent une déplétion importante du LN suite à une déshydratation, nos observations seraient en faveur d'une certaine insensibilité du LN de la gerbille vis à vis du stimulus osmotique. Toutefois, le maintien d'une réserve hormonale du LN à un niveau élevé, alors que la demande hormonale est accrue, suggère plutôt, l'existence d'une compensation systématique du processus de libération hormonale, qui serait supplantée par une potentialisation de la synthèse ou / et du transport des neuropeptides hypothalamiques. D'autant

plus, que les neurones hypothalamiques présentent une forte immunoréactivité VP et OT chez l'animal déshydraté, qui plaide en faveur d'une synthèse hormonale importante.

L'analyse ultrastructurale du LN de gerbille, chez les animaux hydratés et déshydratés, montre des compartiments sécrétoires riches en grains neurosécrétoires (GNS) dans les deux conditions expérimentales. Toutefois, la densité des GNS dans les TN paraît plus élevée dans le LN de gerbille déshydratée, ce qui conforte les résultats immunocytochimiques obtenus montrant une forte immunoréactivité VP et OT dans ce LN.

L'organisation des TN en palissades serrées autour de la lame basale péricapillaire, fréquemment observée chez l'animal déshydraté, offre une disposition favorable à une activité sécrétoire importante. L'aspect caractéristique de la vascularisation du LN chez la gerbille, caractérisée par la présence de vaisseaux de grand diamètre, témoigne d'une irrigation abondante et par conséquent d'échanges plus intenses.

Par ailleurs, une augmentation des figures lysosomales secondaires est observée dans de nombreuses dilatations axonales ou corps de Herring dans le LN de gerbille déshydratée, ce qui pourrait refléter un processus de dégradation régulateur faisant suite à une hyperproduction. Ceci laisse soupçonner quelques différences dans l'activité du métabolisme neurohormonal, selon que l'animal est hydraté ou déshydraté. Une étude comparative à ce sujet peut se révéler intéressante chez cette espèce.

D'autre part, des modifications morphologiques des pituicytes selon l'état d'hydratation de l'organisme, ont été observées dans le LN de gerbille. En effet, chez l'animal hydraté, les pituicytes déploient de nombreux prolongements

cytoplasmiques qui s'intercalent entre les TN, les englobant souvent. De plus, une large surface de la lame basale est souvent recouverte par les prolongements pituicytaires dans ces conditions. Alors que chez la gerbille déshydratée, on observe un retrait remarquable des prolongements de pituicytes, libérant ainsi de plus grandes surfaces de contacts entre les TN et la lame basale. Si on se réfère aux nombreuses études qui tendent à prouver une implication des pituicytes dans la régulation locale de la neurosécrétion (Bicknell et coll., 1989 ; Beagley et Hatton, 1992), on pourrait trouver dans cette observation, un indice morphologique d'une régulation de la sécrétion hormonale chez la gerbille.

Ainsi une régulation locale pourrait être assurée par cette plasticité des pituicytes au niveau du système hypothalamo-neurohypophysaire comme le laissent supposer les modifications des pituicytes et l'abondance des figures lysosomales dans le LN de gerbille déshydratée. Une étude approfondie de ces modifications peut s'avérer extrêmement intéressante. Cette étude peut être abordée par une analyse morphométrique portant d'une part, sur le processus d'autophagie dans les terminaisons nerveuses et d'autre part, sur les modifications des pituicytes (volume, plasticité, organites cellulaires, surfaces de contacts).

Il ressort de cette étude que *Gerbillus pyramidum* présente un système magnocellulaire vasopressinergique particulièrement développé dans les aires hypothalamiques. Les résultats de l'analyse immunocytochimique et ultrastructurale du LN, plaident en faveur de la capacité de la gerbille à maintenir un stock neurohypophysaire relativement élevé de VP mais aussi d'OT, pendant une longue durée de restriction hydrique, impliquant sans doute un taux de biosynthèse hormonale hypothalamique important compensant ainsi systématiquement le processus de sécrétion. Il pourrait s'agir là d'une adaptation du système

hypothalamo-neurohypophysaire de la gerbille à une stimulation osmotique chronique liée à la pénurie en eau qui sévit dans les biotopes désertiques sur de longues périodes de l'année.

La gerbille offre ainsi, un modèle de régulation de l'axe hypothalamo-neurohypophysaire très intéressant. En effet, ce modèle déploie une stratégie de régulation différente de celle habituellement décrite dans l'axe hypothalamo-neurohypophysaire des espèces vivant dans les régions tempérées.

Pour mieux comprendre les modifications morphofonctionnelles liées à l'état d'hydratation de l'animal, dans les neurones magnocellulaires hypothalamiques de la gerbille, une étude du niveau d'expression des ARNm de la VP et de l'OT constituerait une autre approche pour une analyse plus précise permettant d'estimer le niveau cellulaire des ARNm ; leur taux d'expression, représente l'élément principal de la régulation de la synthèse (Lightman et Young, 1987) dans de nombreuses situations physiologiques. La réalisation des dosages radioimmunologiques de la VP et de l'OT dans le plasma et dans le LN sous les deux conditions expérimentales permettrait d'établir une relation entre l'état fonctionnel des neurones et les niveaux plasmatiques et neurohypophysaires de leurs neurohormones.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Allaert W., P. Carmeliet, C. Denef (1990). New perspectives in the function of pituitary folliculo-stellate cells. *Mol. Cell. Endoc.* 71 : 73-81.

Allen R.G., C. Carey, J. D. Parker, M.T. Mortrud, S. H. Mellon, M.J. Low (1995). Targeted ablation of pituitary pre-proopiomelanocortin cells by herpes simplex virus-1 thymidine kinase differentially regulates mRNAs encoding the adrenocorticotropin receptor and aldosterone synthase in the mouse adrenal gland. *Mol Endocrinol.* 9 : 1005-1016

Alper R.H., K.T. Demarest, K. E. More (1980). Dehydration selectively increases dopamine synthesis in tuberohypophyseal dopaminergic neurons. *Neuroendocrinology* 31 : 112-115.

Altman J., S.A. Bayer (1978). Development of diencephalon in the rat. I. Autoradiographic study of the time of origin and setting patterns of neurons of the hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 182 : 945-972.

Ammar A., A. Schmidt, B. Semmekrot, S. Roseau, D. Butlen (1991). Receptors for neurohypophyseal hormones along the rat nephron: ^{125}I -labelled d(CH₂)₅ (Tyr (Me)₂, Thr⁴, Orn⁸, Tyr-NH₂⁹) Vasotocin binding in microdissected tubules. *Pflügers Arch.* 418 : 220-227.

Ammar A., S. Roseau, D. Butlen (1992). Pharmacological characterization of V1a vasopressin receptors in the rat cortical collecting duct. *Am. J. Physiol.* 262 : F546-553.

Antoni F. A. (1984). Novel ligand specificity of pituitary of vasopressin receptors in rat. *Neuroendocrinology* 39 : 186-188.

Armstrong W. E. (1985). The supraoptic and paraventricular nuclei. In Paxinos G., Watson C. (Eds), the rat nervous system. Academic Press, Sydney.

Armstrong W. E., Warach, S., Hatton, G.I., Mcneil, T.H. (1980). Subnuclei in the rat hypothalamic paraventricular nucleus: A cytoarchitectonic, HRP and immunocytochemical analysis. *Neuroscience* 5: 1931-58.

Arnauld E., Wattiaux J.P. Arsaut J., Rostène W. et Vincent J.D. (1993). Alterations in vasopressin and oxytocin messenger RNA in the rat supraoptic nucleus during dehydration-rehydration evaluated by in situ hybridization and northern blotting. *Neurosci. Lett.* 149: 177-181.

Autelitano D.J., L. Snyder, S.C. Sealfon, J. L. Roberts (1989b). Dopamine D2-receptor messenger RNA is differentially regulated by dopaminergic agents in rat anterior and neurointermediate pituitary. *Mol. Cell. Endocrinol.* 67 : 101-105.

Baddouri K., El Hilali M. et Menard J. (1981). Mesure de l'hormone antidiurétique et de l'activité rénine plasmatique chez les Rongeurs désertiques (*Jaculus orientalis* et *Jaculus deserti*). *C. R. Acad. Sci. Paris*, t. 292, série III : 143-146.

Baddouri K., Butlen D., Imbert-Teboul M., Le Bouffant F., Marchetti J. Charbardès D. et Morel F. (1984). Plasma antidiuretic hormone levels and kidney responsiveness to vasopressin in the jerboa, *Jaculus orientalis*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 54 : 203-215.

Baertschi A. J. et M. Friedli (1985). A novel type of vasopressin récepteur on anterior pituitary corticotrophs. *Endocrinology* 116 : 499-502.

Baker B.L., Y.Y. Yu (1975). Immunocytochemical analysis of cells in the pars tuberalis of the rat hypophysis with antisera to hormones of the pars distalis. *Cell. Tissue Res.* 156 : 443-449.

Bargmann W., E. Scharrer (1951). The site of origin of the hormones of the posterior pituitary. *Amer. Scient.* 39 : 255-259.

Beagley G. H. et G. I. Hatton (1992). Rapid morphological changes in supraoptic nucleus and posterior pituitary induced by a single hypertonic saline injection. *Brain Res. Bull.* 28 : 613-618.

Beaulieu M., R. Felder, J.W. Kebabian (1986). D2-dopaminergic agonists and adenosine 3', 5'-monophosphate directly regulate the synthesis of aMSH-like peptides by cultured rat melanotrophs. *Endocrinology* 118 : 1032-1039.

Beaulieu S., B. Gagne et N. Barden (1988). Glucocorticoid regulation of proopiomelanocortin messenger RNA content of rat hypothalamus. *Mol. Endocrinol.* 2 : 727-731.

Bennet H. P. J., C.A. Browne, S. Solomon (1981). Biosynthesis of phosphorylated forms of corticotropin-related peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78 : 4713-4717.

Birch N.P., H.L. Tracer, D.J. Hakes, Y.P. Loh (1991). Coordinate regulation of mRNA levels of POMC and the candidate processing enzymes PC2 and PC3, but not furin, in the rat intermediate lobe. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 179 : 1311-1319.

Bjorklund A., B. Kalck, F. Hromek, C. Owman, K.A. West, (1970). Identification and terminal distribution of the tubero-hypophyseal monoamine fibre systems in the rat by means of stereotaxic and microspectrofluorimetric techniques. *Brain Res.* 17 : 1-23.

Bjorklund A., R.Y. Moore, A. Nobin, U. Stenevi (1973). The organization of tubero-hypophyseal and reticulo-hypophyseal and reticulo-infundibular catecholamine neuron systems in the rat brain. *Brain Res.* 51 : 171-191.

Blodel G. B. Dobberstein (1975a). Transfer of proteins across membranes. I. Presence of proteolytically processed and unprocessed nascent immunoglobulin chains on membrane-bound ribosomes of murine myeloma. *J. Cell. Biol.* 67 : 835-851.

Blodel G., B. Dobberstein (1975b). Transfer of proteins across membranes. II. Reconstitution of functional rough microsomes from heterologous components. *J. Cell. Biol.* 67 : 852-862.

Bondy C. A. et H. Gainer (1989). Corticotropin-releasing hormone stimulates neurohypophysial hormone release through an interaction with the intermediate lobe of the pituitary. *J. Neuroendocrinol.* 1 ; 5-8.

Bloomquist B.T., B.A. Eipper, R.E. Mains (1991). Prohormone converting enzymes: regulation and evaluation of function of using antisense RNA. *Mol. Endocrinol.* 5 : 2014-2024.

Bower A., M.E. Hadley, V.J. Hruby (1974). Biogenic amines and control of melanophore stimulating hormone release. *Science* 184 : 70-72.

Brownstein, M.J., J.T. Russel, H. Gainer (1980). Synthesis, transport, and release of posterior pituitary hormones. *Science* 207 : 373-378.

Brownstein M.J., E. Mezer (1986). Multiple chemical messengers in hypothalamic magnocellular neurons. *Progr. Brain Res.* 68 : 161-168.

Buijs R.M. (1978). Intra- and extrahypothalamic vasopressin and oxytocin pathways in the rat. *Cell Tissue Res.* 192 : 423-435.

Buchanan J. G., A. D. Stewart (1974). Neurohypophysial store of vasopressin in the normal and the dehydrated gerbill (*Meriones unguiculus*), with a note on kidney structure. *J. Endocr.*, 60 : 381-382.

Burbach J. H. P. et V. M. Wiegant. (1990). Gene expression, biosynthesis and processing of proopiomelanocortin peptides and vasopressin. *Neuropeptides : Basics and perspectives*. Ed. Elsevier, Amsterdam, 45-103.

Burbach J. H. P., M. J. Hoop, H. Schmale, D. Richter, E. R. De Kloet, J.A. Ten Haaf et D. Weid (1984). Differentiel responses to osmotic stress of stimulation-neurophysine m RNA in hypothalamic nuclei. *Neuroendocrinology* 39 : 582-590.

Burlet A., M.C. Tonon, D. Tankosic, D. Coy, H. Vaudry (1983). Comparative immunocytochemical localization of corticotropine-releasing factor (CRF-41) and neurohypophysial peptides in the brain of Brattleboro and Long-Evans rats. *Neuroendocrinology* 37 : 65-72.

Cajal Y. S.R. (1894). Algunas contribuciones al conocimiento de los ganglios del encefalo. *Anal. Soc. Esp. Hist. Nat.* 23 : 195-237.

Calas A (1991). Approches morphofonctionnelles des neuropeptides centraux. *Ann. Sci. Natur. Zool. Paris* 12 : 109-123.

Calas A (1994). La versatilité neuronale. *La vie des Sci. C. R., Série générale*, Tome 11, n°4 : 271-285.

Cannon J.G., J.B. Tatro, S. Reichlin, C.A. Dinarello (1986). Alpha-melanocyte-stimulating hormone inhibits immunostimulatory and inflammatory actions of interleukin-1. *J Immunol* 137 : 2232-2236.

Castel M., H. Gainez, H. D. Dellmann (1984). Neuronal secretory activity. *Int. Rev. Cytol.* 88 : 304-459.

Charlton J.A., P.H. Baylis (1988). Mecanisms responsible for mediating the antidiuretic action of vasopressin. *J. Endocrinol.* 118 : 3-6.

Chen C.L.C., F.T. Dionne, J.L. Roberts, (1983). Regulation of the POMC mRNA levels in rat pituitary by dopaminergic compounds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80 : 2211-2215.

Chen C.L.C., C.C. Chang, D.T. Krieger, C.W. Bardin (1986). Expression and regulation of proopiomelanocortin-like gene in ovary and placenta: comparison with the testes. *Endocrinology* 118 : 2382-2389.

Ching-Ming Wu., Shen Ching-Liang (1994). The distribution of vasopressinergic and oxytocinergic neurons in the CNS of the gerbil. *Zoological Studies* 33 (2) : 114-125.

Chhajlani V., J.E.S. Wikberg (1992). Molecular cloning and expression of a novel human melanocyte stimulating hormone receptor cDNA. *FEBS* 309 :417-420.

Choy V.J., W.B. Watkins (1979). Maturation of the hypothalamo-neurohypophysial system. Localisation of neurophysin, oxytocin and vasopressin in the hypothalamus and neural lobe of developing rat brain. *Cell. Tissue Res.* 197 : 325-336.

Chretien M., N.G. Seidah, M. Dennis (1984). Processing of precursor polyproteins in rat brain: regional differences in acetylation of POMC peptides. in Muller E.E., Genazzani A.R, Eds. central and peripheral endorphins: Basic and clinical aspects. Raven Press NewYork pp;27.

Civelli O., N. Birnberg, H. Herbert (1982). Detection and quantitation of pro-opiomelanocortin mRNA in pituitary and brain tissues from different species. *J. Biol. Chem.* 257 : 6783-

Cote T.E., M. Munemara, R.L. Eskay, J.W. Keabian (1980). Biochemical identification of the β -adrenoceptor and evidence for the involvement of an adenosine 3', 5'-monophosphate system in the β -adrenergically induced release of α -melanocyte-stimulating hormone in the intermediate lobe of the pituitary gland. *Endocrinology* 107 : 108-116.

Cote T.E., R. Felder, J.W. Keabian, R.D. Sekura, T. Reisine, H.U. Affolter (1986). D-2 dopamine receptor-mediated inhibition of proopiomelanocortin synthesis in rat intermediate lobe. *J. Biol. Chem.* 261 : 4555-4561.

Couly G.F., N.M. Le Douarin (1985). Mapping of the early neural primordium in quail-chick chimeras. I. Developmental relationships between placodes, facial ectoderm, and prosencephalon. *Dev. Biol.* 110 : 422-439.

Couly G.F., N.M. Le Douarin (1987). Mapping of the early neural primordium in quail-chick chimeras. II. The prosencephalic neural and neural folds: implications for genesis of cephalic human congenital abnormalities. *Dev. Biol.* 120 : 198-214.

Cros B.A. (1958). On the mechanism of labor in the rabbit. *J. Endocrinol.* 16 : 261-276.

Cunningham E.T., Jr, P.E. Sawchenko (1988). Anatomical specificity of noradrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 274 : 60-76.

Cunningham E.T., M.C. Bohn, P.E. Sawchenko (1990). Organization of adrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 292 : 651-667.

Cyrkowics A., W.Z. Traczyk (1975). Effect of intravenous and intracarotid injections of hypertonic fluids on the release of melanocyte stimulating hormone from the rat posterior pituitary lobe incubated in situ. *J. Endocr.* 66 : 85-91.

Dahlstrom A., K. Fuxe (1996). Monoamines and the pituitary gland. *Acta Endocrinol.* 51 : 301-314.

Davidson J., A.S. Milton, D. Rotondo (1992). α -Melanocyte-stimulating hormone suppresses fever and increases in plasma levels of prostaglandin E2 in the rabbit. *J Physiol* 451 : 491-502.

Decavel C., M. Geffard, A. Calas (1987). Comparative study of dopamine-and noradrenaline-immunoreactive terminals in the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *Neurosci. Lett.* 77 : 149-154.

Decavel C., P. Dubourg, B. Leon-Henri, M. Geffard, A. Calas (1989). Simultaneous immunogold labeling of GABAergic terminals and vasopressin-containing neurons in the rat paraventricular nucleus. *Cell Tissue Res.* 255 : 77-80.

Doerr-Schott J. (1970). Etude au microscope électronique de la neurohypophyse de *Rana esculenta* L. *Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 111 : 413-426.

Defendini R. et E. K., Zimmerman (1978). The magnocellular neurosecretory system of the mammalian hypothalamus. In: *The hypothalamus*, Reichlin, S., Baldessarini, R. J., Martin, J. B., editors, pp. 137-152 (Raven press, New York 1978)

Dellmann H. D., E. M. Rodriguez (1970). Herring bodies : an electron microscopic study of local degeneration and regeneration of neurosecretory axons. *Z. Zellforsch.* 111 : 293-315.

Dellmann H. D., M.E Stoeckel, A. Porte, F. Stutinsky (1974). Ultrastructure of the neurohypophysial glial cells following stalk transection in the rat. *Experientia* 30 : 1220-1222.

Dellmann H. D., E. M. Rodriguez, P. Pena et I. Siegmund (1988). Immunohistochemical investigation of the magnocellular peptidergic hypothalamo-neurohypophysial system of the rat chronically stimulated by long-term administration of hypertonic saline. *Neuroendocrinology* 47 : 335-342.

De Rouffignac C. et F. Morel (1965). Etude comparée du renouvellement de l'eau chez quatre espèces de rongeurs, deux espèces d'habitat désertique. *J. Physiol. Paris* 58 : 309-322.

De Rouffignac C. et L. Bankir (1990). L'économie de l'eau chez les mammifères. *La Recherche* 21 : 654-665.

De Souza E. B. (1985). β 2-adrenergic receptors in the pituitary : identification, characterization and autoradiographic localization. *Neuroendocrinology* 41 : 289-296.

De Wied D., J. Jolles (1982). Neuropeptides derived from proopioidmelanocortin: behavioral, physiological and neurochemical effects. *Physiol. Rev.* 62 : 977-1059.

De Wied D. (1983). Central actions of neurohypophyseal hormones. *Proc. Brain Res.* 60 : 155-169.

De Wied D. (1990). Neurotrophic effects of ACTH/MSH neuropeptides. *Acta neurobiol. Exp.* 50 : 353-366.

Dubois-Dauphin M.E., E. Tribollet, J.J. Dreiffus (1989a). Distribution of neurohypophysal peptides in the guinea pig brain. I. An Immunocytochemical study of the vasopressin related glycopeptide. *Brain Res.* 496 : 45-65.

Dubois-Dauphin M.E., E. Tribollet, J.J. Dreiffus (1989a). Distribution of neurohypophysal peptides in the guinea pig brain. II. An Immunocytochemical study of the vasopressin related glycopeptide. *Brain Res.* 496 : 66-81.

Duchen L.W. (1962). The effects of ingestion of hypertonic saline on the melanocyte stimulating hormone content and histology of the PI of the rat pituitary gland. *J. Endocr* 46 : 161-168.

Duchen L.W. (1968). Changes in the volume of the pars intermedia of the pituitary gland and in the weight and water contents of organs of rats given hypertonic saline. *J Endocrinol* 41 : 593-600.

Du Pasquier D., J.J. Dreiffuss, M. Dubois-Dauphin; E. Tribollet (1991). An autoradiographical study of binding sites for vasopressin located on corticotrophs in rat and sheep pituitary gland. *J. Endocrinol.* 129 : 197-203.

Du Vignaud V., H.C. Lawler, E.A. Popenoe (1953a). Enzymatic cleavage of glycineamide from vasopressin and a proposed structure for this pressor antidiuretic hormone of the posterior pituitary. *J. Am. Chem. Soc.* 75 : 4880-4881.

Du Vignaud V., C. Resler, J.M. Swan, C.W. Roberts, P.G. Katsoyannis, S. Gordon (1953b). The synthesis of an octapeptide amide with hormonal activity of oxytocin. *J. Am. Chem. Soc.* 75 : 4878-4880.

Eberle A.N., (1988). The melanotropins. Chemistry, physiology and mechanisms of action. Karger, Basel.

Eberwine J. H., J. A. Jonassen, M.J.Q. Evinger et J. L. Roberts (1987). Complex transcriptional regulation by glucocorticoids and corticotropin-releasing hormone of proopiomelanocortin gene expression in the rat pituitary. *DNA* 6 : 483-492.

Eipper B.A., B.T. Bloomquist, E.J. Husten, S.L. Milgram, R.E. Mains (1993). Peptidyl α -amidating monooxygenase and other processing enzymes in the neurointermediate pituitary. *Ann. NY Acad. Sci.* 680 : 147-160.

Elamraoui A., P.M. Dubois (1993). Experimental evidence for the early commitment of the presumptive adenohypophysis. *Neuroendocrinology* 58 : 609-615.

El Husseini M. et G. Haggag (1974). Antidiuretic hormone and water conservation in desert rodents. *Comp. Biochem. Physiol.A* 47 : 347-350.

Elkabes S., Y. Peng Loh (1988). Effects of salt loading on proopiomelanocortin (POMC) messenger ribonucleic acid levels, POMC biosynthesis in the pituitary gland. *Endocrinology* 123 : 1754-1760.

Ellerkmann E., G.M. Nagy, L.S. Frawley (1992). Alpha-melanocyte stimulating hormone is a mammatrophic factor released by neurointermediate cells after estrogen treatment. *Endocrinology* 130 : 133-138.

Emmers R. (1973). Interaction of neural systems which control body water. *Brain. Res.* 49 : 383-347.

Fisher A.W.F., P.G. Prince, G.D. Burford, K. Ledreis (1979). A 3-dimensional reconstruction of the hypothalamo-neurohypophysial system of the rat. *Cell. Tiss. Res.* 204 : 343-354.

Forsling M.L., M.J. Brimble (1985). The role of oxytocin in salt and water balance. In oxytocin : Clinical and Laboratoires studies. J. A. Amico and A.G. Robinson (eds), Elsevier, Amsterdam, pp167-175.

Forsling M.L., J.M. Judah; R.J. Windle (1994). The effect of vasopressin and oxytocin on glomerular filtration rate in the conscious rat : contribution to natriuretic response. *J. Endocrinol.* 141 : 59-67.

Freind-Mercier M.J., M.E. Stoeckel, M.J. Klein (1994) Oxytocin receptors on oxytocin neurones : histoautoradiografic detection in the lactating rat. *J. Physiol.* 480 : 155-161.

Frey E.A., T.E. Cote, C.W. Greew, J.W. Keabian (1982). (3H) spiroperidol identifies a D-2 receptor inhibiting adenylate cyclase activity in the intermediate lobe of the rat pituitary gland. *Endocrinology* 110 : 1897-1904.

Gainer H., Y. Sarne et M. J. Brownstein (1977). Biosynthesis and axonal transport of rat neurohypophysial proteins and peptides. *J. Cell. Biol.* 73 : 366-381.

Gary K.A., S.Z. Sands, B.M. Chronwall (1995). Regulation of GFAP expression in glia-like cells of the rat pituitary intermediate lobe by lactation, salt loading and adrenalectomy. *Glia* 13 : 272-282.

Gary K.A., S.A. Sands, B.M. Chronwall (1995). Glial-like cells of the pituitary intermediate lobe change morphology and shift from vimentin to GFAP expression during development. *Int Dev Neurosci* 13 : 555-565.

Gaymann W., R. Martin (1987). A re-examination of the localization of immunoreactive dynorphin (Leu) enkephalin and (Met) in the rat neurohypophysis. *Neurosciences* 20 : 1069-1080.

Gaymann W., R. Martin (1989). Immunoreactive galanin-like material in magnocellular hypothalamo-neurohypophyseal neurons of the rat. *Cell. Tissue Res.* 255 : 139-147.

Gee C.E., C.L.C. Chen, J. Roberts, R. Thompson, S.J. Watson (1983). Identification of proopiomelanocortin neurons in rat hypothalamus by in situ cDNA-mRNA hybridization. *Nature* 306 : 374-376.

George, J.M. (1976). Vasopressin and oxytocin are depleted after oral hypertonic saline. *Science* 193 : 146-148.

Gospodarow K. Z. D. et K. Lau (1989). Pituitary follicular cells secrete both vascular endothelial growth factor and follistatin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 165 : 292-298.

Goudreau L.J., S.E. Lindley, K.J. Lookingland, K.E. Moore (1992). Evidence that hypothalamic periventricular dopamine neurons innervate the intermediate lobe of the rat pituitary. *Neuroendocrinology* 56 : 100-105.

Goudreau L.J., W.M. Falls, K.J. Lookingland, K.E. Moore (1995). Periventricular-hypophysial dopaminergic neurons innervate the intermediate but not the neural lobe of the rat pituitary gland. *Neuroendocrinology* 62 : 147-154.

Gruber K.A., S.L. Eskridge-Sloop, J. C. Eldridge, M.F. Callahan (1989). ACTH-induced hypertension in rats: fact or artifact?. *Am. J. Physiol.* 256 : R1308-R1310.

Guillon G (1989). Les récepteurs de la vasopressine, l'ocytocine et l'angiotensine chez les mammifères. *Ann. Endocrinol. Paris* 50 : 425-433.

Halmi N.Y., M.E. Peterson, G.J. Colurso, A.S. Liotta, D.T. Krieger (1981). Pituitary intermediate lobe in dogs: Two cell types and high bioactive adrenocorticotropin content. *Science* 211 : 72-74.

Hatton G.I., L.S. Perlmutter, A.K. Salm, C.D. Tweedle (1984). Dynamic neuronal-glia interactions in hypothalamus and pituitary : implications for control of hormone synthesis and release. *Peptides* 5 : 121-138.

Hatton G.L., (1990). Emerging concepts of structure-fonction dynamics in adult brain in hypothalamo-neurohypophysial system. *Progress in Neurobiol.* 34 : 437-504.

Hindelang C., J.M. Felix, F.M. Laurent, M.J. Klein, M.E. Stoeckel (1990). Ontogenesis of proopiomelanocortin gene expression and regulation in the rat pituitary intermediate lobe. *Mol. Cell. Endocrinol.* 70 : 225-235.

Hollt V., I. Haarman, B. R. Seizinger, A. Herz (1982). Chronic haloperidol treatment increases the level of in vitro translatable messenger RNA coding for the β -endorphin/adrenocorticotropin precursor POMC in the pars intermedia of the rat pituitary. *Endocrinology* 110 : 1885-1891.

Hooper E.T. et El Hilali, M. (1972). Temperature regulation and habitats in two species of gerboa. *J. Mammal.* 53 : 574-593.

Hosoya Y. et M. Matsushita (1979). Identification and distribution of the spinal and hypophyseal projection neurons in the paraventricular nucleus of the rat. A light and electron microscopic study with the HRP method. *Exp. Brain Res.* 35 : 315-331.

Hou-Yu A., A. T. Lamme, E. A. Zimmerman, A. J. Silverman (1986). Comparative distribution of vasopressin and oxytocin neurons in the rat brain using a double-label procedure. *Neuroendocrinology* 44 : 235-246

Howe A., A.J. Tody (1970). The effect of ingestion of hypertonic saline on the melanocyte stimulating hormone content and histology of the pars intermedia of the rat pituitary gland. *J. Endocrinol* 46 : 201-208.

Hradec J.B., K. Horkey (1979). Natriuretic and Kaliuretic effect of melanocyte-stimulating hormone in hamsters. *Endocrinol Exp* 13 : 145-152.

Hyodo S., C. Yamada, T. Takezawa et A. Urano (1992). Expression of provasopressin gene in the hypothalamus of developing mice. *Neurosci.* 46 : 241-250.

Ishikawa H., H. Nogami, et N. Shirasawa (1983). Novel clonal stains from adult rat pituitary producing S-100 Protein. *Nature* 303 : 711-713.

Jard S., C. Gaillard, G. Guillon, J. Marie, P. Schoeneberg, A.F. Muller, M. Manning, W.H. Sawyer (1986). Vasopressin antagonists allow demonstration of novel type of vasopressin receptor in the rat adenohypophysis. *Mol. Pharmacol.* 30 : 171-177.

Jard S., C. Barberis, S. Audigier, E. Tribollet (1987). Neurohypophyseal hormone receptor systems in brain and periphery. *Progress in Brain Res.* 72 : 173-187.

Jingami H., S. Nakanishi, H. Imura, S. Numa (1984). Tissue distribution of messenger RNAs coding for opioid peptide precursors and related RNA. *Eur. J. Biochem.* 142 : 441-449.

Johnson A.E., S. Audigier, F. Rossi, S. Jard, E. Tribollet, C. Barberis (1993). Localization and characterization of vasopressin binding sites in the rat brain using an Iodinated linear AVP antagonist. *Brain Res.* 622 : 9-16.

Jones C. W., B. T. Pickering (1969). Comparison of the effect of water deprivation and sodium chloride imbibition on the hormone content of the neurohypophysis of the rat. *J. Physiol.* 203 : 449-458.

Johnston P. A., P. L. Cameron, H. Stukenbrok, P. De Camilli et T. Südhöf (1989). Synaptophysin is targeted to similar microvesicles in CHO and PC12 cells. *EMB J.* 8 : 2863-2872.

Kagayama M. (1965). The follicular cell in the pars distalis of the dog pituitary gland: An electron microscope study. *Endocrinology* 77 : 1053-1060.

Kalimo H., (1975). Ultrastructural studies on the hypothalamic neurosecretory neurones of the rat. *Cell Tissue Res.* 163 : 151-168.

Kapas S., A. Purbrick, S. Barker, G. P. Vinson et J. P. Hinson (1994). Alpha-melanocyte-stimulating hormone induced inhibition of angiotensin II receptor mediated events in the rat adrenal zona glomerulosa. *Journal of molecular endocrinology* 13 : 95-104.

Kastin A.J. (1967). MSH and vasopressin activities in pituitaries of rats treated with hypertonic saline . *Fed Proc* 26 : 255-.

Kawamura K, S., Kykuyama (1992). Evidence that hypophysis and hypothalamus constitute a single entity from the primary stage of histogenesis. *Dev.* 115 : 1-9.

Khachaturian H., M. E. Lewis, M.G.H. Schafer, S.J. Watson (1985). Anatomy of the CNS opioid systems. *Trends Neurosc.* 7 : 111-119.

Kiss J. Z. (1988). Dynamism of chemoarchitecture in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Brain Recherche Bulletin* 20 : 699-708.

Kobayashi Y. (1969). Functional morphology of the pars intermedia of the rat hypophysis as revealed with the electron microscope. IV. Effects of corticosterone on the pars intermedia of intact and adrenalectomized rats. *Gunma Symp Endocr* 6 : 107-124.

Kobayashi Y. (1974). Quantitative and electron microscopic studies on the pars intermedia of the hypophysis. III. Effect of short-term administration of a sodium deficient diet on the pars intermedia of mice. *Cell. Tiss. Res.* 154 : 321-327.

Kobayashi Y., M. Takema (1976). A morphometric study on pars intermedia of the hypophysis during impairment of the renin-angiotensin aldosterone system in sodium depleted mice. *Cell Tissue Res* 168 : 153-159.

Kobayashi Y. (1977). Morphological evidence for a pituitary factor, the pars intermedia hormone, that may stimulate aldosterone secretion by adrenals in sodium dépletion mice. *Endocrinol.* 61-74.

Kobayashi Y., T. Kumazawa, M. Takenshi (1984). A new method for inducing copious drinking and the accompanying stimulation on the pars intermedia of the mouse pituitary gland. *Arch Histol Jpn* 47 : 71-77.

Krémarik P., M.J. Freund-Mercier, M.E. Stoeckel (1993). Histoautoradiographic detection of oxytocin- and vasopressin- binding sites in the telencephalon of the rat. *J. Comp. Neurol.* 333 : 343-359.

Krémarik P., M.J. Freund-Mercier, M.E. Stoeckel (1994). Oxytocin and vasopressin binding sites in the hypothalamus of the rat. Histoautoradiographic detection. *Brain Res. Bull.* 36 : 195-203.

Krieg W. J. S. (1932). The hypothalamus of the albino rat. *J. comp. Neurol.* 55 :19-89.

Laamarti M. A., K. Baddouri et C. Burlet (1991). The effect of glucocorticoids on the diluting capacity of the kidney of a desert rodent : *Gerbillus campestris*. *Reprod. Nutr. Dev.* 31(5) : 501-507.

Lakhdar-Ghazal N. (1992). Contrôles nerveux et neuroendocriniens des fonctions saisonnières chez un rongeur désertique hibernant (*Jaculus Orientalis*): Rôle de la glande pinéale et de quelques neuropeptides. Thèse de doctorat d'Etat, Rabat (1992).

Laudry M., A. Trembleau, R. Aral, A. Calas (1991). Evidence for a colocalization of oxytocin mRNA and galanin in magnocellular hypothalamic neurons : a study combining in situ hybridization and immunohistochemistry. *Molecul. Brain Res.* 10 : 91-95.

Laurent F.M., C. Hindelang, M.J. Klein, M.E. Stoeckel, J.M. Felix (1989). Expression of the oxytocin and vasopressin genes in the rat hypothalamus during development: an in situ hybridization study. *Develop. Brain Res.* 46 : 145-154.

Lebaili N., M. Bensalem, M.E. Stoeckel (1999). The Pituitary Intermediate Lobe of the Hydrated and Dehydrated Gerbil. An immunohistochemical and Electron-Microscopic Study. *Cells Tissues Organs* 164 : 155-166.

Le Berre M. (1990). Faune du Sahara. Mammifères. Le Chevalier R. Chabaud, Paris 360p.

Leenders H.J., J. J. W. Janssens, H. J. M. Theunissen, B.G. Jenks, A. P. v Overbeeke. (1986). Acetylation of Melanocyte-Stimulating Hormone and β -Endorphin in the pars intermedia of the perinatal pituitary gland in the mouse. *Neuroendocrinology* 43 : 166-174.

Leenders H.J., T.J. de Vries, F.T.L.v.d. Loop, B.G. Jenks (1990). Biosynthetic response of mouse intermediate pituitary gland to induced drinking and dehydration. *Acta Endocrinol (Copenh)* 122 : 527-534.

Legait E., F. Petter, H. Legait (1966). Recherches sur le lobe intermédiaire de l'hypophyse de quelques rongeurs africains. *Mammalia* 30 : 337-342.

Legait E., M. Roux (1961). Importance variable de la pars intermédia chez les rongeurs et résistance différente au cours d'épreuves de déshydratation. *CRSoc Biol (Paris)* 155 : 379-381.

Lightman S.L., M. Ninkovic, S.P. Hunt (1982). Localization of (3H) spiperone binding sites in the intermediate lobe of the rat pituitary gland. *Neurosc. Lett.* 32 : 99-102.

Loeffler J.P., N. Kley, C.W. Pittius et V. Holt (1985). Corticotropin-releasing factor and forskolin increase proopiomelanocotin mRNA levels in rat anterior and intermediate cells in vitro. *Neurosc. Lett.* 62 : 383.

Loeffler J.P. B.A. Demeneix, C.W. Pittius, N. kley, N. Haegele, V. Holt (1986). GABA differentially regulates the gene expression of POMC in the rat intermediate and anterior pituitary. *Peptides* 7 : 253-258.

Loeffler J.P., B. A. Demeneix, N. A. Kley et V. Holt (1988). Dopamine inhibition of proopiomelanocortin gene expression in the intermediate lobe of the pituitary. *Neuroendocrinology*, 47 : 95-101.

Lolait S.J., J.A. Clements, A.J. Markwick, C. Cheng, M. McNally, A.I. Smith, J.W. Funder (1986). POMC messenger RNA and posttranslational processing of β -endorphin in spleen macrophages. *J. Clin Invest.* 77 : 1779-1789.

Luchman S. M. et R. J. Bicknell (1990). Morphological plasticity that occurs in the neurohypophysis following activation of the magnocellular neurosecretory system can be mimicked in vitro by beta adrenergic stimulation. *Neurosciences*, 39 : 701-709.

Lundblad J.R., J.L. Roberts (1988). Regulation of POMC gene expression in pituitary. *Endoc. Rev.* 9 : 135-158.

Lutz-Bucher B., B. Koch (1983). Characterization of specific receptors for vasopressin in the pituitary gland. *Biochem. Biophys. Res. Communications* 115 : 492-498.

Lyness J., A.G. Robinson, M.N. Sheridan, D.M. Gash (1985). Antidiuretic effects of oxytocin in the Brattleboro rat. *Experientia Basel* 41 : 1444-1446.

Mains R.E., B.A. Eippre (1979). Synthesis and secretion of corticotropins, melanotropins and endorphins by rat intermediate pituitary cells. *J. Biol Chem* 254 : 7887-7894.

Majzoub J. A., A. RICH, J. Van Boom et J.F. Habenner (1983). Vasopressin and oxytocin mRNA regulation in the rat assessed by hybridisation with synthetic oligonucleotides. *Journal of Biological Chemistry*, 258 : 14061-14064.

Marzban F., C. D. Tweedle, G. I. Hatton (1992). Reevaluation of plasticity in the rat supraoptic nucleus after chronic dehydration using immunogold for oxytocin and vasopressin at the ultrastructural level. *Brain Res. Bull.* 28 : 757-766.

Marcinkiewicz M., R. Day, N.G. Seidah, M. Chretien (1993). Ontogeny of the prohormone convertases PC1 and PC2 in the mouse hypophysis and their colocalization with ACTH and α MSH. *Proc. Natl. Acad. Sc. USA*.

Mason W.T.(1980). Supraoptic neurons of rat hypothalamus are osmotically sensitive. *Nature*, 287 : 154-157.

Mason W.T., Y.W. Ho, G.L. Hatton (1984). Axon collaterals of supraoptic neurones : anatomical and electro-physiological evidence for their existence in the lateral hypothalamus. *Neuroscience*, 11 : 169-182.

Mc Neill T.H., J.R. Sladek, (1980). Simultaneous monoamine histofluorescence and neuropeptide immunocytochemistry : II. Correlative distribution of catecholamine varicosities and magnocellular neurosecretory neurons in rat supraoptic and para ventricular nuclei. *J. Comp. Neurol.* 193 : 1023-1033.

Meador-Woodruff J.H., A. Mansour, J.R. Bunzow, H.H.M. Van Tol, S.J. Watson, O. Civelli (1989). Distribution of D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 8 : 7625-7628.

Meister B., R. Cortès, M.J. Villar, M. Schalling, T. Hôkfelt (1990). Peptides and transmitter enzymes in hypothalamic magnocellular neurons after administration of hyperosmotic stimuli : comparison between messenger RNA and peptide/protein levels. *Cell Tissue Res.* 260 : 279-297.

Melander T., T. Hökler, A. Røhkaeus, A.C. Cuello, W.H. Oertel, A. Verhofstad, M. Goldstein (1986). Coexistence of galanin-like immunoreactivity with catecholamines, 5-hydroxytryptamine, GABA and neuropeptides in the rat CNS. *J. Neurosci.* 6 : 3640-3654.

Meunier H., F. Labrie (1982). The dopamine receptor in the intermediate lobe rat pituitary glands is negatively coupled to adenylate cyclase. *Life Sci* 30 : 963-968.

Meunier H., G. Lefevre, D. Dumont, F. Labrie (1985). CRF stimulates α -MSH secretion and cyclic AMP accumulation in rat pars intermedia cells. *Life Sci.* 31 : 2129-2135.

Mezey E., C. Leranth, M.J. Brownstein, D.T. Krieger, M. Palkovits (1984). On the origin of the serotonergic input to the intermediate lobe of the rat pituitary. *Brain. Res.* 294 : 231-237.

Millington W.R., T.L. O'Donohue, M.C. Chappel, J.L. Roberts, G.P. Mueller (1986). Coordinate regulation of peptide acetyltransferase activity and proopiomelanocortin gene expression in the intermediate lobe of the pituitary. *Endocrinology* 118 : 2024-2033.

Miyaza K., T. Reisine, J.W. Kebabian (1984). Adenosine 3',5'-monophosphate (cAMP)-dependent protein kinase activity in rodent pituitary tissues : possible role in cAMP-dependent hormone secretion. *Endocrinology* 115 : 1933-1942.

Modney B. K. et G. I. Hatton (1989). Multiple synapse formation : a possible compensatory mechanism for increased cell size in the rat supraoptic nucleus. *J. Neuroendocrinol.* 1 : 21-27.

Mohr E., U. Bahnsen, C. Kiessling, D. Richter (1991). Expression of the vasopressin and oxytocin genes in rats occurs in mutually exclusive sets of hypothalamic neurons. *FEBS*, 242 (1) : 144-148.

Morris J. F. (1976,a). Hormone storage in individual neurosecretory granules of the pituitary gland : a quantitative ultrastructural approach to hormone storage in the neural lobe. *J. Endocr.* 68 : 209-224.

Morris J. F., D. V. Pow et F. D. Shaw (1988). Release of the neuropeptides from magnocellular neurons : does anatomical compartmentation have a functional signification ? In neurosecretion : Cellular aspects of the production and release of neuropeptides. B. T. Peckerring, J.B. Wakerley & A. J. S. Summerlee, ed. New York : Plenium Press., 113-122.

Munemara M., T.E. Cote, R.L Tsuruta, J.W. Keabian (1980). The dopamine receptor in the intermediate lobe of the rat pituitary gland: Pharmacological characterization. *Endocrinology* 107 : 1676-1683.

Munsich R.A. (1960). Effect of magnesium ion on the respons of rat uterus to neurohypophyseal hormones and analogues. *Endocrinol.* 66 : 451-457.

Murphy M.T., D.B. Richard, J.M. Lipton (1983). Antipyretic potency of centrally administered alpha-melanocyte-stimulating hormone. *Science* 221 : 192-193.

Nordmann J. J. et J. F. Morris (1976). Membrane retrieval at neurosecretory axon endings. *Nature*, 261 : 723-725.

Nordmann J. J. et J. Chevalier (1980). The rôle of microvesicles in buffering (Ca)ⁱ in the neurohypophysis. *Nature*, 287 : 54-56.

Nordmann J. J. (1983). Stimulus-secretion coupling. *Prog. Brain Rch.* 60 : 281-303.

Nordmann J. J. et J. Labouesse (1981). Neurosecretory granules : evidence for an aging process within the neurohypophysis. *Science*, 211 : 595-597.

Nordmann J. J. (1985). Hormone content and movement of neurosecretory granules inthe rat neural lobe during and after dehydration. *Neuroendocrinogy*, 40 : 25-32.

Nordmann J. J. et G. Dayanithi (1988). Release of neuropeptides does not only occur at nerve terminals . *Biosci. Rep.* 8 : 471-483.

Oertel W.H., E. Mugnaini, M.L. Tappaz, V.K. Weise, A.L Dahl, E. Schmecheld, I.J. Kopin (1982). Central GABAergic innervation of

neurointermediate pituitary lobe: biochemical and immunocytochemical study in the rat. *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 879 : 675-679.

Orias R., S.M. McCann (1970). Natriuretic effect of α -MSH in the waterloaded rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 133 : 469-477.

Orias R., S.M. McCann (1972). Natriuresis induced by alpha and beta-melanocyte stimulating-hormone (MSH) in rats. *Endocrinology* 90 : 700-706.

Page R.B., J.E. Boyd, P.J. Mulrow (1974). The effects of alpha-melanocyte-stimulating hormone on aldosterone production in the rat. *Endocr. Res. Commun* 1 : 53-62.

Palade G., (1975). Intracellular aspects of the process of protein synthesis. *Science* 189 : 347-358.

Palay S. L. (1955). An electron microscope study of neurohypophysis in normal, hydrated and dehydrated rats. *Anat. Record* 121 : 348.

Palay S. L. (1957). The fine structure of the neurohypophysis in : *Ultrastructure and cellular chemistry of neural tissue*. Ed. H.Waelsch, Hoeber, New York, 31-49.

Payette R.F., M.D. Gershon, E.A. Nunez (1985). Serotonergic elements of the mammalian pituitary. *Endocrinology* 116 : 1933-1942.

Perlmutter L. S., G.I. Hatton, C.D. Tweedle (1984). Plasticity in the in vitro neurohypophyses : effects of osmotic changes on pituicytes. *Neurosciences*, 12 : 503-511.

Persson A.E.G, M. Salomonsson, P. Westerlund, R. Greger, E. Schlatter, E. Gonzalez (1991). Macula densa cell function. *Kidney Int.* 39, Supl. 32 : 39-44.

Peter F., (1961). Répartition géographique et écologique des rongeurs désertiques (du Sahara occidentale à l'Iran oriental). *Mammalia* 26 : 1-222.

Peterson R.P. (1966) : Magnocellular neurosecretory centers in the rat hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 128 : 181-190.

Phillips M.A., M.L. Budarf, E. Herbert (1981). Glycosylation events in the processing and secretion of pro-ACTH-endorphin in mouse pituitary tumor cells. *Biochemistry* 20 : 1666-1675.

Pickering B. T. (1978). The neurohypophysial neurone : a model for the study of secretion. *Essays Biochem.* 14 : 45-81.

Pintar J.E., B.S. Schachter, A.B Herman, S. Durgerian, D.T. Krieger (1984). Characterization and localization of proopiomelanocortin messenger RNA in the adult rat testes. *Science* 225 : 632.

Pintar J.E., D.I. Lugo (1987). Proopiomelanocortin gene expression, prohormone processing, and secretion during rat pituitary development. *Annu. NY Acad. Sci.* 512 : 318-327.

Rabhi M., B. Onténiente, M. Geffard, A. Calas (1985). Innervation GABAergique de la région hypothalamo-hypophysaire. Etude immunocytochimique chez la souris à l'aide d'anticorps anti-GABA. *Ann. Endocrinol.* 46 : 46.

Rabhi M., B. Onténiente, O.Kah M. Geffard, A. Calas (1987). Immunocytochemical study of the GABAergic innervation of the mouse pituitary by use of antibodies against gamma-aminobutyric acid (GABA). *Cell. Tissue Res.* 247 : 33-40.

Rabhi, M., M. Ugrumov, O. Polenova, W. Bengelloun, A. Calas (1993). Modifications morphofonctionnelles du système hypothalamo-hypophysaire vasopressinergique après déshydratation chronique chez la Mérione (*Meriones shawi*). *Ann. Endocrinol.* 54: Symposium n°17, pp : 15.

Raji A (1994). Anatomie et fonction de l'axe hypothalamo-neurohypophysaire chez un rongeur désertique (*Jaculus orientalis*). Thèse de doctorat ès Sciences, Rabat.

Raji A., J.J. Nordmann (1994). Synthesis, Turnover and Release of peptides from the neurohypophysis of the jerboa *Jaculus orientalis*. *General and Comparative Endocrinology* 93 : 345-356.

Raymond V., P.C.K. Leung, R. Veilleux, F. Labrie (1985). Vasopressin rapidly stimulates phosphatidic acid-phosphatidylinositol turnover in rat anterior pituitary cells. *Febs Letters* 182 : 196-200.

Reppert S.M., G.R. Uhl (1988). The vasopressin gene is expressed prior to regulation in the supraoptic nuclei of fetal rats. *Brain Res.* 456 : 392-396.

Reynolds E. S., (1963). The use of lead citrate at high PH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 17 : 208-212.

Rhodes C. H., J. I. Morrell, D. W. Pfaff (1981). immunohistochemical analysis of magnocellular elements in rat hypothalamus: distribution and numbers of neurophysin, oxytocin and vasopressin containing cells. *J. comp. Neurol.* 128 : 45-64.

Richter D. (1985). Biosynthesis of vasopressin. *Current topics in Neuroendocrinology*, 4 : 2-16.

Robinson A. G. et M. D. Fitzsimmons (1993). Vasopressin homeostasis : coordination of synthesis, storage and release. *Regulatory peptides* , 45 : 325-230.

Rodriguez E. M. (1969). Ultrastructure of the neurohaemal area of the toad median eminence. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 93 : 182-212.

Roux M., M.P. Dubois (1976). Immunohistochemical study of the pars intermedia of the mouse pituitary in different experimental conditions. *Experientia.* 32 : 657-658.

Saadi L., (2001). Effet de l'hydratation et de la déshydratation sur la cytologie de la zone glomérulée corticosurrénalienne chez un rongeur saharien, la grande gerbille (*Gerbillus pyramidum*). Thèse de Magister, ENS, Alger.

Sachs A. B., J. Osinchak et A. Capti (1967). Capacity of the neurohypophysis to release vasopressin. *Endocrinology* 81 : 755-770.

Sakaue L.C., N. Saito, H. Taniguchi, S. Baba, C. Tanaka (1988). Immunohistochemical localization of gamma-aminobutyric acid in the rat pituitary gland and related hypothalamic regions. *Brain. Res.* 44 : 343-353.

Saland L.C., J.A. Wallace, A. Samora, L. Gutierrez (1988a). Colocalization of tyrosine hydroxylase (TH)- and serotonin (5HT)-immunoreactive innervation in the rat pituitary gland. *Neurosc. Lett.* 94 : 39-45.

Saland L.C., L. Gutierrez, J. Kraner, A. Samora, (1988b). Corticotropine-releasing factor (CRF), and neurotransmitters modulate melanotropic peptide release from rat neurointermediate pituitary in vitro.

Sales N., M.P. Martres, M.L. Bouthenet, J.C. Schwartz (1989). Ontogeny of dopaminergic D2 receptors in the nervous system: Characterization and detailed autoradiographic mapping with (125I) idosulpiride. *Neurosciences* 28 : 673-700.

Salm A. K, G. I. Hatton et G. Nilavar (1982). Immunoreactive glial fibrillary acidic protein in pituitary of the rat neurohypophysis. *Brain Res.* 236 : 471-476.

Sawchenko P.E., L.W. Swanson (1982). Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the medulla or to the spinal cord in the rat. *J. Comp. Neurol.* 205 : 260-272.

Sawchenko P.E., L.W. Swanson (1983). The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *J. Comp. Neurol.*, 218 : 121-144.

Scharrer E., B. Scharrer (1954). Hormones produced in neurosecretory cells. *Rec. Progr. Horm. Res.* 10 : 183-240.

Schimchowitsch S., M.E. Stoeckel, M.J. Klein, J.C. Garaud, G. Schmitt, A. Porte (1983). Oxytocin-immunoreactive nerve fibers in the pars intermedia of the pituitary in the rabbit and hare. *Cell. Tissue Res.* 228 : 255-263.

Schimchowitsch S., P. Vuillez, M. Tappaz, M.J. Klein, M.E. Stoeckel (1991). Systematic presence of GABA-immunoreactivity in the tuberoinfundular and tuberohypophyseal dopaminergic axonal systems. An ultrastructural immunogold study on several mammals. *Exp. Brain Res.* 83 : 575-586.

Schmidt A., S. Jard, J.J Dreifuss, E. Tribollet (1990). Oxytocine receptors in rat kidney during development. *Am. J. Physiol.* 259 : F872-F881.

Schmidt A., S. Audier, C. Barberis, S. Jard, M. Manning, A.S Kolodziejczyk, W.H. Sawyer (1991). A radioiodinated linear vasopressin antagonist : A ligand with high affinity and specificity for VI a receptors. *FEBS* 282 : 77-81.

Schmidt-Nielsen K., B. Schmidt-Nielsen (1961). Water metabolism of desert mammals. *Physiological. Reviews.* 32 : 135-165.

Schmidt-Nielsen B. et R O'Dell (1961). Structure and concentrating mechanism in the mammalian kidney. *Am. J. Physiol.* 200 : 1119-1124.

Schmitt G., M.E. Stoeckel, M.J. Klein, A. Porte (1982). Effects of experimental hypo- or hypernatremia on the fine structure of the pars intermedia of the murine pituitary. *Cell. Tissue Res.* 223 : 641-657.

Seger A. M., J. A. Van Eekelen, J. Z. Kiss, J. P. H. Burbach et E. R. De Kloet (1988). Stimulation of pro-opiomelanocortin gene expression by glucocorticoids in the denervated rat intermediate pituitary gland. *Neuroendocrinology* 47 : 350-357.

Sharma P., K.E. Hagler, N.O. Dybdal, B.M. Cronwall (1979). Salt loading induces decreased POMC mRNA levels, increased alpha-MSH immunoreactivity, and sustained elevated FOS expression in rat pituitary intermediate lobe melanotropes. *Ann. NY Acad. Sci.* 814 : 295-299.

Shaw F. D. et J. F. Morris (1980). Calcium localization in the rat neurohypophysis. *Nature* 287 : 56-58

Shenker Y., J.Z. Villareal, R.S. Sider, R.J. Grekin (1985). α -Melanocyte-stimulating hormone stimulation of aldosterone secretion in hypophysectomized rats. *Endocrinology* 116 : 138-141.

Sheppard K. E., D. J. Autelitano, J. L. Roberts et M. Blum (1993). Glucocorticoid receptor function in rat pituitary intermediate lobe is inhibited by an endogenous protein. *J. Neuroendocrinol.* 5 : 195-200.

Sherman T. G., J. F. Mackelvy et S. J. Watson (1986). Vasopressin mRNA regulation in individual hypothalamic nuclei. A northern and in situ hybridization analysis. *J. Neurosci.* 6 : 1685-1694.

Silverman A. J. et E. A. Zimmerman (1983). Magnocellulaire neurosecretory system. *A. Rev. Neuroci.* 6 : 619-643.

Siperstein, E.R., K.J. Miler (1970). Further cytophysiologic evidenti of the identity of the cells that produce adrenocorticotrophic hormone. *Endocrinology* 84 : 451-486.

Smith A.J., J.W. Funder (1988). Proopiomelanocortin processing in the pituitary, central nervous and peripheral tissues. *Endoc. Rev.* 9 : 159-179.

Sofroniew M.V. (1985). Vasopressin, ocytocin and their related neurophysins. In : Bjôrklund A, Hôkfelt T (eds) *Handbook of chemical Neuroanatomy. Vol.4 : GABA and neuropeptides in the CNS, Part1*, Elsevier, Amsterdam, pp 93-165.

Sofroniew M.V., A. Weindl, I. Schinko, R. Wetzstein (1979). The distribution of vasopressin, ocytocin and neurophysin in the guinea pig brain. *Cell. Tissue Res.* 196 : 367-384.

Sofroniew M.V. et W. Glasmann (1981). Golgi-like immunoperoxidase staining of hypothalamic magnocellular neurons that countain vasopressin, oxytocin or neurophysin in the rat. *Neurosciences* 6 : 619-643.

Sofroniew M.V. et U. Schrell (1981). Evidence for a direct projection from oxytocin and vasopressin in the hypothalamic paraventricular nucleus to the medulla oblongata : immunohistichemical visualization of both the horsradish peroxidase transported and the peptide produced by the same neurons. *Neurosci. Lett.* 19 : 257-263.

Sokol H.W., E.A. Zimmerman, W.H. Sawyer, A.G. Robinson (1976). The hypothalamc-neurohypophysial system of the rat: Localization and quantitation of neurophysin by light microscopic immunocytochemistry in normal rats and in Brattleboro rats deficient in vasopressin and a neurophysin. *J. Endocrinol* 98 : 1176-1188.

Spangelo B. L., R. M. MacLeod et P. C. Isakson (1990). Production of interleukin-6 by anterior pituitary cells in vitro. *Endoc.*, 126 : 582-586.

Stack J., A. Surprenant (1991). Dopamine actions on calcium currents, potassium currents and hormone release in rat melanotrophs. *J. Physiol.* 439-3738.

Sterba G., W. Naumann, G. Hoheisel (1980). Exohypothalamic axons of the classic neurosecretory system and their synapses. In: McConnel PS, Boer GJ, Romijn HJ, Van den Poll NE, Corner MA (Eds), *Adaptive Capabilities of the Nervous System. Progress in Brain Research*, Vol. 53, pp. 141-158. Elsevier, Amsterdam.

Stoeckel M.E., H.D. Dellman, A. Porte, C. Gertner (1971). The rostral zone of the intermediate lobe of the mouse hypophysis, a zone of particular concentration of corticotrophic cells. A light and electron microscopic study. *Z. Zellforsch.* 122 : 310-322.

Stoeckel M.E., H.D. Dellman, A. Porte, M.J. Klein, F. Stutinsky (1973a). corticotrophic cells in the rostral zone of the pars intermedia and in the adjacent neurohypophysis of the rat and mouse. An electron microscopic study. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 136 : 97-110.

Stoeckel M.E., J. Doerr-Schott, A. Porte, H.D. Dellman, M.P. Dubois (1973b). Immunohistochemical demonstration of corticotrophic cells concentrated in the rostral zone of the pars intermedia of the mouse hypophysis. *Experimentia (Basel)* 29 : 1289-1290.

Stoeckel, M.E., C. Hindelang-Gertner, H.D. Dellman, A. Porte et F. Stutinsky (1975). Subcellular localization of calcium in the mouse hypophysis I. Calcium distribution in the adeno- and neurohypophysis under normal conditions. *Cell Tissue Res.* 157 : 307-322.

Stoeckel M.E., G. Schmitt, C. Hindelang-Gertner, A. Porte (1979). Différentiation sécrétoire des lobes tubéral et intermédiaire de l'adénohypophyse de souris. *J. Physiol. Paris* 75 : 6b.

Stoeckel M.E., G. Schmitt, A. Porte (1981a). Fine structure and cytochemistry of the intermediate lobe of the mammalia pituitary gland under normal and

experimental conditions. In "peptides of the pars intermedia" (CIBA Found. Symp. 81° Pitman Medical London pp 101-127.

Stoeckel M.E., S. Schimchowitsch, S., J. C Garaud, G. Schmitt, H. Vaudry,, M.J. Klein, A. Porte (1983). Immunocytochemical evidence of intragranular acetylation of aMSH in the melanotrophic cells of the rabbit. *Cell. Tissue Res.* 230 : 511-515.

Stoeckel M.E., S. Schimchowitsch, S., J. C Garaud, G. Schmitt, H. Vaudry,, M.J. Klein, A. Porte (1985a). Immunocytochemical evidence for intragranular processing of pro-opiomelanocortin in the melanotropic cells of the rabbit. *Cell. Tissue Res.* 242 : 365-370.

Stoeckel M.E., M.J. Freund-Mercier, J.M Palacios, Ph. Richard, A. Porte. (1987). Autoradiographic localisation of binding sites for oxytocin and vasopressin in the rat kidney. *J. Endocrinol.* 113 : 179-182.

Stoeckel M.E., M. Tappaz, C. Hindelang, , C. Seweryn, A. Porte (1985b). Opposite effects of monosodium glutamate on the dopaminergic and GABAergic innervations of the median eminence and the intermediate lobe in the mouse. *Neurosc. Lett.* 56 : 249-255.

Stoeckel M.E., M.J. Freund-Mercier (1989). Autoradiographic demonstration of oxytocin-binding sites in the macula densa. *Am. J. Physiol.* 257 : F310-F314.

Stoeckel M.E., M.J. Freund-Mercier, P. Krémarik (1991). Localisation autoradiographique de récepteurs en microscopie photonique et électronique. Dans "Techniques en microscopie électronique. Cryométhodes, immunocytologie, autoradiographie, hybridation in situ", G.Morel (ed), Editions INSERM, pp : 329-338.

Stoeckel M.E., C. Hindelang, , M.J. Klein, M. Poissonier, J.M. Felix (1993). Early expression of the glycoprotein hormone alpha-subunit in the pars tuberalis of the rat pituitary gland during ontogenesis. *Neuroendocrinology.* 58 : 616-624.

Strand F.L., K.J. Rose, L.A. Zuccaralli, J. Kum, E.E. Alvers, F.J. Antnawich, L.Y. Garrett (1991). Neuropeptide hormones as neurotrophic factors. *Physiol. Rev.* 71 : 1017-1046.

Strand F.L., L.A. Zuccaralli, K.A. Williams, S.J. Lee, T.S. Lee, F.J. Antnawich, S.E. Alves (1993). Melanotropins as growth factors. *Ann. NY Acad. Sci.* 680 : 29-50.

Summerlee A.J.S. (1981). Extracellular recordings from oxytocin neurones during the expulsive phase of birth in unanaesthetized rats. *J. Physiol. Lond* 321 : 1-9.

Swaab D.F., F. Nijveldt, C.W. Pool (1975a). Distribution of oxytocin and vasopressin in the rat supraoptic and paraventricular nucleus. *J. Endocrinol.* 67 : 461-462.

Swaab D.F., C.W. Pool, F. Nijveldt, (1975b). Immunofluorescence of vasopressin and oxytocin in the rat hypothalamo-neurohypophysial system. *J. neural transm.* 36 : 195-215.

Swanson L.W., P.E. Sawchenko, A. Berod, B.K Hartman, K.B. Helle, D.E. Van Orden (1981). An immunohistochemical study of the organization of catecholaminergic cells and terminal fields in the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 196 : 271-285.

Takeuchi M. (2001). The mammalian Pars intermedia- Structure and function. *Zoological Science* 18 :133-144.

Taleisnik S., M.E. Celis, M.E. Tomatis (1973). Release of melanocyte stimulating hormone by Several Stimuli through the activation of a 5- hydroxytryptamine mediated inhibitory neuronal mechanism. *Neuroendocrinology* 13 : 327-338.

Theodosis D.T., D.A. Poulain, J.D. Vincent (1981). Possible morphological bases for synchronisation of neuronal firing in the rat supraoptic nucleus during lactation. *Neurosciences.* 6 : 919-929.

Theodosis D.T., D.A. Poulain (1984). Evidence for structural plasticity in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamus in relation to gestation and lactation. *Neurosciences.* 11 : 183-193.

Tilders F.J.H., A.H. Mulder, P.G. Smelik (1975). On the presence of • MSH-release inhibiting system in the rat neurointermediate lobe. *Neuroendocrinology* 18 : 125-130.

Tomiko S.A, P.S. Taraskevich, W.W. Douglas (1983). GABA acts directly on cells of pituitary pars intermedia to alter hormone output. *Nature* 301 : 706-707.

Tonon M.C., O. Bosler, M.E. Stoeckel, G. Pelletier, M. Tappaz, H. Vaudry (1992). Colocalization of tyrosine hydroxylase, GABA and neuropeptide Y within axon terminals innervating the intermediate lobe of the frog *Rana ridibunda*. *J. Comp. Neurol.* 319 : 599-605.

Trembleau A., D. Roche et A. Calas (1993). Combination of non-radioactive and radioactive in situ hybridization with immunohistochemistry. A new method allowing the simultaneous detection of two mRNAs and one antigen in the same brain tissue section. In *Methodes pratiques A. CALAS et Coll. (Eds) Editions INSERM*, 489-498.

Trouslard J., J. P. Loeffler, B. A. Demeineix et P. Feldz (1989). Thyrotropin-releasing hormone stimulates porcine melanotrope cells in primary culture. *Neurosc. Lett.* 98 : 234-239.

Turner J.D., A.B. Keith, A.I. Smith, J.R. McDermott, J.A. Biggins, J.A. Edwardson (1983). Studies on the characterization of a α -MSH-like immunoreactivity in rat hypothalamus. *Reg. Pept.* 5 : 283-293.

Tweedle C.D. et G.I. Hatton (1977). Ultrastructural changes in rat hypothalamic neurosecretory cells and their associated glia during minimal dehydration and rehydration. *Cell Tissue Res.* 181 : 59-72.

Tweedle C.D., G.I. Hatton (1980). Evidence for dynamic interactions between pituicytes and neurosecretory axons in the rat. *Neuroscience* 5 : 661-667.

Tweedle C.D., G.I. Hatton (1980). Glial cell enclosure of neurosecretory endings in the neurohypophysis of the rat. *Brain Res.* 192 : 555-559.

Tweedle C.D.(1983). Ultrastructural manifestations of increased release in the hypophyses. In : the hypophyses : Structure, function and control. Vol. 60 in Progress in Brain Research, Eds., B. A. Cross and G. Leng, Amsterdam : 259-272.

Tweedle C.D., K. G. Smithson et G.I. Hatton (1988). Evidence for dendritic and axonal hormone release in the rat hypothalamo-neurohypophysial system. Soc. Neurosci. Abstr.14 : 1176-1176.

Vandesande F., K. Diericksc (1975). Identification of the vasopressin producing and of the oxytocin producing neurons in the hypothalamic large neurosecretory system of the rat. Cell. Tissue Res. 164 : 153-162.

Vankelecom H., P. Carmeliet, J. Van Damme, A. Billiau et C. Deneff (1989). Production of interleukin-6 by folliculo-stellate cells of the anterior pituitary gland in a histiotypic cell aggregate culture system. Neuroendoc., 49 : 102-106.

Van Tol H.H.M., D.T.H.A.M. Voorhuis et J.P.H. Burbach (1987). Oxytocin gene expression in discrete hypothalamic magnocellular cell groups is stimulated by prolonged salt loading. Endocrinology 120 : 71-76.

Van Wimerama Greidanus, T.B., T.J. Thody, H. Verspaget, G.A. de Rotte, H.J.H. Goedemans, G. Croiset et J.M. Van Ree (1979). Effects of morphine and β -endorphine on basal and elevated plasma levels of α -MSH and vasopressin. Life Sci. 24 : 579-586.

Verney E.B. (1947). The antidiuretic hormone and the factors which affect its release. Proc. Roy. Soc. Lond. B 135 : 25-106.

Vincent S.R, T. Hokfelt, J.Y. Xu (1982). GABA neuron systems in hypothalamus and the pituitary gland: Immunocytochemical demonstration using antibodies against glutamate decarboxylase. Neuroendocrinology 34 : 117-125.

Vinson G.P., B.J. Whitehouse, A. Dell, T. Etienne, H.R. Morris (1980). Characterization of an adrenal zona glomerulosa-stimulating component of posterior pituitary extracts as α MSH. Nature 284 : 464-467.

Vuillez P., S. Carbajo-Perez, M.E. Stoeckel (1987). Colocalization of GABA and tyrosine hydroxylase immunoreactivities in the axons innervating the neurointermediate lobe of the rat pituitary: An ultrastructural immunogold study. *Neurosci. Lett.* 79 : 53-58.

Walker J.M., L.H. Akil, S.J. Watson (1980). Evidence for homologous actions of proopiocortin products. *Science* 210 : 1247-1249.

Watson S.J., D.J. Barchas, C.H. Li (1977). b-lipotropin: localization of cells and axons in rat brain by immunocytochemistry. *Proc. Natl. Accad. Sci. USA* 74 : 5155-5157.

Watson S.J., H. Akil, W. Fischli, A. Goldstein, E. Zimmerman, G. Nilaver, T.B Van Wimersma Greidanus (1982). Dynorphin and vasopressin : common localization in magnocellular neurons. *Science* 216 : 85-87.

Weman B., A. Nobin (1973). The pars intermedia of the Mink. *Mustela vison* . Fluorescence, light and electron microscopical studies. *Z. Zell. Forsch. Mikrosk. Anat.* 143 : 313-327.

Westlund K.N., G.V. Childs (1982). Localization of serotonin fibres in the rat adenohypophysis. *Endocrinology* 111 : 1761-1763.

Whitnall M.H., S. Key, Y. Ben Barak, K. Ozato, Gainer (1985). Neurophysin in the hypothalamo-neurohypophysial system. II Immunocytochemical studies of the ontogeny of oxytocinergic and vasopressinergic neurons. *J. neurosci.* 5 : 98-109.

Wiegand S.J., J.L. Price (1980). Cells of origin of the afferent fibers to the median eminence in the rat. *J. Comp. Neurol.* 192 : 1-9.

Williams P.J., B.A. Mc Vicar, Q. Pittman (1990). Synaptic modulation by dopamine of calcium currents in rat pars intermedia. *J. Neurosc.* 10 : 757-763.

Wittkowski W. (1986). Pituicytes. In *Development, Morphology and Regional Specialization of Astrocytes*, Vol. 1 in *Astrocytes*, Eds. S. Fedoroff and Vernadakis, Academic Press, London : 173-208.

Wittkowski W. (1998). Tanycytes and pituicytes : Morphological and functional aspects of neuroglial interaction. *Microsc. Res. Tech.* 41 (1) : 29-42.

Wu C. M., C. L. Shen (1994). The distribution of vasopressinergic and oxytocinergic neurons in the CNS of the gerbil. *Zoological studies.* 33(2) : 114-125.

Young W.S. (1986). Corticotropin-releasing factor mRNA in the hypothalamus is affected differently by drinking saline and by dehydration . *Febs Letters* 208 : 158-162.

Young W.S., M. Warden, E. Mezey (1987). Tyrosine hydroxylase mRNA is increased by hyperosmotic stimuli in the paraventricular and supraoptic nuclei. *Neuroendocrinology* 46 : 439-444.

Yoshimura F., T. Soji, S. Sato, M. Yokoyama (1977). Development and differentiation of rat pituitary follicular cells under normal and some experimental conditions with special reference to an interpretation of renewal cell system. *Endocrinol. Jpn.* 24 : 435-449.

Zerbe R.L., M. Palkovits (1984). Changes in the vasopressin content of discrete brain regions in response to stimuli for vasopressin secretion. *Neuroendocrinology* 38 : 285-289.

Zhou A., B.T. Bloomquist, R.E. Mains (1993). The prohormone convertases PC1 and PC2 mediate distinct endoproteolytic cleavages in a strict temporal order during POMC biosynthesis processing. *J. Biol. Chem.* 268 : 1763-1769.

Zimmerman E. A., J.L. Antunes, P.W. Carmel, R. Defendini (1977). Large neurosecretory pathways in the monkey. Immunohistochemical studies of the normal and lesioned hypothalamus using antibodies to oxytocin, vasopressin and neurophysin. *Trans. Am. Neurol. Assoc.* 104 : 1-4.

Zimmerman E. A., M. Stillman, L. D. Recht, J. Michaels et G. Nilaver (1978). The magnocellular neurosecretory system : pathways containing oxytocin, vasopressin and neurophysins. *Colloque int. Natn. Rech.* 280 : 375-389.

Zing H. H., D. Lefebvre et G. Almazan (1986). Regulation of vasopressin gene expression in rat hypothalamic neurons. *J. Biol. Chem.* 261 : 1256-1299.

RESUME

Alors que nos connaissances concernant la régulation de l'équilibre hydrominéral chez les animaux vivant dans les zones tempérées sont exhaustives, celles concernant les espèces vivant dans les milieux désertiques restent encore fragmentaires. Le présent travail porte sur l'étude du lobe intermédiaire de l'hypophyse et du système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire, par des approches immunocytochimique et ultrastructurale chez un rongeur des zones désertiques, la gerbille (*Gerbillus pyramidum*) dans des conditions d'hydratation et de déshydratation. L'ensemble des données obtenues indiquent que :

- le LI de l'hypophyse présente des modifications morphofonctionnelles des cellules mélanotropes et des CFS au cours des variations saisonnières et dans des conditions expérimentales d'hydratation et de déshydratation des animaux. Les cellules mélanotropes seraient manifestement très actives en hiver et présentent un repos relatif en été. Les modifications ultrastructurales saisonnières du LI de gerbilles semblent étroitement liées aux variations hygrométriques dans le biotope naturel de l'animal, puisque la déshydratation expérimentale affecte également l'activité sécrétoire des cellules mélanotropes du LI, alors que l'hydratation y provoque une stimulation. Ces observations suggèrent fortement l'implication du LI dans la régulation du métabolisme hydrominéral chez la gerbille.

- Dans les noyaux hypothalamiques de gerbille, les deux populations de neurones VP et OT présentent une différence dans leur distribution spatiale par rapport à celle habituellement décrite chez les autres mammifères, avec cependant une prédominance des neurones vasopressinergiques. D'autre part, les résultats de l'analyse immunocytochimique et ultrastructurale du système neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire, plaident en faveur de la capacité de la gerbille à maintenir un stock neurohypophysaire relativement élevé de VP mais aussi d'OT, pendant une longue durée de restriction hydrique, impliquant sans doute un taux de biosynthèse hormonale hypothalamique important compensant ainsi systématiquement le processus de sécrétion. Il pourrait s'agir là d'une adaptation du système hypothalamo-neurohypophysaire de la gerbille à une stimulation osmotique chronique liée à la pénurie en eau qui sévit dans les biotopes désertiques sur de longues périodes.

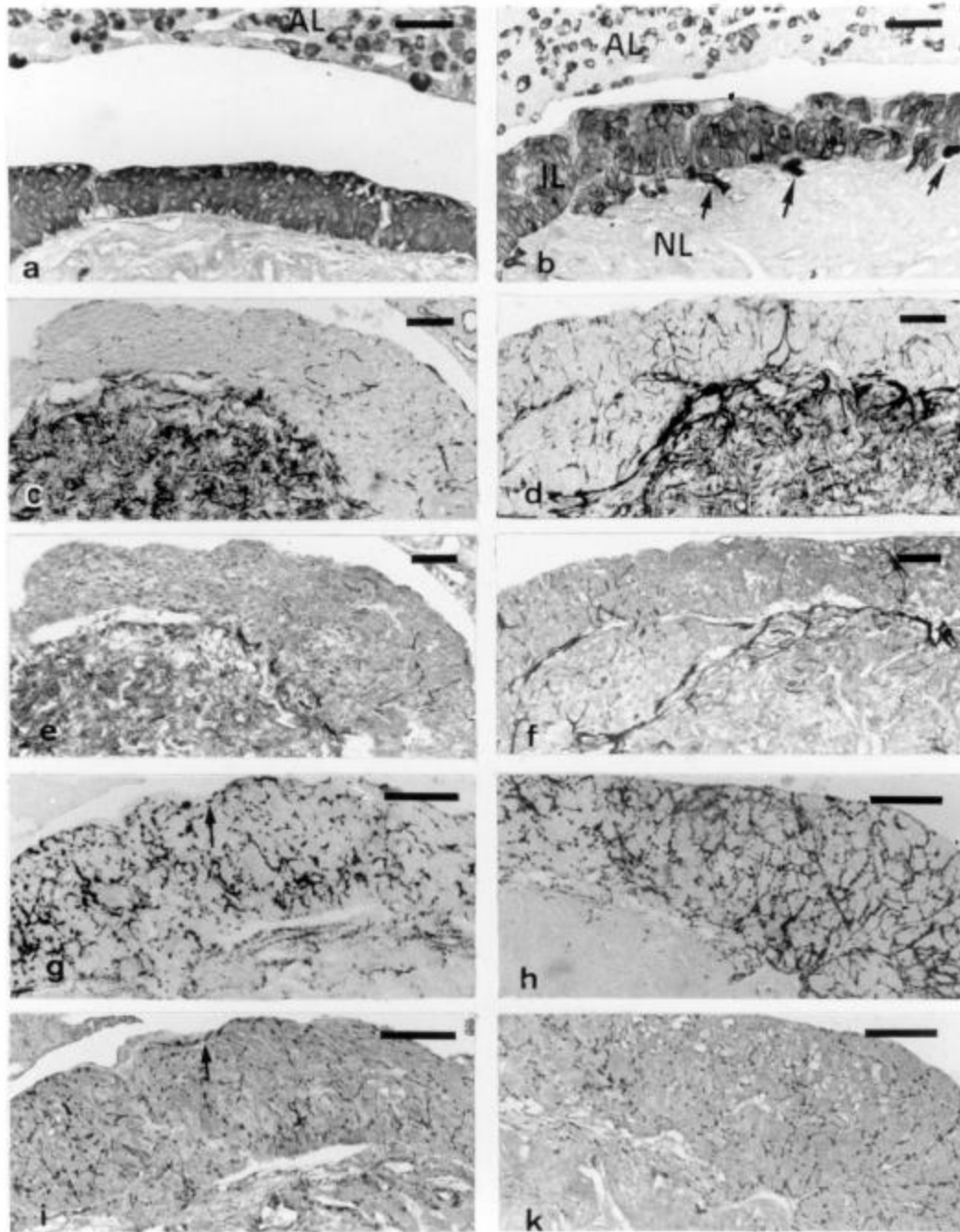


Fig. 1 : Immunomarquage à la peroxydase de coupes semi-fines sagittales d'hypophyse de gerbilles dans des conditions de déshydratation (a, c, e, g, i) et d'hydratation (b, d, f, h, k).

- a, b : L'immunoréactivité pour l' α -MSH des cellules mélanotropes du lobe intermédiaire (LI) est intense et uniformément distribuée dans

l'ensemble du cytoplasme chez la gerbille déshydratée (a) alors qu'elle apparaît moins intense et marginale chez la gerbille hydratée (b). Noter la présence en (b) de cellules allongées, fortement marquées (flèches) à la périphérie du lobe nerveux (LN). Dans le lobe antérieur (LA) les cellules corticotropes sont également marquées.

- c, d : L'immunoréactivité à la vimentine des CFS est très faible et punctiforme chez l'animal déshydraté (c). La gerbille hydratée par contre, montre une intense immunoréactivité à la vimentine portée par des prolongements plus ou moins épais entourant les lobules et d'autres plus fins, répartis dans les corps des lobules (d). Noter la présence d'éléments fortement immunoréactifs dans le LN adjacent.

-e, f : L'immunoréactivité à la GFAP est nettement atténuée dans le LI de gerbille déshydratée (e), par rapport au LI de gerbille hydratée qui montre de multiples prolongements épais de CFS fortement marqués par l'anticorps anti-GFAP (f).

-g, k : L'immunoréactivité à la TH révèle l'innervation dopaminergique uniformément répartie à travers le LI (g et h) et le marquage avec l'anticorps anti-GAD des coupes (i) et (k), respectivement adjacentes à (g) et (h) révèle l'innervation GABAergique du LI et montre une distribution similaire aux éléments TH positifs ; Les flèches en (g) et (i) indiquent une superposition des marquages.

Barres de calibration : 50 μm .

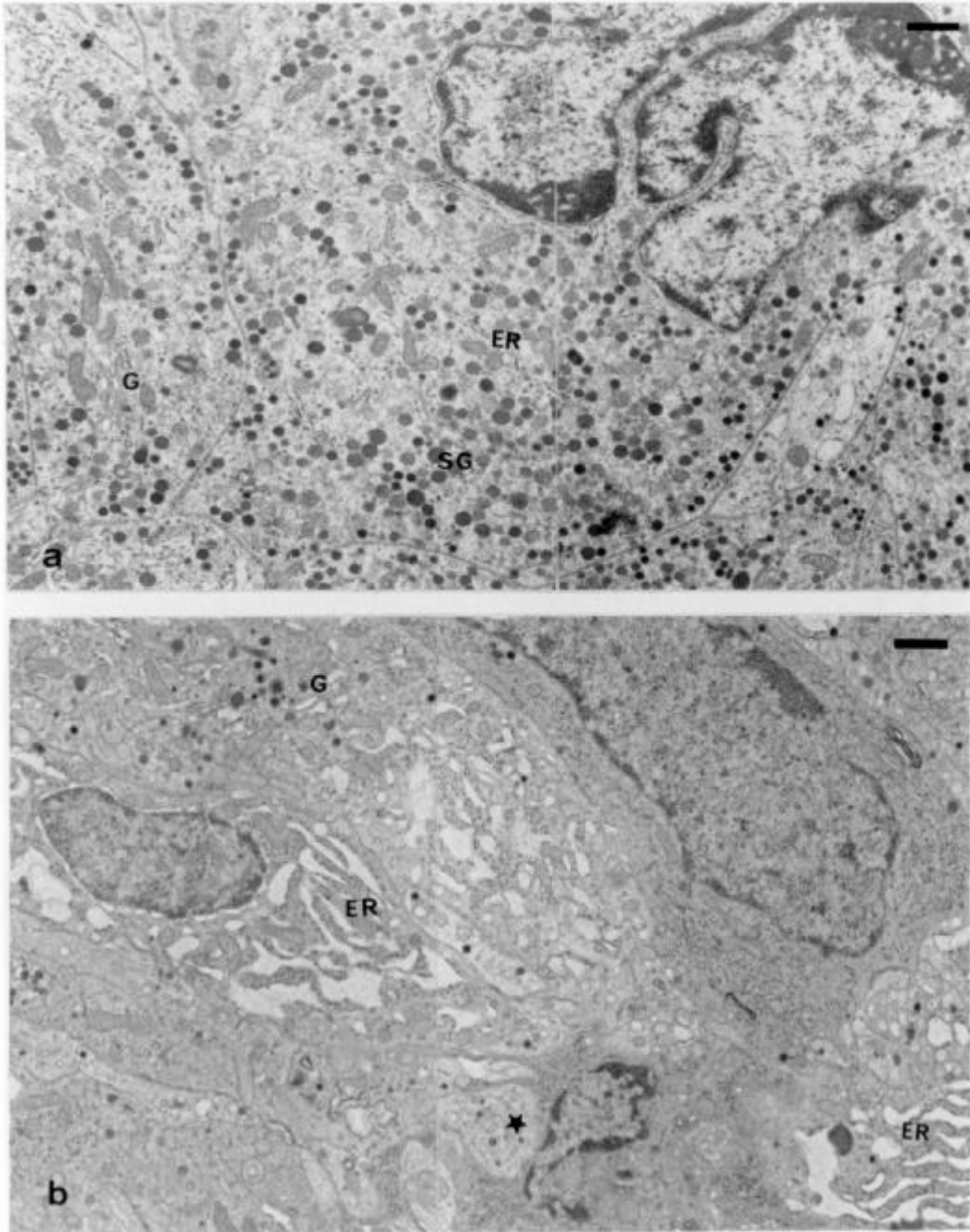


Fig. 2 : Aspect ultrastructural des cellules mélanotropes de gerbilles capturées dans leur biotope naturel au cours de deux périodes saisonnières différentes, l'été et l'hiver.

- a : Aspect typique en été. Les cellules contiennent de nombreuses vésicules sécrétoires de densité variable, un ergastoplasme très diffus (ER) et un appareil de Golgi peu développé (G).

- b : En hiver, le cytoplasme des cellules mélanotropes est très pauvre en vésicules sécrétoires, et présente un ergastoplasme bien développé avec des citernes très dilatées et souvent vésiculaires. Des vésicules sécrétoires denses nouvellement formées sont fréquemment observées dans les zones golgiennes.

Barres de calibration : 1 μm .

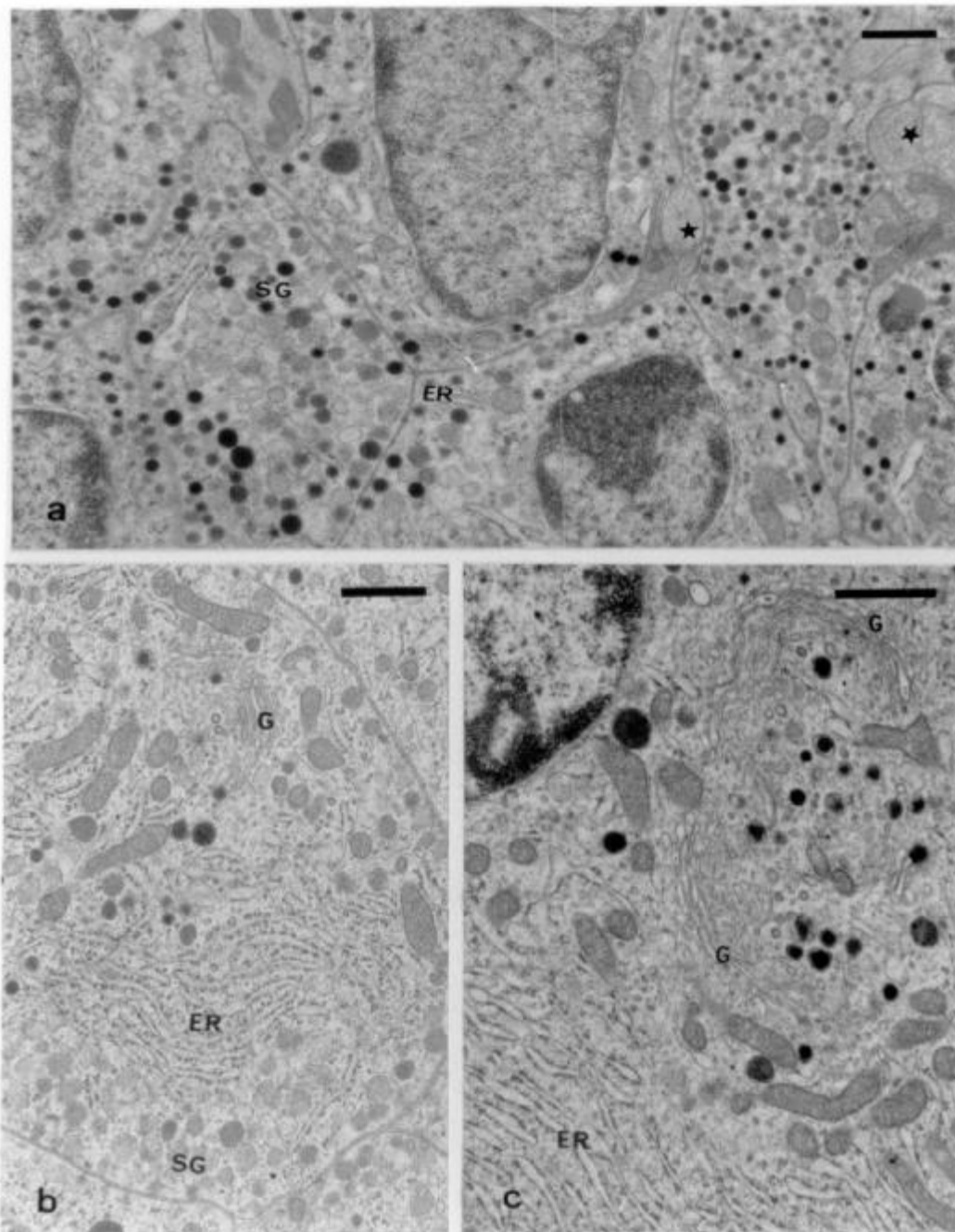


Fig. 3 : Effets de la déshydratation (a) et de l'hydratation (b, c) sur les cellules mélanotropes.

Les cellules mélanotropes de gerbilles maintenues dans des conditions de déshydratation (a) et d'hydratation (b, c) montrent les mêmes caractéristiques ultrastructurales que chez les animaux capturés en été et en hiver dans leur biotope (voir fig. 2, a et b respectivement). Noter, dans (a), l'hétérogénéité du matériel sécrétoire, notamment l'abondance des vésicules sécrétoires claires matures. Des axones (aster) associés aux

prolongements de cellules folliculostellaires (CFS) sont observés. Dans (b) et (c), noter surtout la prolifération des structures ergastoplasmiques et la présence de jeunes grains de sécrétion denses dans les zones golgiennes. On note également l'abondance des dycytosomes et l'association des mitochondries avec l'ergastoplasme qui traduit une intense activité de synthèse.

SG : Granule sécrétoire

G :Appareil de Golgi

R : Ergastoplasme

Barre de calibration : 1mm.

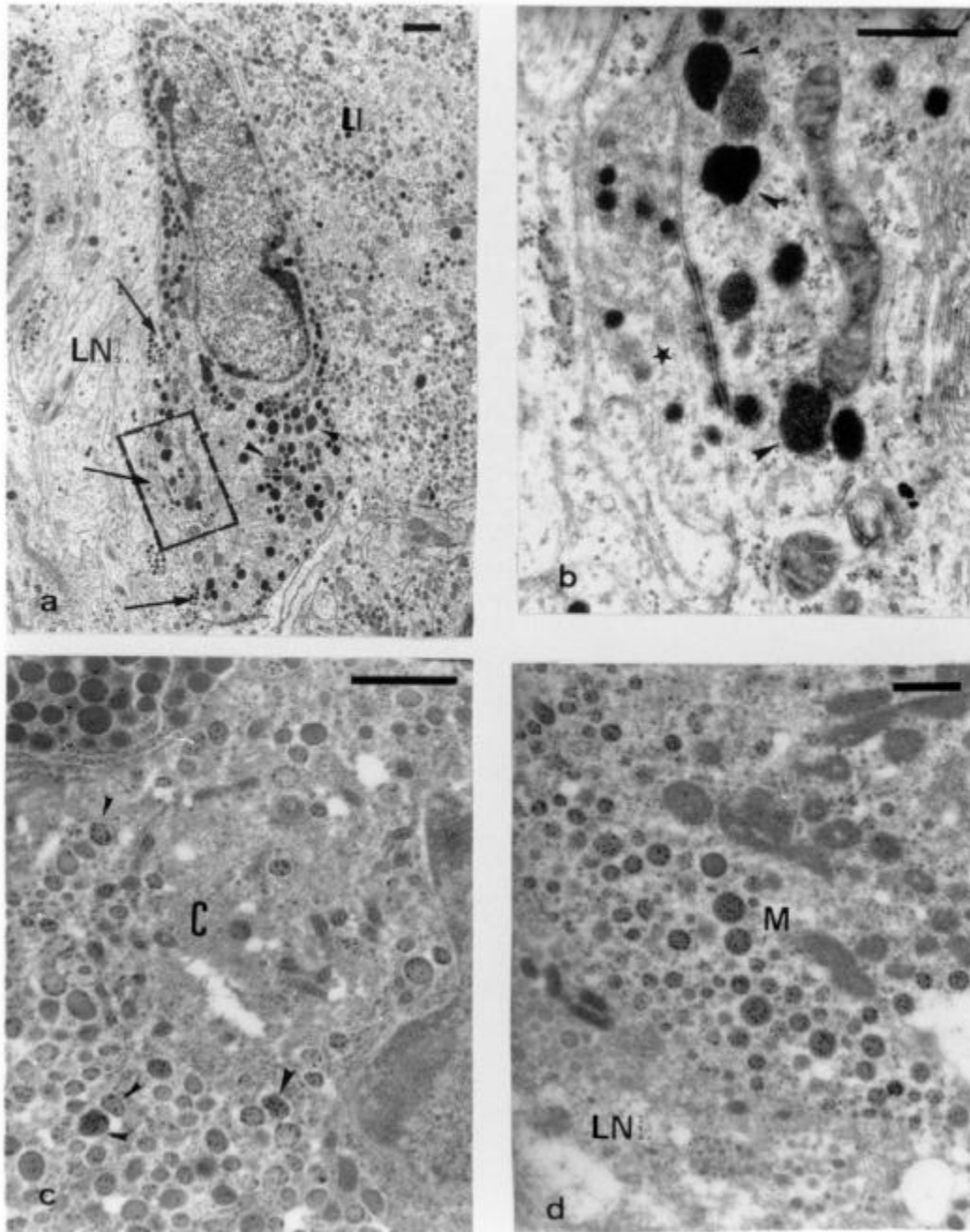


Fig. 4 :

- a, b : Aspect ultrastructural du deuxième type cellulaire glandulaire du LI (droite) en contact avec le LN (gauche) dans la zone où la membrane basale séparant les deux lobes est absente. Les flèches en (a), indiquent les contacts synaptiques entre ces cellules et des axones contenant des vésicules à core dense. (b) détail de l'encart en (a) qui représente l'une des synapses neuro-glandulaires; l'aster (*) indique le bouton axonal présynaptique ; noter l'irrégularité de la forme des granules sécrétoires de

la cellule glandulaire (têtes de flèches) et la présence d'un appareil de Golgi (G) avec de larges saccules et une longue mitochondrie (M) à crêtes transversales .

Barre de calibration : a : 1 mm ; b : 0,5 mm.

- c, d : Marquage immunocytochimique en microscopie électronique à l'or colloïdal de l' α -MSH dans le LA (c) et dans le LI (d). (Particules d'or de 5 nm).

Dans le LA (c), les particules d'or sont concentrées sur les granules sécrétoires des cellules corticotropes (C) ; la taille et la forme des granules marqués (têtes de flèches) sont comparables à ceux contenus dans le deuxième type cellulaire du LI observé en (a), et nettement différents des petits granules ronds des cellules mélanotropes (M) (d) dans le LI .

Barres de calibration : 0,5 mm.

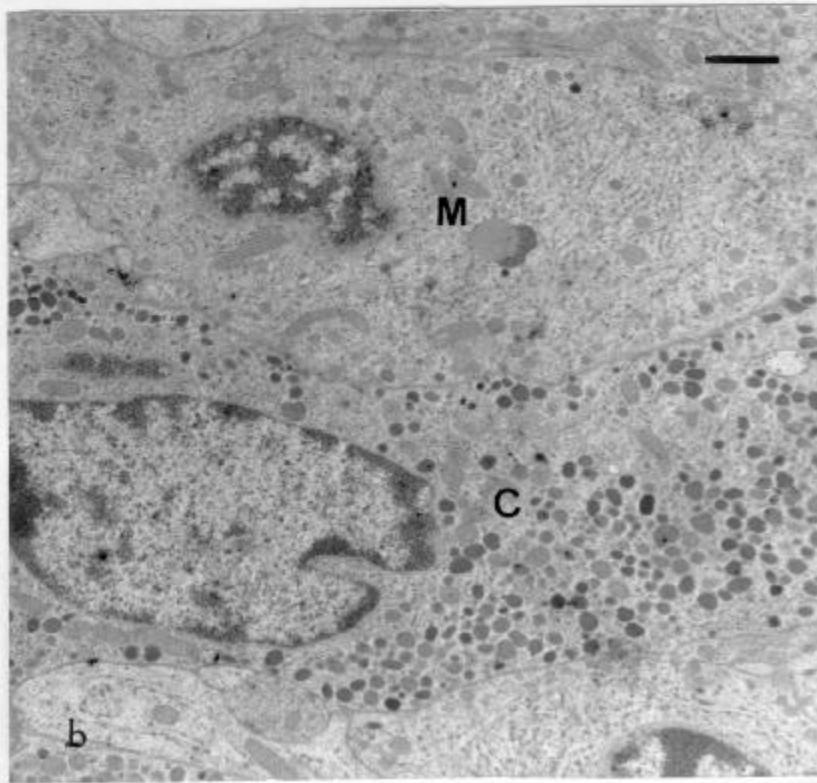
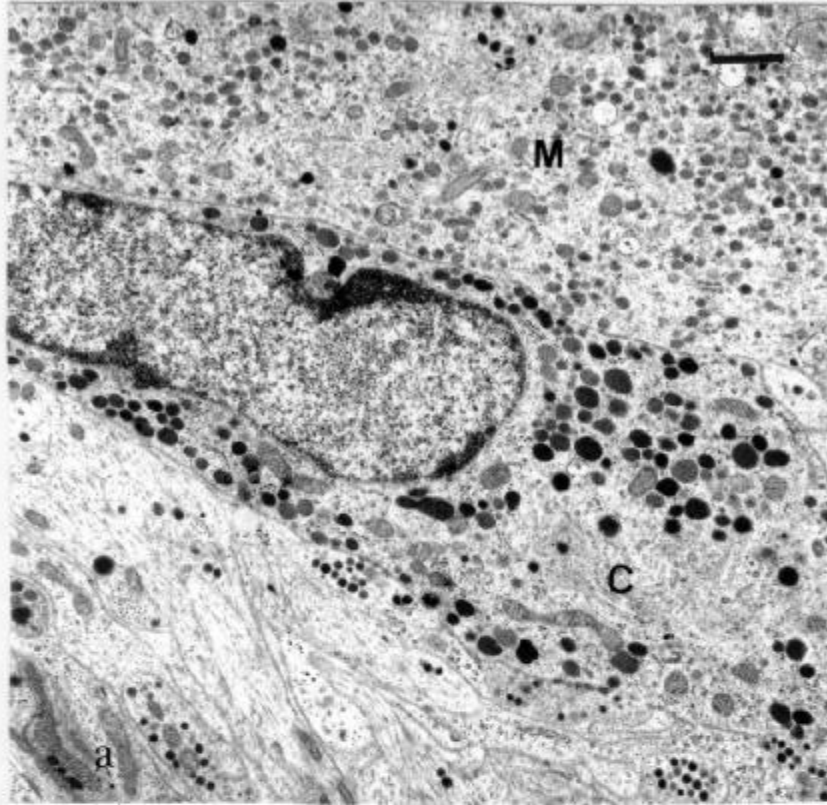


Fig. 5 (a, b) : Aspect du deuxième type cellulaire glandulaire du LI dans des conditions de déshydratation (a) et d'hydratation (b). Aucune variation n'est décelable dans les deux conditions expérimentales.

M : cellule mélanotrope

C : cellule corticotrope

Barres de calibration : 1 μm .

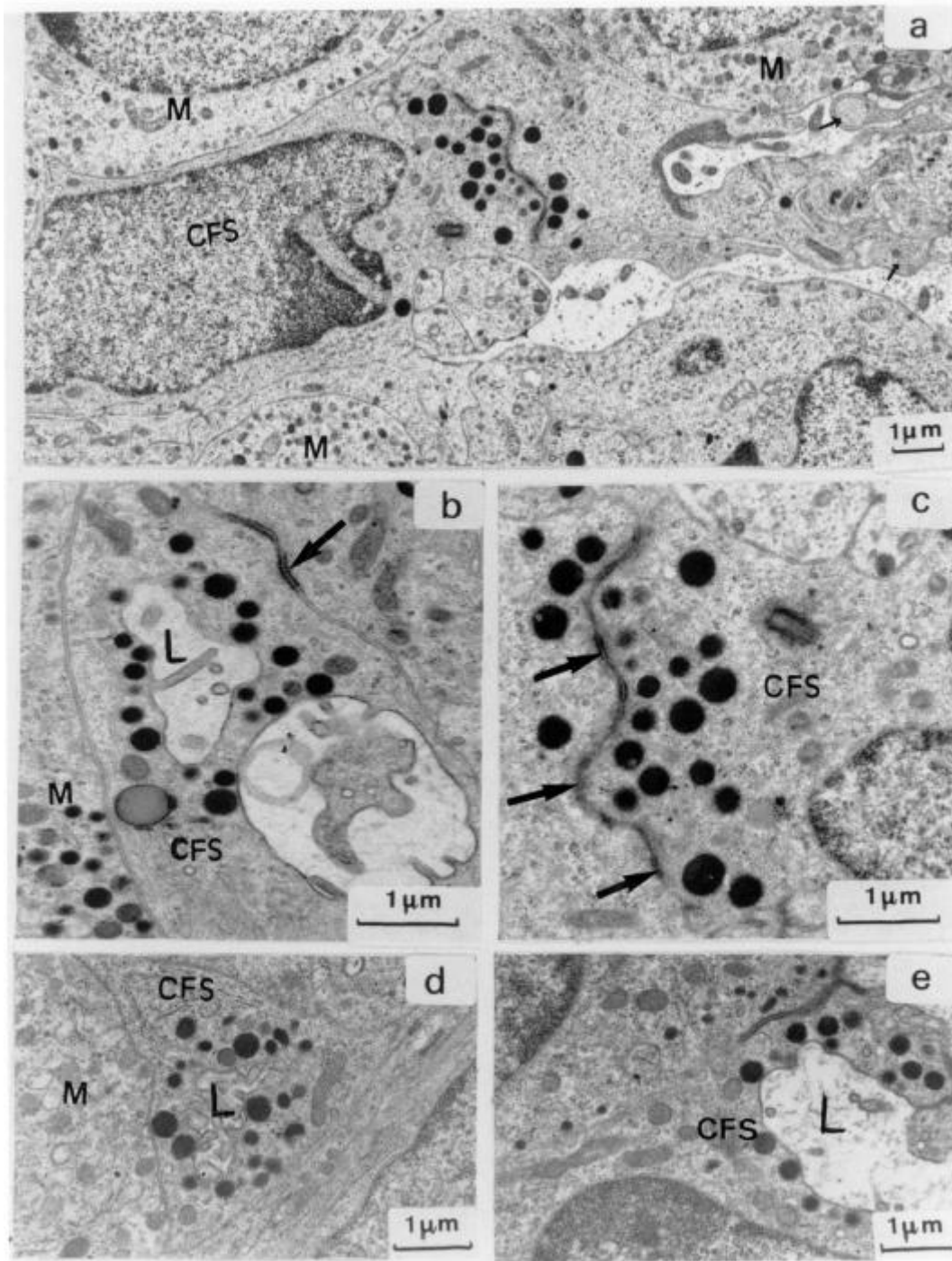


Fig. 6 (a, b, c, d, e) : Aspect ultrastructural des cellules folliculostellaires (CFS).

- a : Coupe tangentielle de la paroi du follicule montrant des complexes de jonction (flèches) entre les cellules folliculostellaires et les granules denses à disposition apicale qui sont absents du reste du cytoplasme.

- c : Détail au niveau des complexes de jonction observés en (a)

- b, d, e : Cellules folliculostellaires contenant de gros grains denses aux électrons à concentration apicale proches de la lumière du follicule (L).

M : cellule mélanotrope.

CFS : cellule folliculostellaire

Barres de calibration : 1mm.

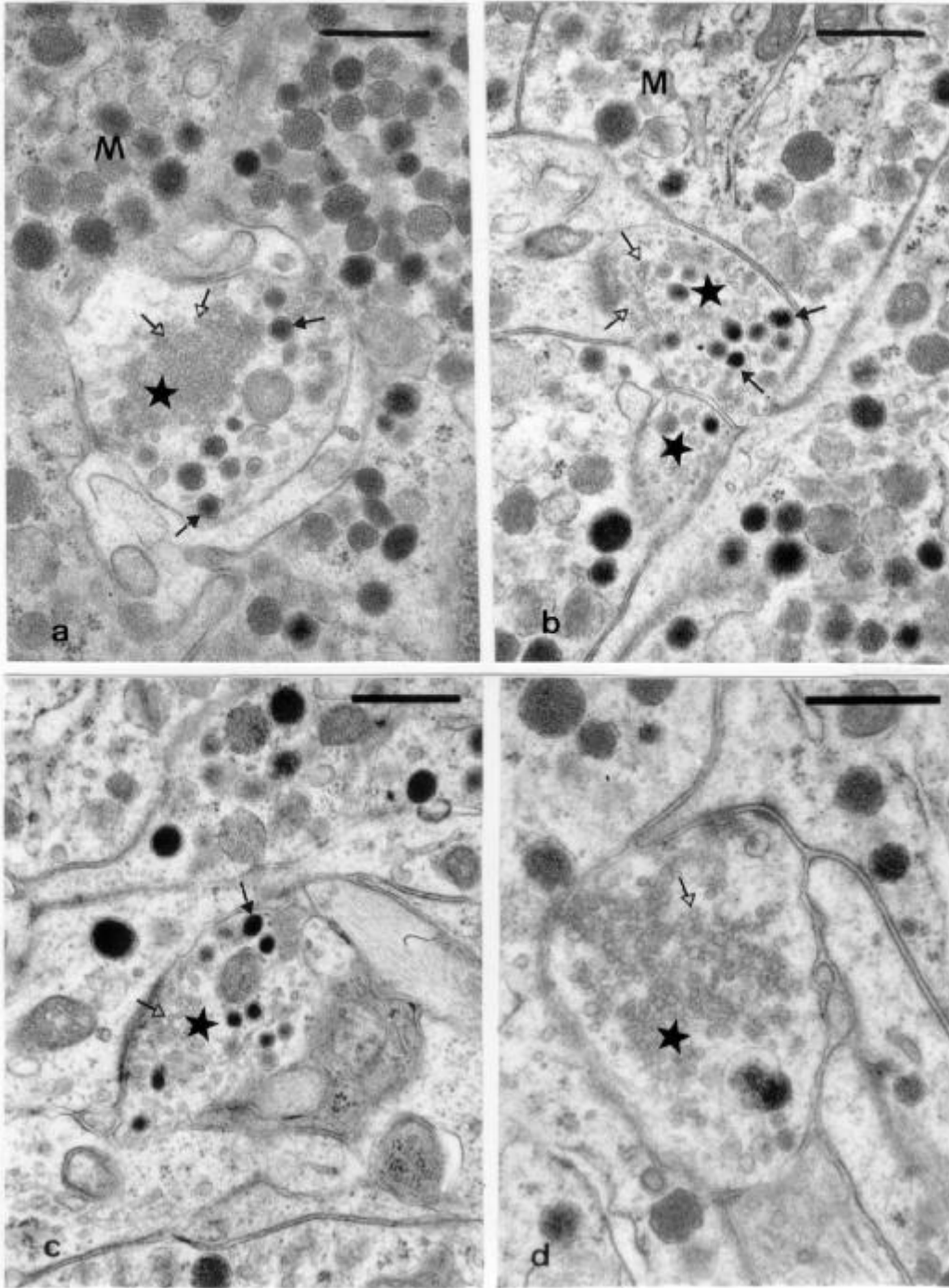


Fig. 7 : a, b, c, d : Aspect ultrastructural de l'innervation du LI de gerbille. Noter la présence de contacts synaptiques entre les cellules mélanotropes (M) et des axones contenant des vésicules à coeur dense (a, b, c) et un autre axone qui en est dépourvu (d) ; les asters indiquent les axones ; les flèches à tête noire désignent les vésicules à coeur dense et les flèches à tête blanche, les microvésicules. Barres de calibration : 0,5 μ m.

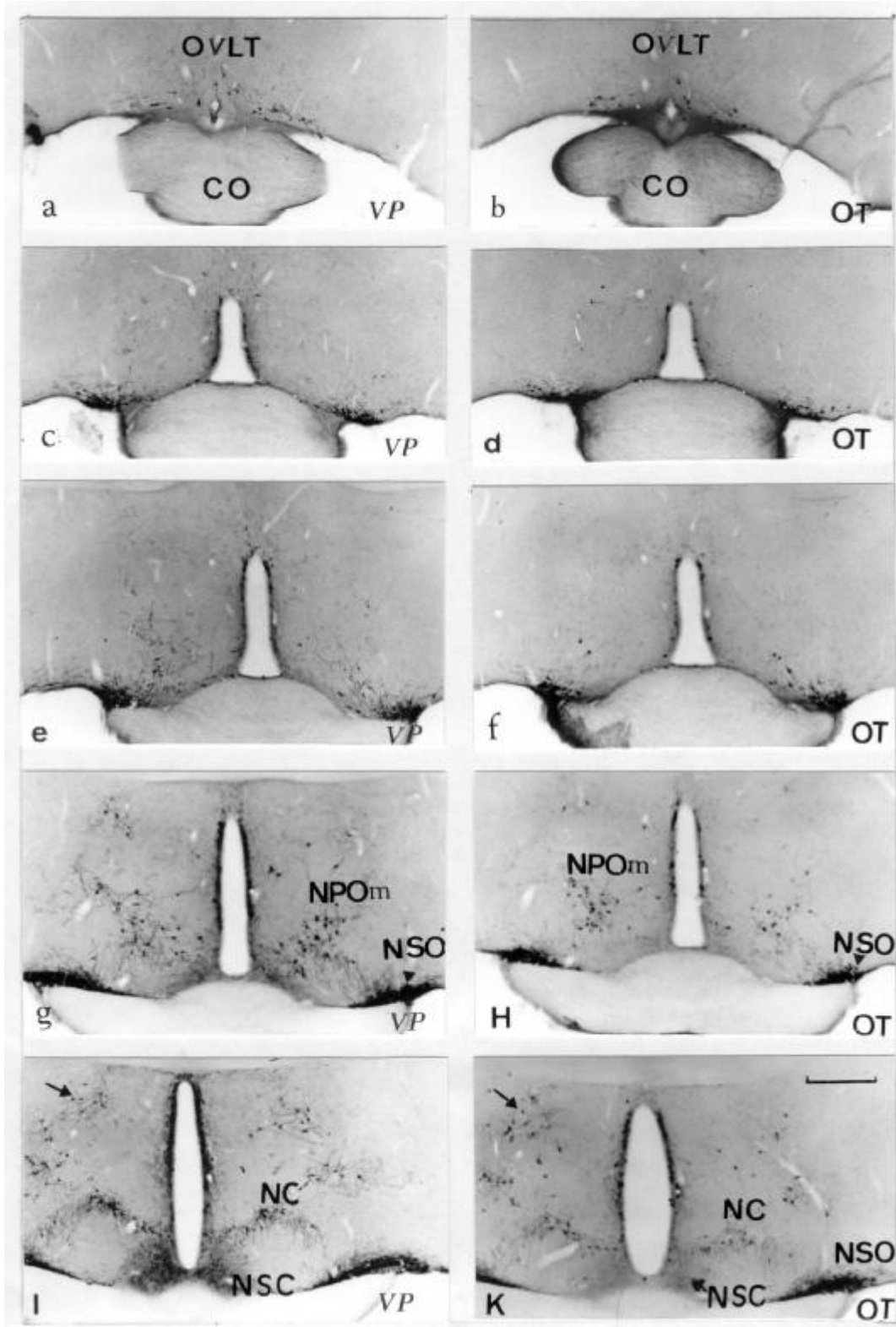


Fig. 8 : Distribution des neurones immunoréactifs pour la vasopressine (VP) (a, c, e, g, i) et l'ocytocine (OT) (b, d, f, h, k) dans l'hypothalamus de gerbille. Coupes frontales sériées au vibratome de 50 μm d'épaisseur. Les anticorps anti-VP et anti OT sont appliqués sur des coupes adjacentes.

- a et b : Neurones magnocellulaires VP et OT épars observés dans la zone préoptique basale, à proximité de l'organe vasculaire de la lame terminale (OVLT).

- c et d : Début des noyaux supraoptiques (NSO).

e à k : Dans la partie antérieure des NSO, le nombre de neurones augmentent progressivement pour former un groupe dense localisé dorsolatéralement par rapport au chiasma optique (CO). Dans cette partie, les neurones à VP (e, g, i) et à OT (f, H, k) sont codistribués dans des proportions équivalentes. Noter dans la partie antérieure de l'hypothalamus, la présence d'une importante population de neurones magnocellulaires VP (g, i) et OT (H, k) formant les noyaux accessoires tels que le noyau préoptique médian (NPOM), le noyau circulaire (NC) et un groupe de neurones localisés dorso-latéralement (flèche)(i). Noter également, l'immunoréactivité VP des neurones parvocellulaires dans le noyau suprachiasmatique (NSC) (i) et l'absence du marquage avec l'anticorps anti-OT (k), ce qui est en faveur de la spécificité des anticorps utilisés.

Barre de calibration : 100 μm .

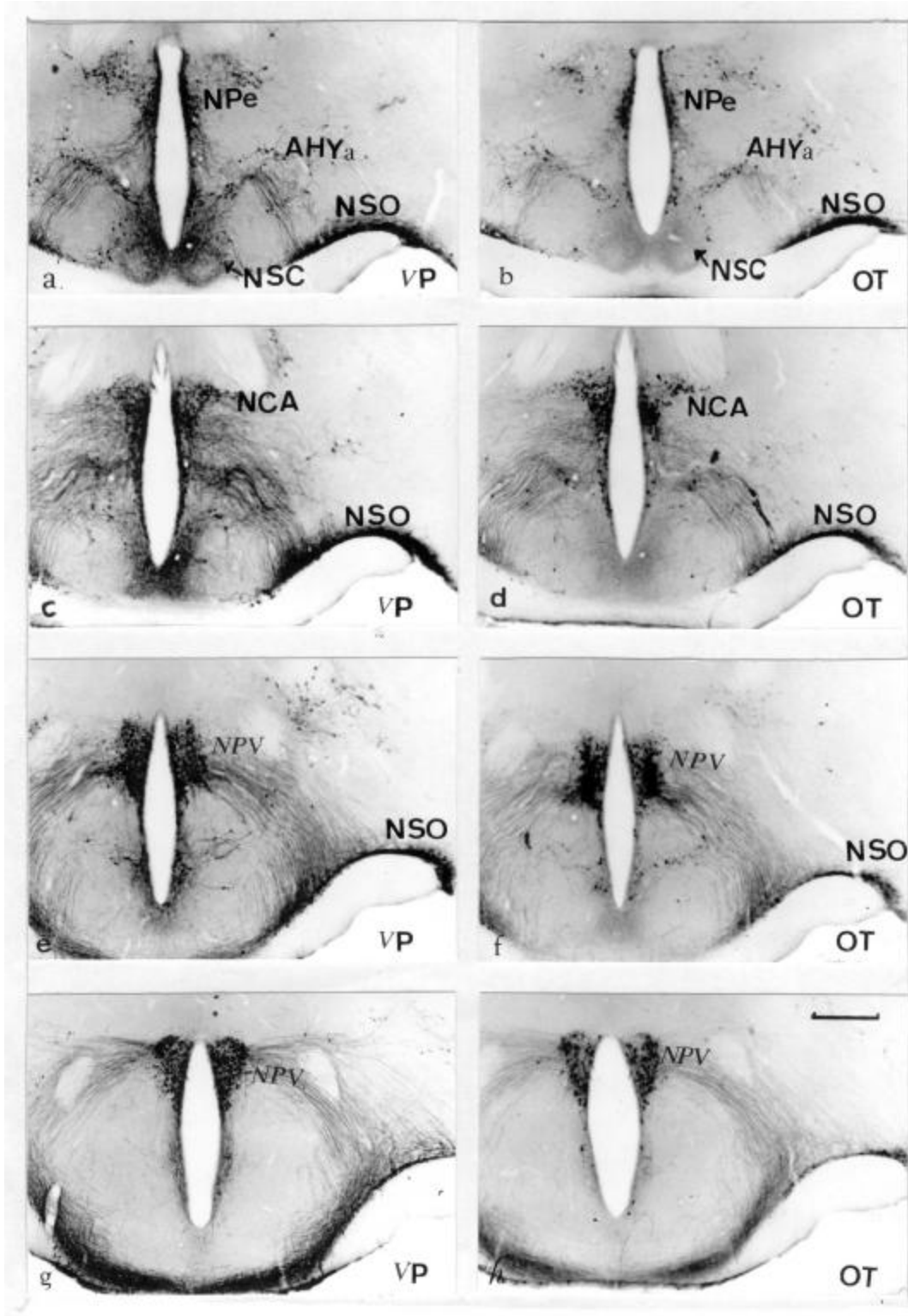


Fig. 9 : Distribution des neurones immunoréactifs pour la vasopressine (VP) (a, c, e, g) et l'ocytocine (OT) (b, d, f, h) dans l'hypothalamus de gerbille.

- a à d : Dans sa partie médiane, le noyau supraoptique (NSO) atteint sa taille maximale. La région du NSO marquée par l'anticorps anti-VP (a, c) est plus épaisse et plus étendue et s'étale beaucoup plus latéralement que celle marquée par l'anticorps anti-OT (b, d).

La partie magnocellulaire du noyau paraventriculaire (NPV) commence dans l'hypothalamus antérieur par un noyau allongé, le noyau périventriculaire (Npe) qui montre une immunoréactivité positive aussi bien pour la VP (a) que pour l'OT (b). La partie rostrale latérale du NPV correspond au noyau commissural antérieur (NCA) de Peterson. Elle présente un mélange de neurones VP (a, c) et OT (b, d). En (a), les neurones VP sont plus nombreux que les neurones OT en (b). Noter la présence dans l'aire hypothalamique antérieure (AHYa), de nombreux groupes accessoires de neurones VP (a, c) et OT (b, d).

- e à h : Dans le NPV médian, correspondant au NPV classiquement défini, les neurones VP (e, g) et OT (f, h) coexistent dans des proportions comparables. De cette partie du NPV part un important faisceau latéral d'axones, s'intégrant dans le tractus neurosécrétoire hypothalamo-neurohypophysaire.

Noter dans le noyau accessoire périfornical antérieur (flèche), la présence d'un groupe de neurones immunoréactifs pour la VP (c et e), alors que l'immunoréactivité OT y est absente (d et f).

Barre de calibration : 100 μ m.

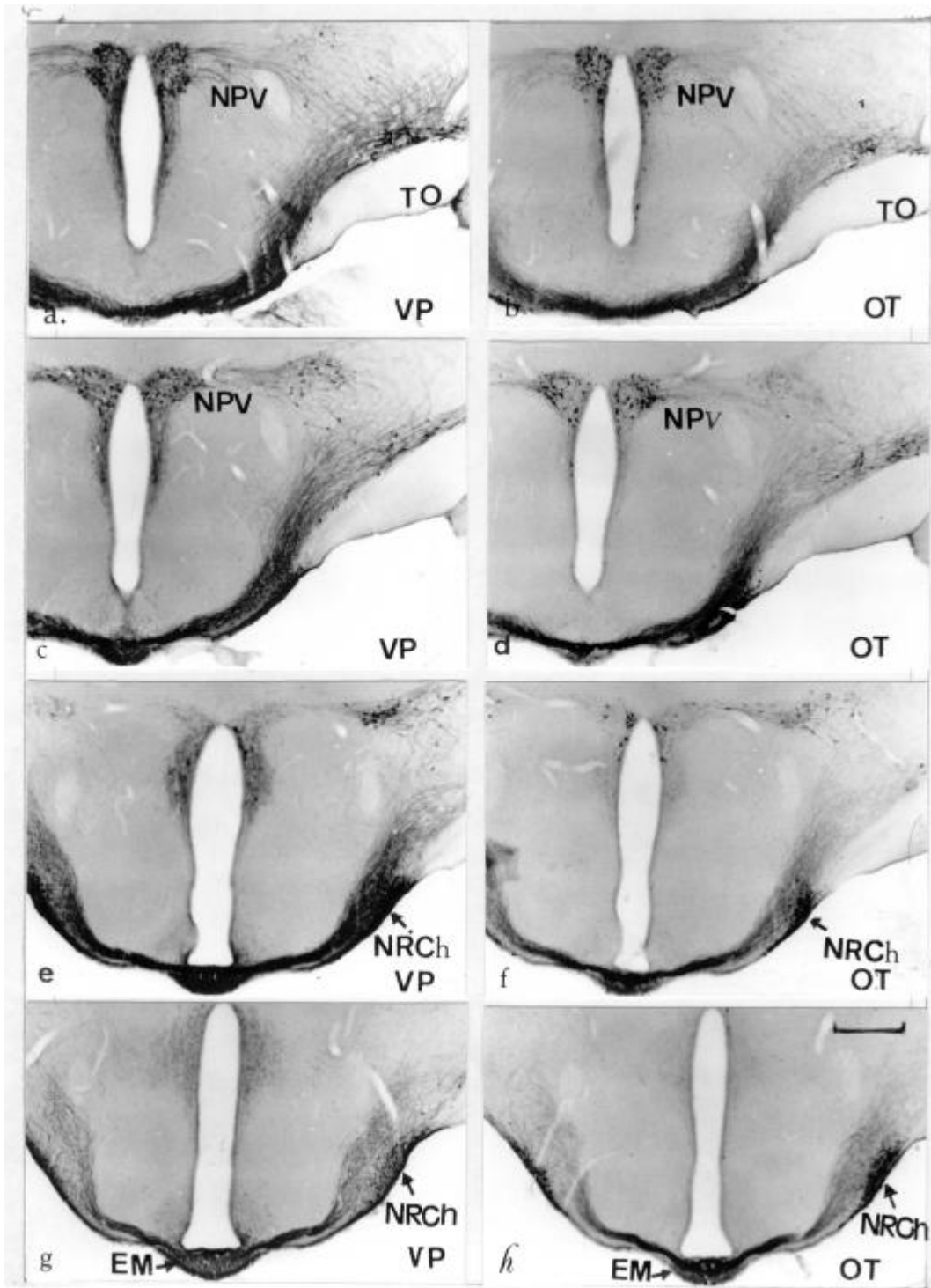


Fig. 10 : Distribution des neurones immunoréactifs pour la vasopressine (VP) (a, c, e, g) et l'ocytocine (OT) (b, d, f, h) dans l'hypothalamus de gerbille.

- a, b, c, d : Dans sa partie caudale, le NPV médian est organisé en forme cône caractéristique (a, b). Il s'étire latéralement et change de forme (c, d). Il est composé d'un mélange de neurones VP (a, c) et OT (b, d) mais la concentration de l'immunoréactivité VP et OT a nettement diminué. A ce niveau, certains neurones envoient des projections axoniques vers le noyau périfornical.

Noter le développement important des noyaux rétrochiasmatiques (NRCh) (flèche) qui présentent une intense immunoréactivité aussi bien pour la VP (e, g) que pour l'OT (f, h).

TO : tractus optique.

EM : éminence médiane.

Barre de calibration : 100 μ m.

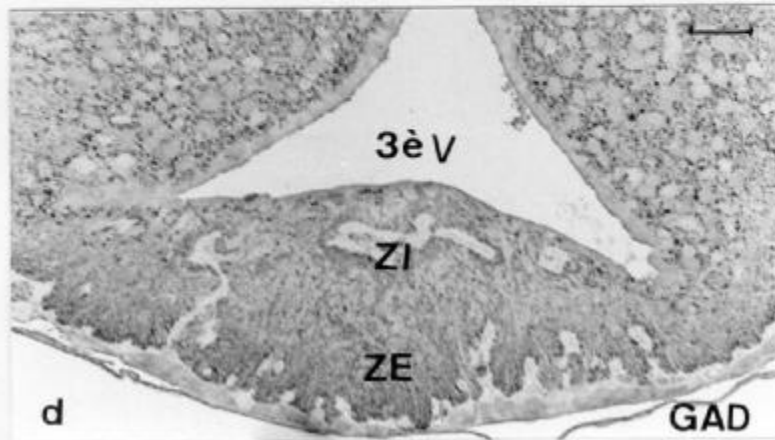
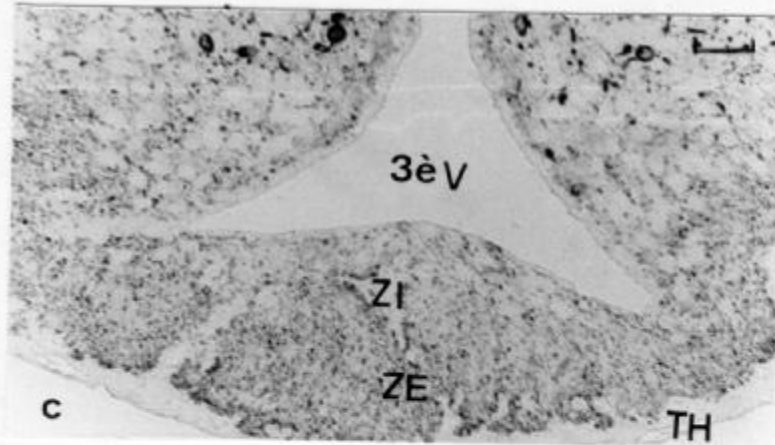
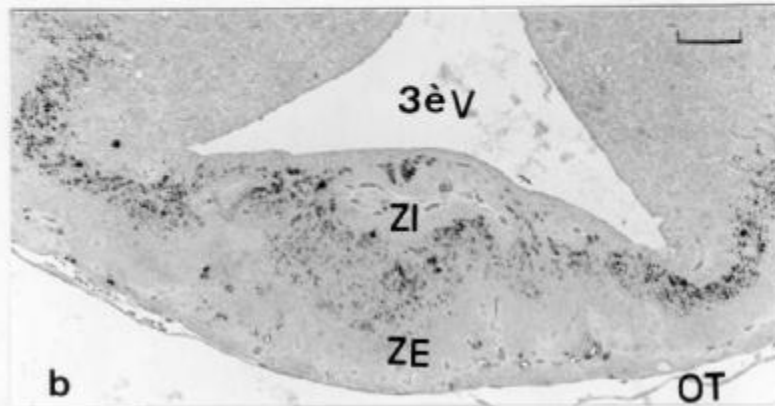
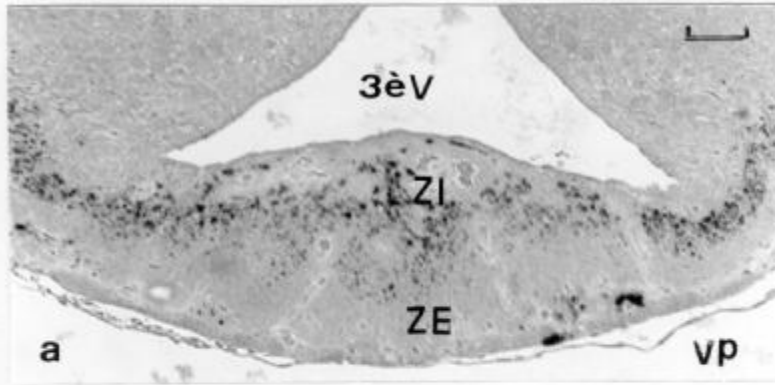


Fig. 11 : Coupes semi-fines adjacentes d'éminence médiane de gerbille, traitées par immunoperoxydase pour la détection de la VP (a), de l'OT (b), de la TH (c) et du GAD (d).

- a, b : de nombreuses fibres VP immunoréactives (VPir) (a) et OT immunoréactives (OTir) (b) sont observées dans le tractus de la zone interne de l'éminence médiane (EM). Noter la présence de quelques fibres VPir dans la zone externe de l'EM.

- c, d : distribution des fibres immunoréactives pour la TH (c) dans toute l'éminence médiane mais qui présente une concentration dans la zone externe au voisinage de la membrane basale qu'ils tapissent le long des anses capillaires profondes. L'anticorps anti-GAD révèle de nombreuses terminaisons GABAergiques dans la zone neuro-hémale de l'EM (d). Ces fibres présentent dans leur ensemble la même distribution que celle des axones immunoréactifs pour la TH, tout en étant apparemment moins abondantes. Noter la présence de neurones intensément marqués par l'anticorps anti-TH dans la subdivision dorsomédiane du noyau arqué (flèches)(c).

ZI : zone interne.

ZE : zone externe.

3^eV : 3^{ème} ventricule.

Barre de calibration : 50 μ m.

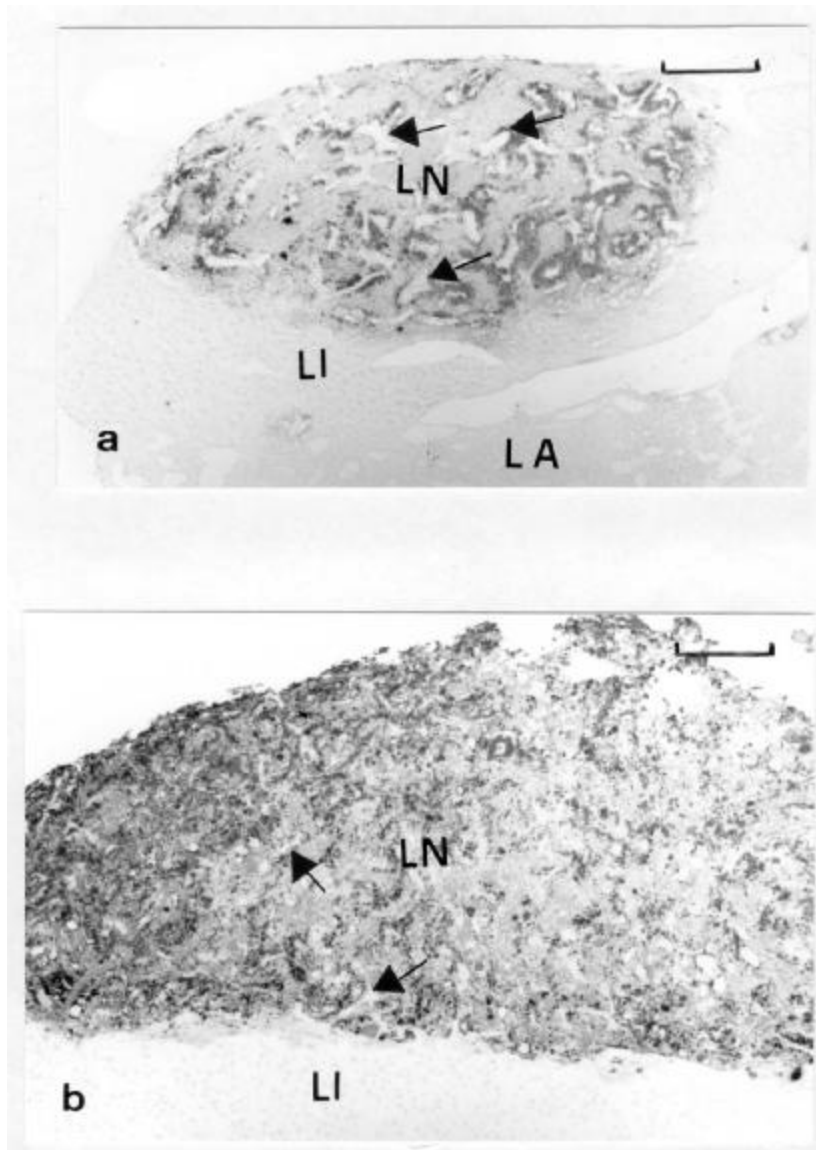


Fig. 12 : Coupes semi-fines sagittales d'hypophyse de gerbille (a) et de rat (b) traitées par l'anticorps anti-OT. Aspect structural comparatif du LN de gerbille et de rat. Noter dans le LN de gerbille (a), la présence de vaisseaux sanguins de grand diamètre, alors que le LN de rat présente une vascularisation formée d'un réseau très fourni de petits capillaires (b).

LN : lobe nerveux.

LI : lobe intermédiaire.

LA : lobe antérieur.

Barre de calibration : 100 μ m.

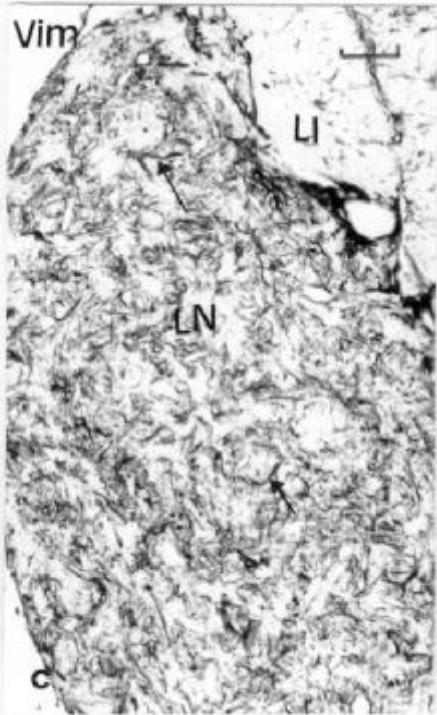
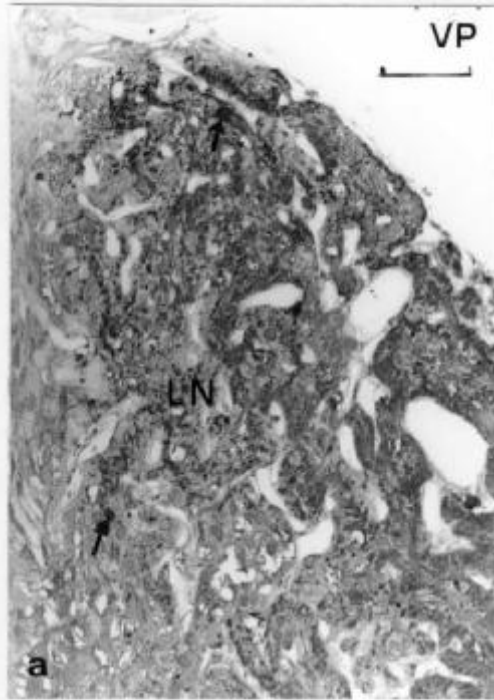


Fig. 13 : Coupes sagittales d'hypophyse de gerbille, traitées par immunoperoxydase pour la détection de la VP (a), de l'OT (b), de la Vimentine (c) et de la GFAP (d).

- a, b : La distribution de l'immunoréactivité pour la VP est homogène sur presque toute la surface du LN (a), alors que l'immunoréactivité pour l'OT est surtout localisée à la périphérie du LN (b). Noter la présence de grosses dilatations ou corps de Herring (flèches) VP-immunoréactif (a) et OT-immunoréactif (b).

- c, d : Le LN est intensément marqué par l'anticorps anti-vimentine (c). L'immunoréactivité caractérise de nombreux prolongements (flèches).

L'immunoréactivité pour la GFAP est relativement plus faible et localisée essentiellement dans les zones rostrale et caudale. Elle est portée par des prolongements très épais (flèches).

Barres de calibration :

a et b : 50 μ m.

c et d : 50 μ m.

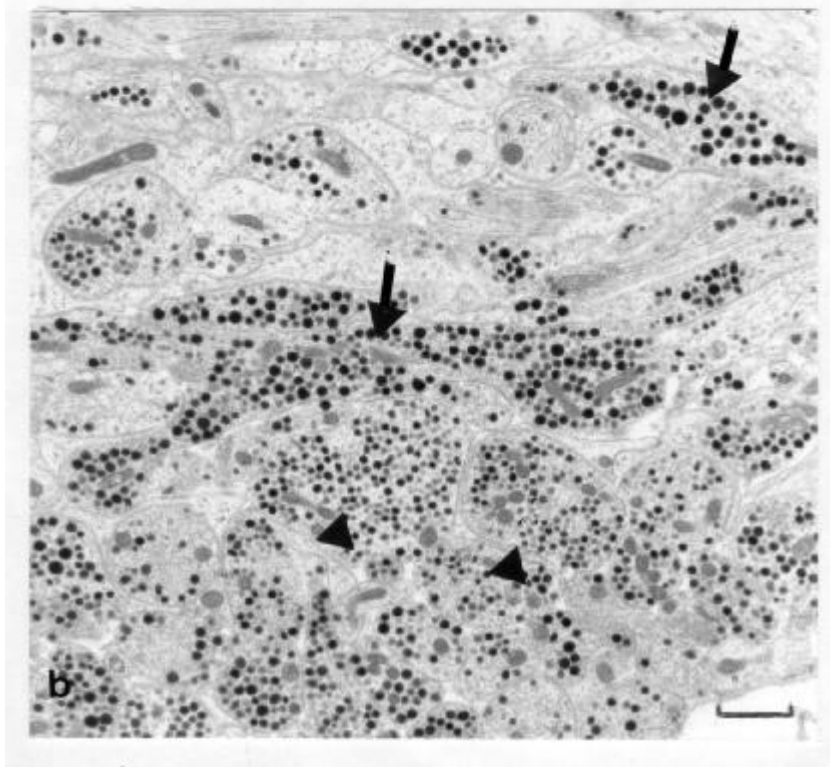
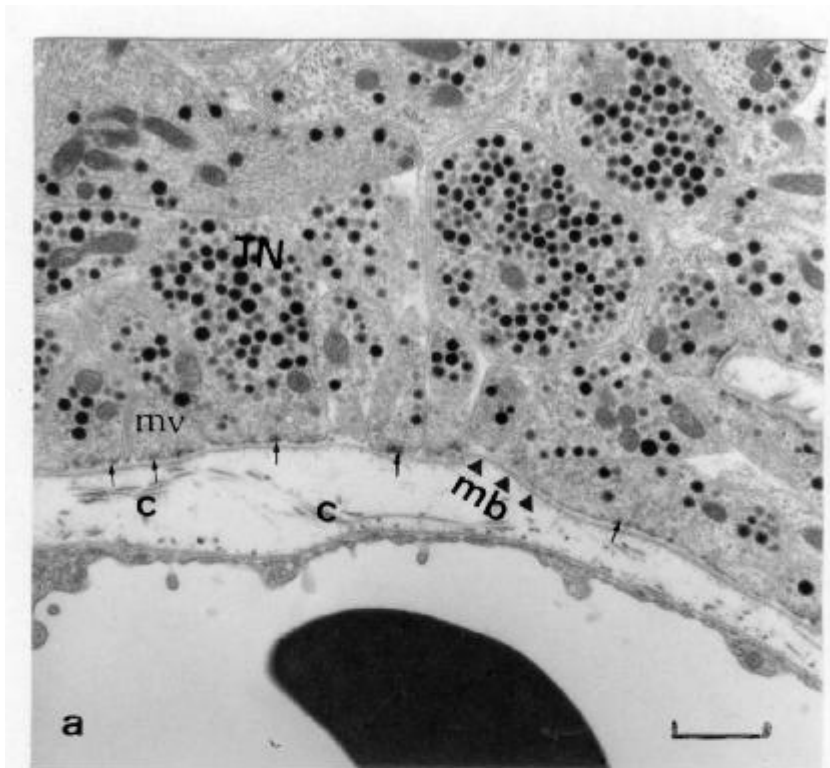


Fig. 14 : Aspect ultrastructural du LN de gerbille.

- a : Coupe ultrafine montrant des terminaisons nerveuses sécrétrices contactant (flèches) la membrane basale (mb) (têtes de flèches). Les nombreuses microvésicules (mv) facilement reconnaissables sont regroupées en amas au voisinage de la membrane plasmique ou plus à l'intérieur de la terminaison nerveuse. On observe aussi des mitochondries. Noter en bas, l'endothélium fenêtré d'un capillaire et l'espace péricapillaire avec des fibres de collagène (C).

- b : Coupe ultrafine montrant l'existence de deux types de fibres dans l'ensemble des axones neurosécrétoires qui se distinguent par le diamètre de leurs granules ; des fibres à gros granules (flèches) et des fibres à petits granules (têtes de flèches).

Barres de calibration : 1 μ m.

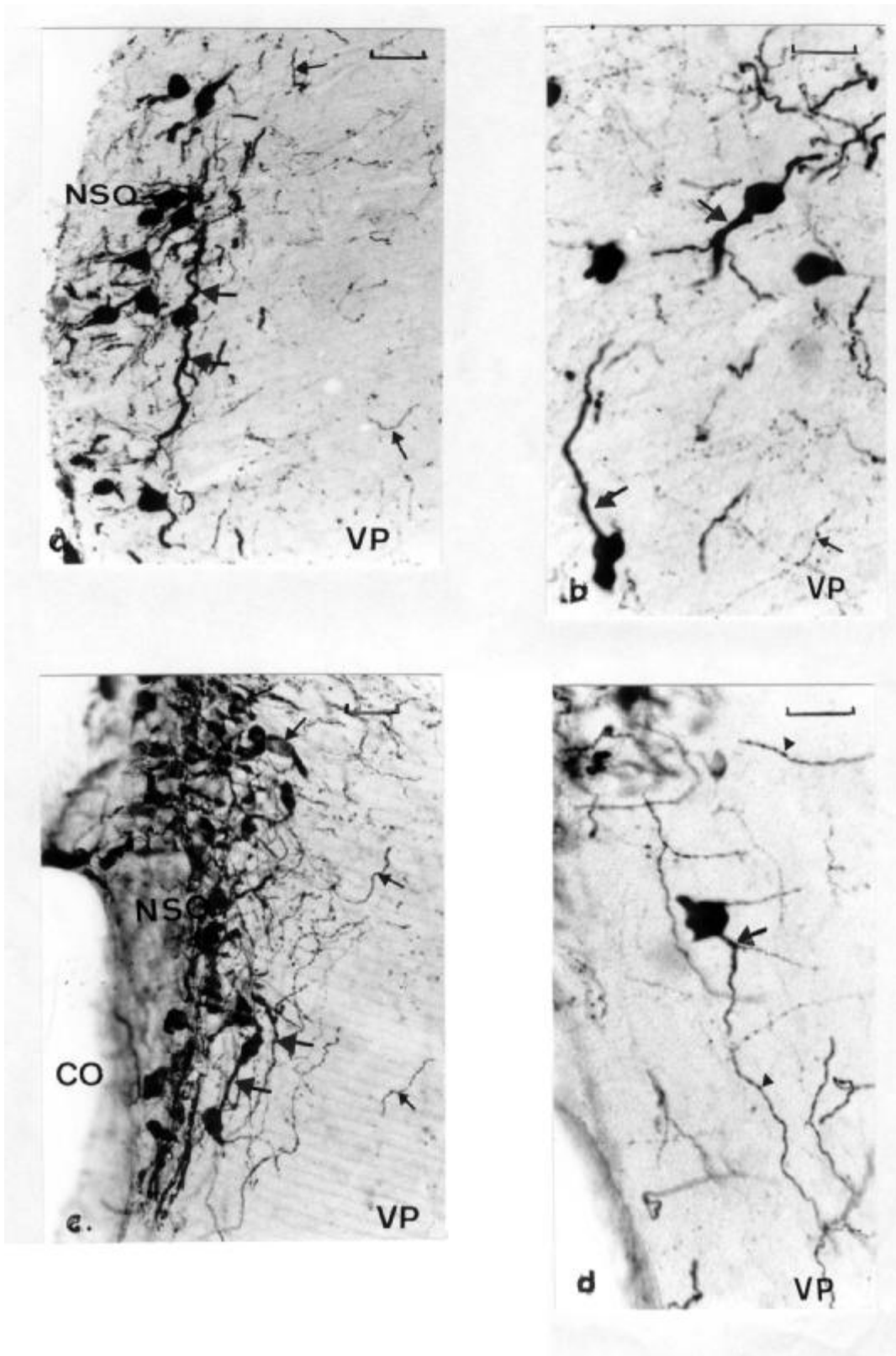


Fig. 15 : Corps cellulaires VP immunoréactifs dans le noyau supraoptique chez la gerbille déshydratée (a, b) et chez la gerbille hydratée (c, d).

L'immunoréactivité pour la VP dans les neurones magnocellulaires chez l'animal déshydraté est caractérisée par une forte densité du marquage dans les corps cellulaires et les dendrites (flèches) qui apparaissent très épais (a et b), alors que chez la gerbille hydratée l'intensité du marquage est plus faible et certains corps cellulaires présentent un cœur clair (c). Les dendrites sont nettement moins chargées en matériel immunoréactif pour la VP et apparaissent nettement plus fins (flèches) (c et d).

Barres de calibration : 50 μ m.

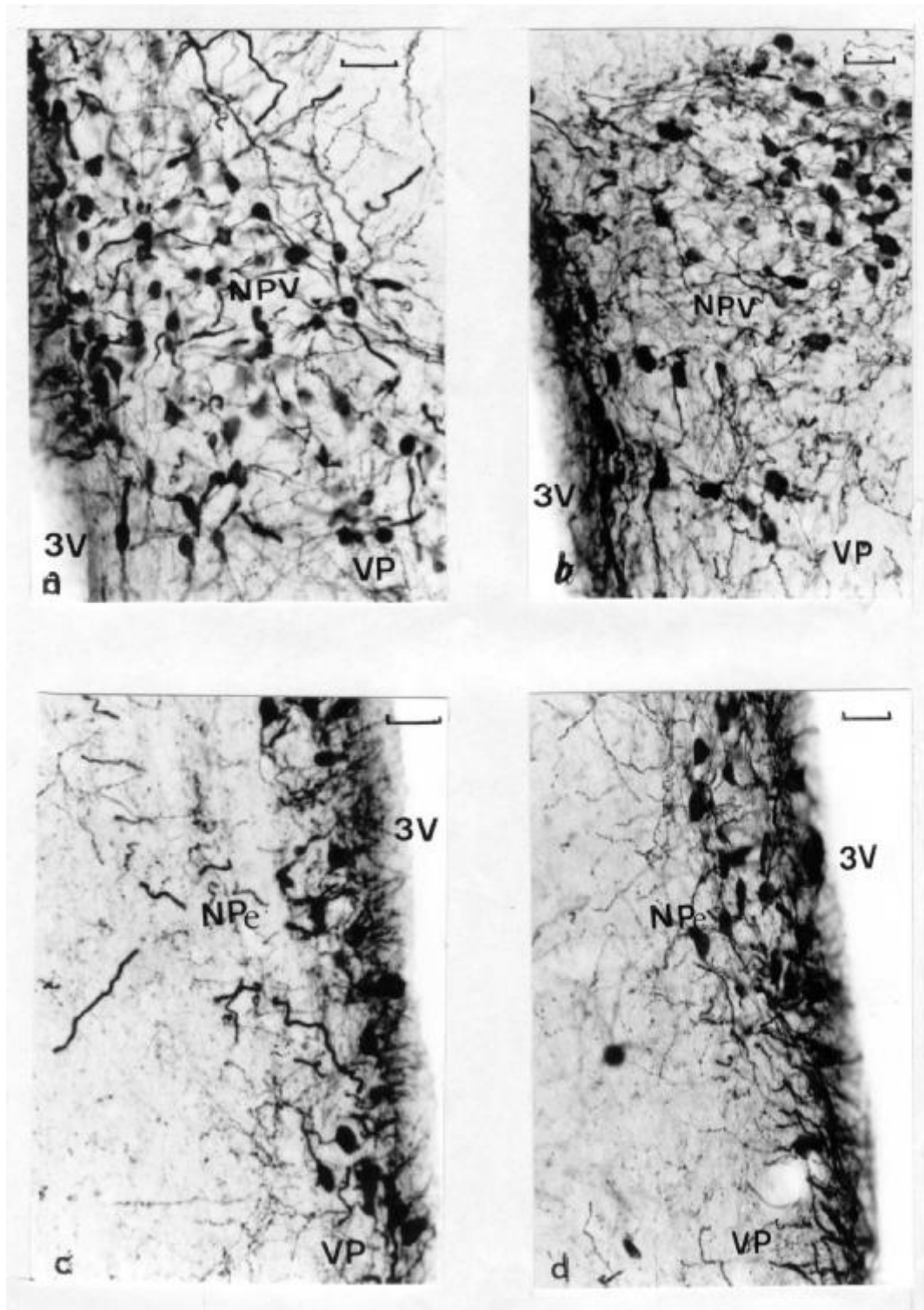


Fig. 16 : Corps cellulaires VP immunoréactifs dans le noyau paraventriculaire chez la gerbille déshydratée (a) et chez la gerbille hydratée (b) et dans le noyau périventriculaire chez la gerbille déshydratée (c) et chez la gerbille hydratée (d). Noter la forte intensité du marquage et

l'épaississement des dendrites chez l'animal déshydraté dans les deux noyaux.

Barres de calibration : 50 μ m.

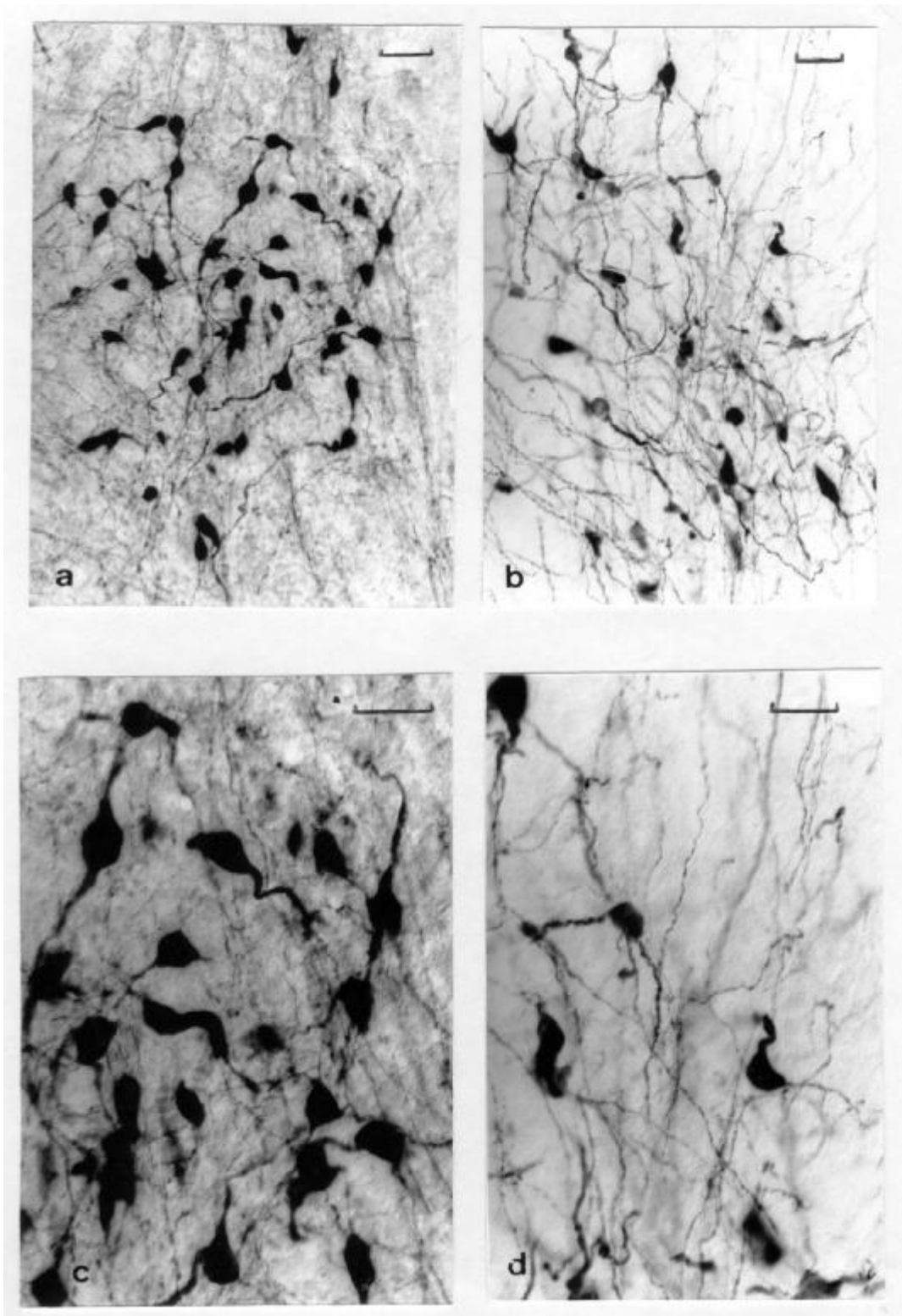


Fig. 17 : Immunoréactivité pour la VP dans les neurones magnocellulaires des noyaux accessoires dans l'aire préoptique chez la gerbille déshydratée (a et c) et la gerbille hydratée (b et d). Noter chez la gerbille déshydratée la forte densité du marquage dans les corps cellulaires et les dendrites qui deviennent très épais (c).

c- : détail au niveau de (a)

d- : détail au niveau de (b)

Barres de calibration :

a et b : 50 μ m.

c et d : 25 μ m.

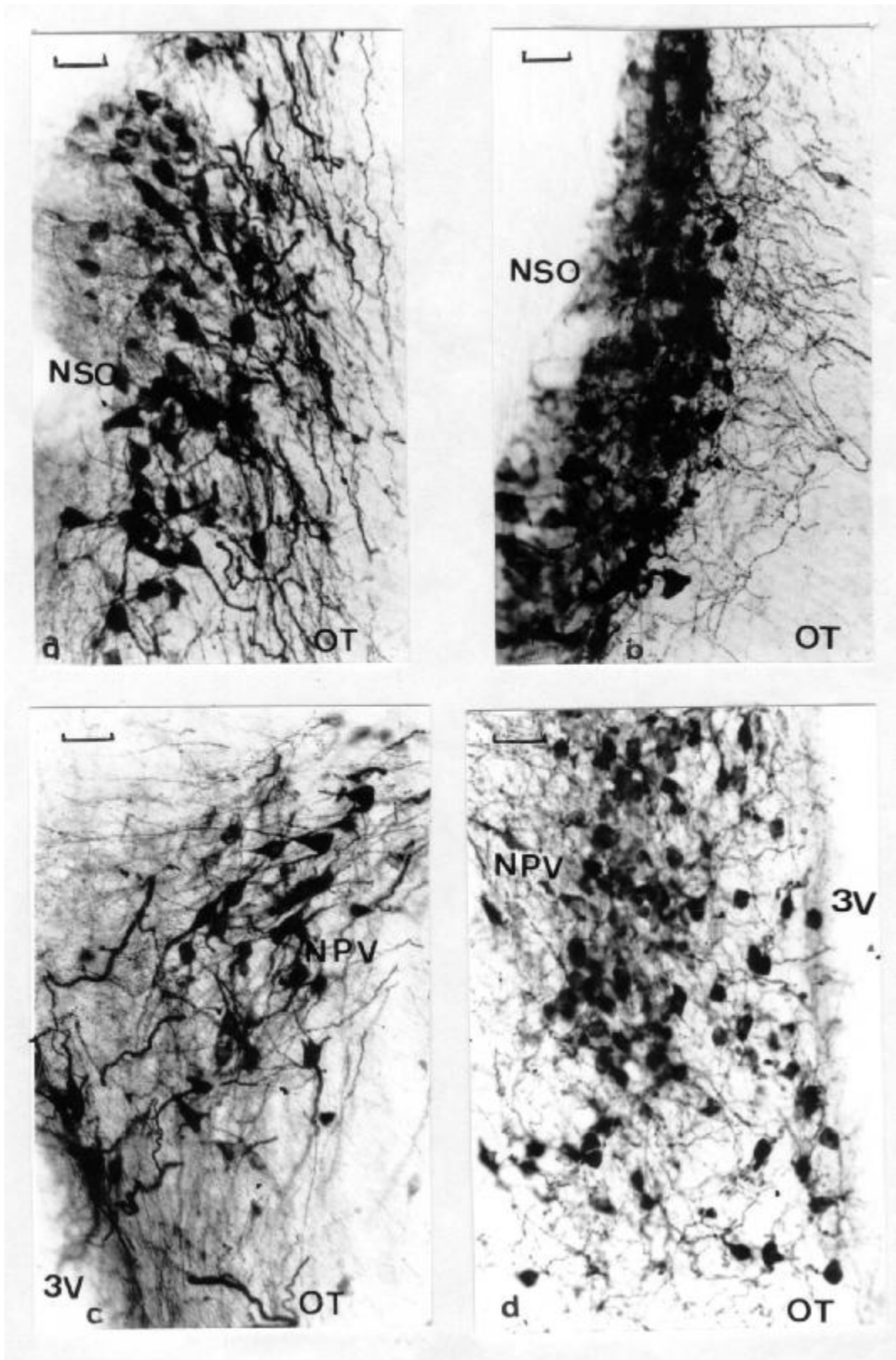


Fig. 18 : Immunoréactivité pour l'OT dans les neurones magnocellulaires chez la gerbille déshydratée au niveau du NSO (a) et du NPV(c) et chez la gerbille hydratée au niveau du NSO (b) et du NPV (d). Chez la gerbille déshydratée le marquage est plus dense dans les corps cellulaires et les dendrites qui apparaissent nettement plus épais que chez l'animal hydraté.

Barres de calibration : 50 μ m.

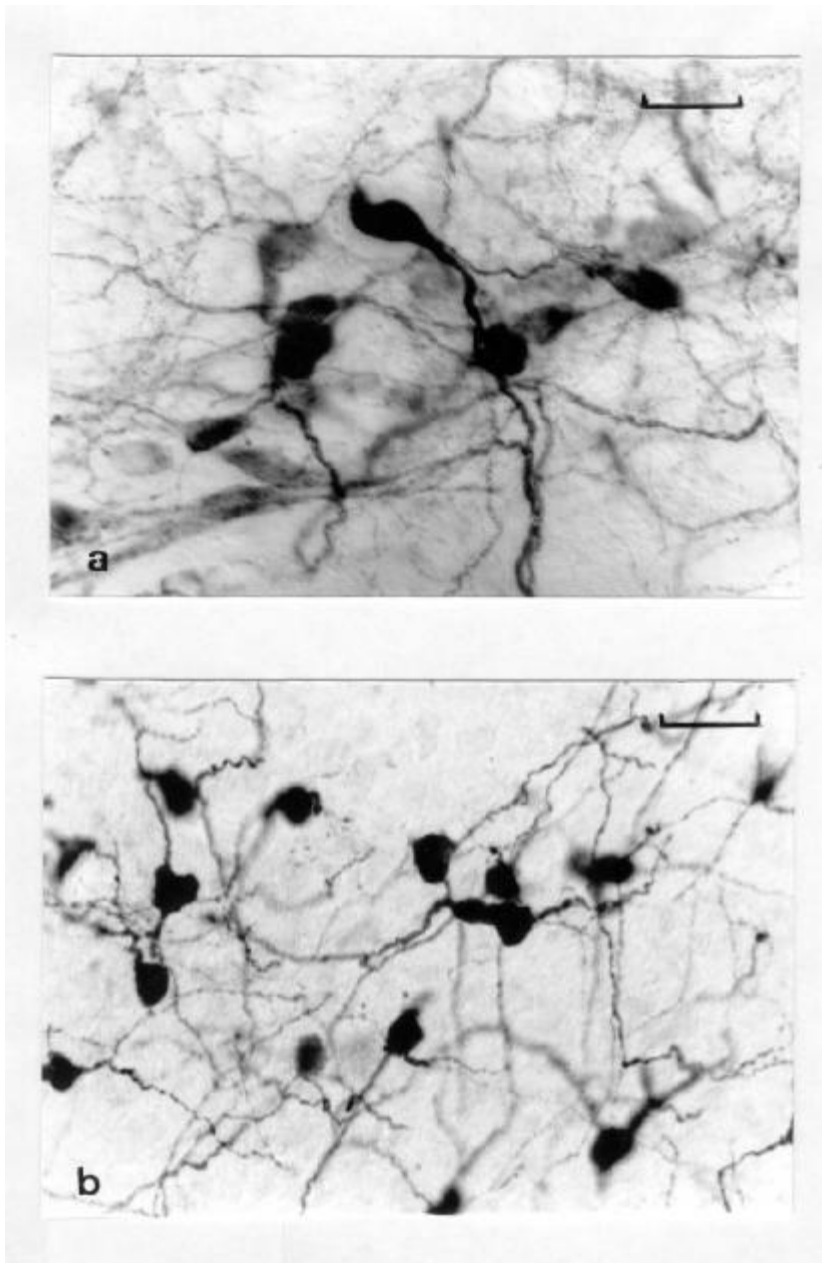


Fig. 19 : Immunoréactivité pour l'OT dans les neurones magnocellulaires de noyau accessoire préoptique chez la gerbille déshydratée (a) et la gerbille hydratée (b). Noter chez la gerbille déshydratée la forte densité du marquage dans les corps cellulaires et les dendrites qui montrent un épaississement remarquable.

Barres de calibration : 25µm.

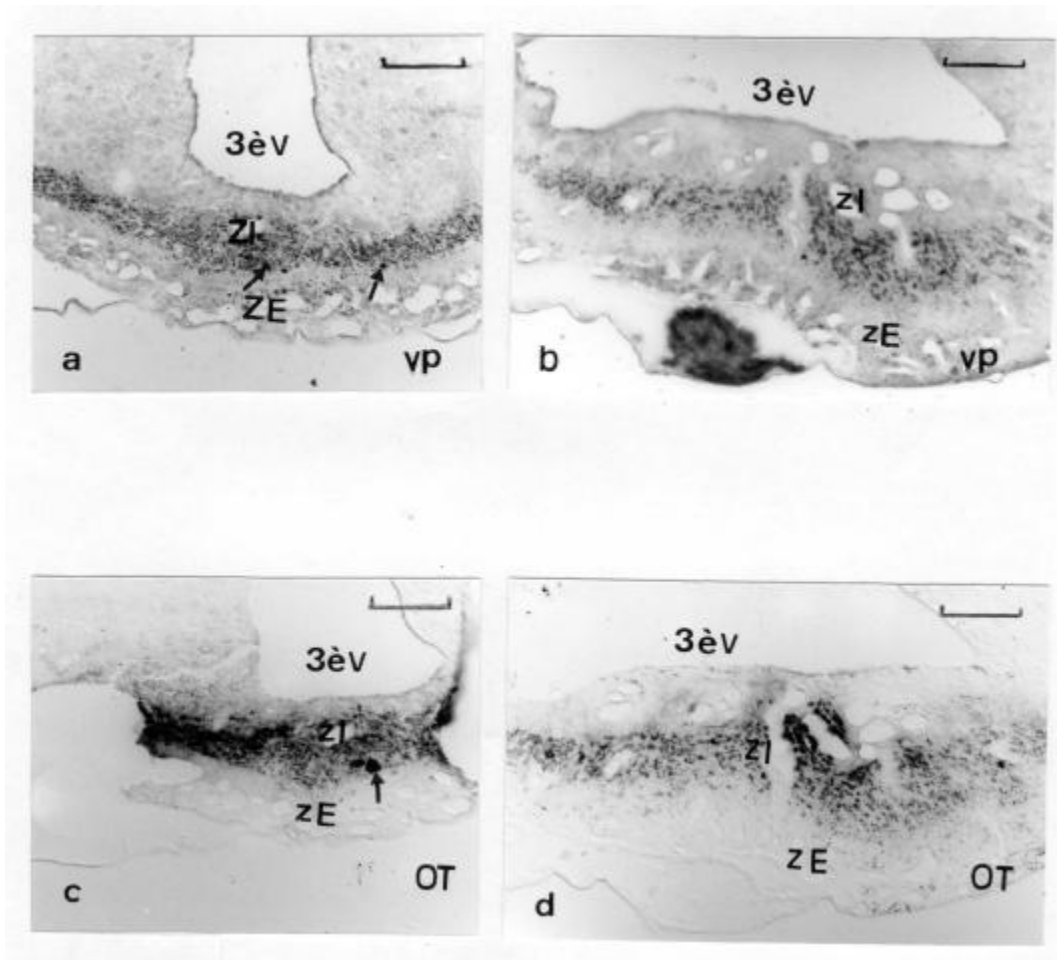


Fig. 20 : Effet de la déshydratation sur les contenus en VP et en OT dans l'éminence médiane.

Coupes semi-fines adjacentes d'éminence médiane de gerbille déshydratée (a et c) et de gerbille hydratée (b et d).

- a et c : détection immunocytochimique de la VP (a) et de l'OT (c) chez la gerbille déshydratée. Noter la forte densité du marquage dans les fibres au niveau de la ZI de l'éminence médiane et l'apparition de grosses dilatations VP-immunoréactives (VP-ir) (a) (flèches) et OT-immunoréactives (OT-ir) (c) (flèches).

- **b** et **d** : détection immunocytochimique de la VP (**b**) et de l'OT (**d**) chez la gerbille hydratée. De nombreuses fibres VP-ir et OT-ir sont observées dans le tractus de la ZI de l'éminence médiane, mais la densité du marquage est nettement atténuée.

ZI : zone interne.

ZE : zone externe.

3^eV : 3^{ème} ventricule.

Barres de calibration : 50 μ m.

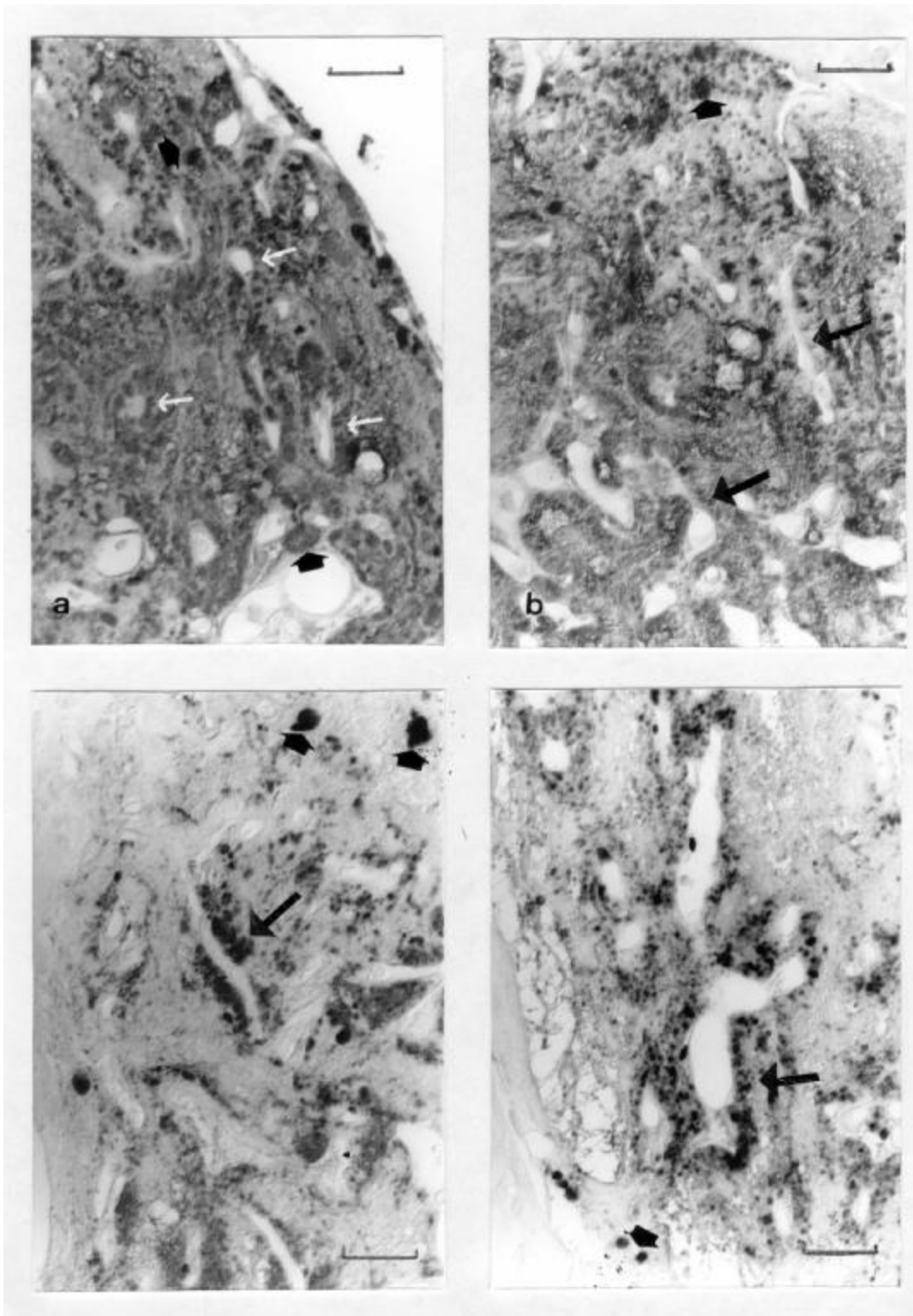


Fig. 21 : Terminaisons nerveuses VP-immunoréactives et OT-immunoréactives dans des coupes semi-fines sagittales de LN d'hypophyses de gerbilles déshydratée (a et c) et hydratée (b et d).

- a, c : Le LN de gerbille déshydratée montre une forte immunoréactivité pour la VP (a) avec une concentration particulière du marquage dans les terminaisons autour des capillaires sanguins qui présentent une organisation palissadique dense (flèches). L'immunoréactivité pour l'OT est également très intense et reflète aussi cette disposition autour des espaces péricapillaires (flèches) (c), mais le marquage est moins étendu qu'avec la VP. Noter la présence de volumineuses dilatations axonales plus ou moins fortement marquées (tête de flèches) en (a) et en (c).

b, d : L'immunoréactivité VP (b) et OT (d) chez la gerbille hydratée est moins intense dans les terminaisons nerveuses autour des espaces capillaires (flèches) et le marquage est plutôt diffus et occupe les zones internes aux palissades. Les dilatations axonales VP immunoréactives et OT immunoréactives sont moins volumineuses et moins nombreuses que chez l'animal déshydraté (têtes de flèches).

Barres de calibration : 25 μ m.

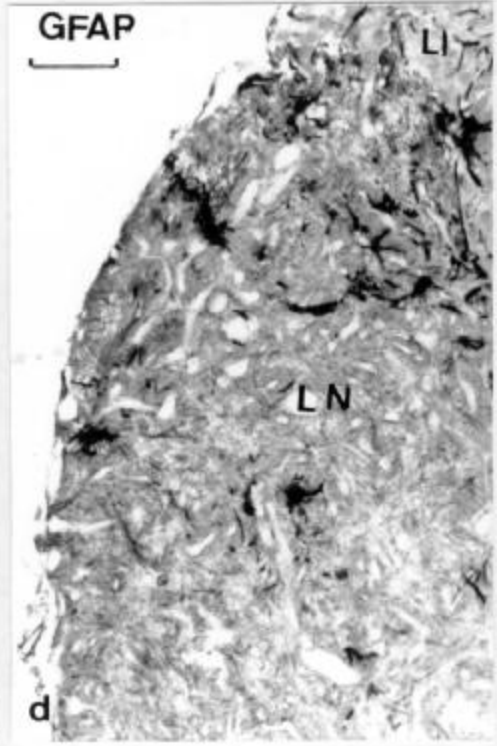
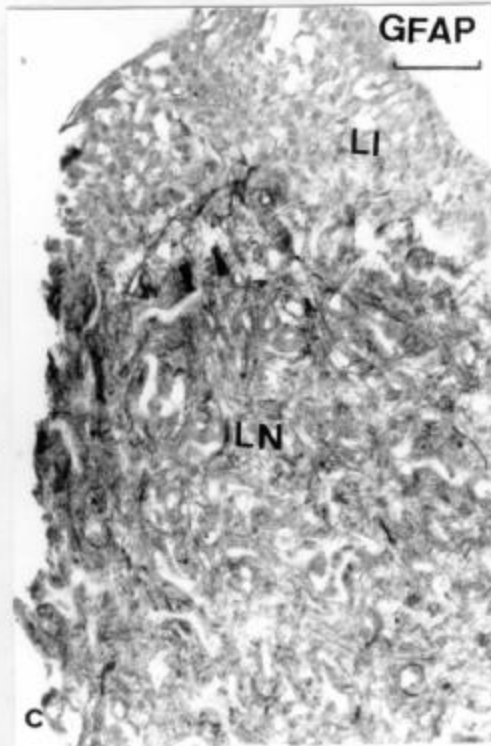
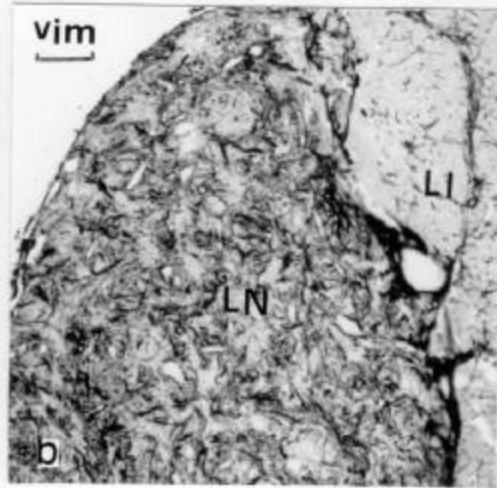
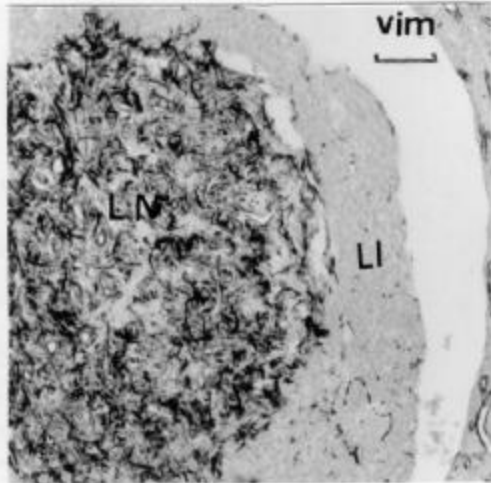


Fig. 22 : Immunoréactivité pour la vimentine et la GFAP dans le LN de gerbille déshydratée (a et c) et dans le LN de gerbille hydratée (b et d).

L'anticorps anti-vimentine marque intensément le LN dans les deux conditions d'hydratation de l'animal, mais chez l'animal déshydraté, l'immunoréactivité caractérise des prolongements courts et épais (a) alors que chez l'animal hydraté, les prolongements immunoréactifs sont plutôt longs et fins (b).

L'immunoréactivité pour la GFAP du LN caractérise également des prolongements courts (c) chez la gerbille déshydratée et des prolongements longs et épais chez la gerbille hydratée (d). Le marquage est surtout localisé dans la zone rostrale.

Barres de calibration : 50 μ m.

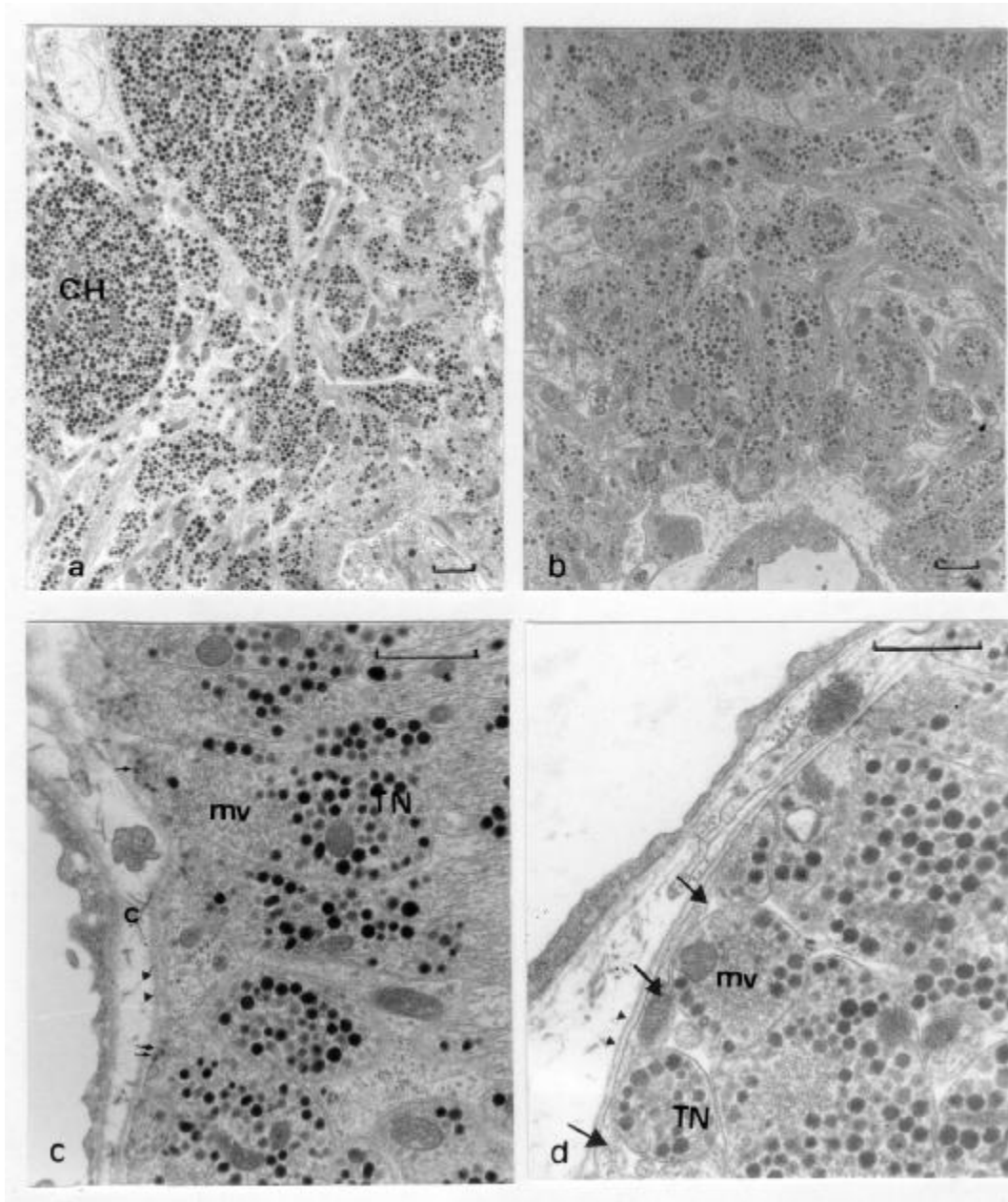


Fig. 23 : Aspect ultrastructural du LN d'hypophyse de gerbille déshydratée (a et c) et de gerbille hydratée (b et d).

Dans les deux conditions d'hydratation de l'animal, le LN présente des compartiments riches en granules neurosécrétoires (GNS) (a et b). Cependant, chez la gerbille déshydratée, les GNS sont plus denses (a). On observe un important développement des zones palissadiques formées par les terminaisons nerveuses en contact direct de la lame basale limitant les espaces périvasculaires (têtes de flèches) et la formation des synapses

neurohémales (petites flèches) chez l'animal déshydraté (c), alors que chez l'animal hydraté, cette organisation caractéristique est souvent absente (d). Noter en (d), la présence de prolongements pituicytaires s'intercalant sur une large surface entre les TN et la lame basale (grandes flèches).

CH : corps de Herring.

mv : microvésicule.

TN : terminaison nerveuse.

c : collagène.

Barres de calibration : 1 μ m.

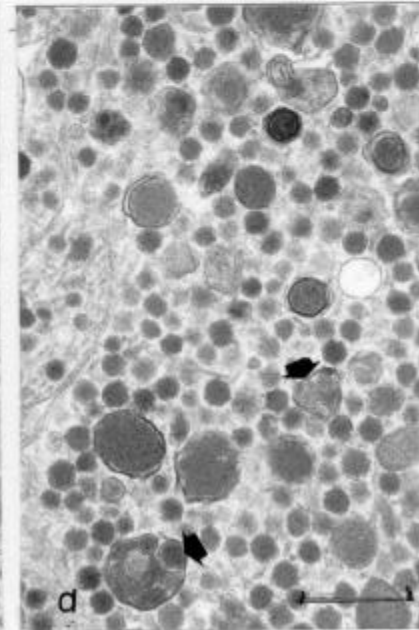
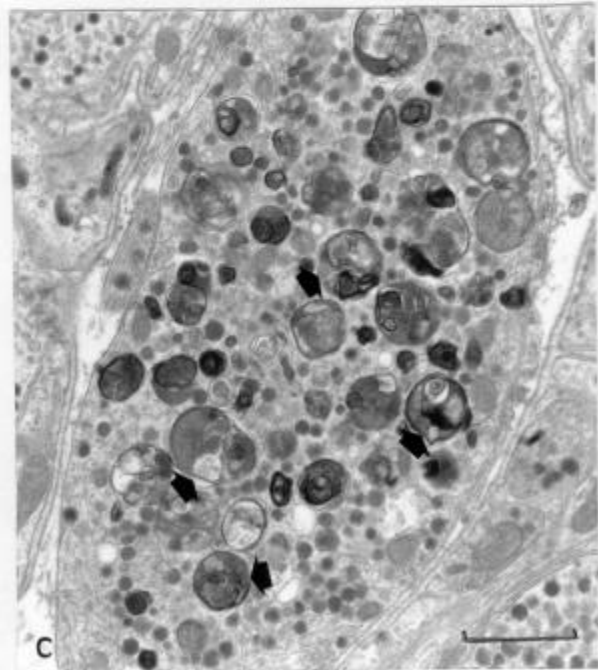
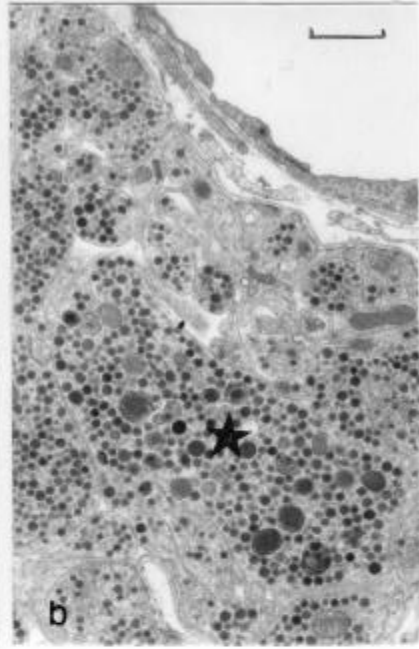
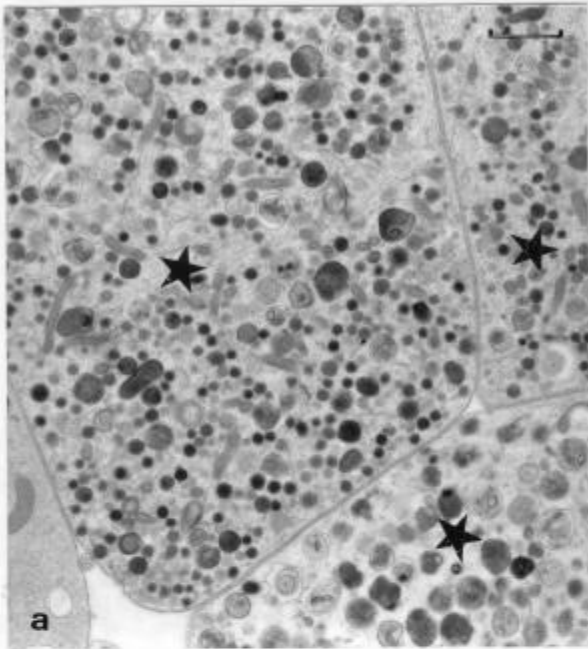


Fig. 24 : Aspect ultrastructural de LN d'hypophyse montrant des dilatations nerveuses ou corps de Herring, observées chez la gerbille déshydratée (a et c) et chez la gerbille hydratée (b et d).

Les dilatations nerveuses (aster) sont plus volumineuses et plus fréquemment observées chez la gerbille déshydratée (a) que chez l'animal hydraté (b). Noter la présence de nombreux lysosomes secondaires et formations granulo-membranaires (têtes de flèches) dans ces structures (c et d).

Barres de calibration :

a et b : $1\mu\text{m}$.

c et d : $0.5\mu\text{m}$.

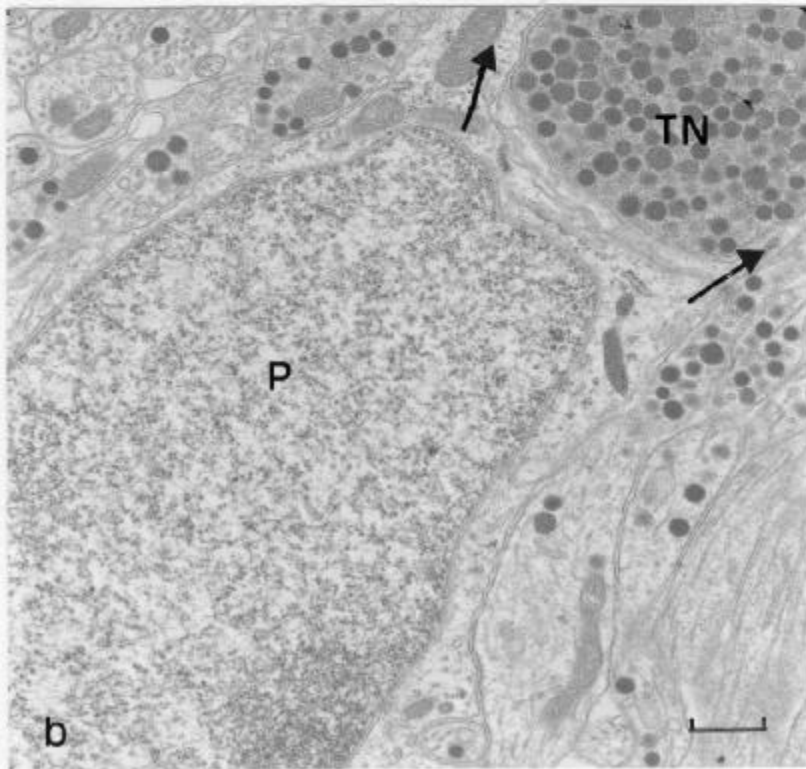
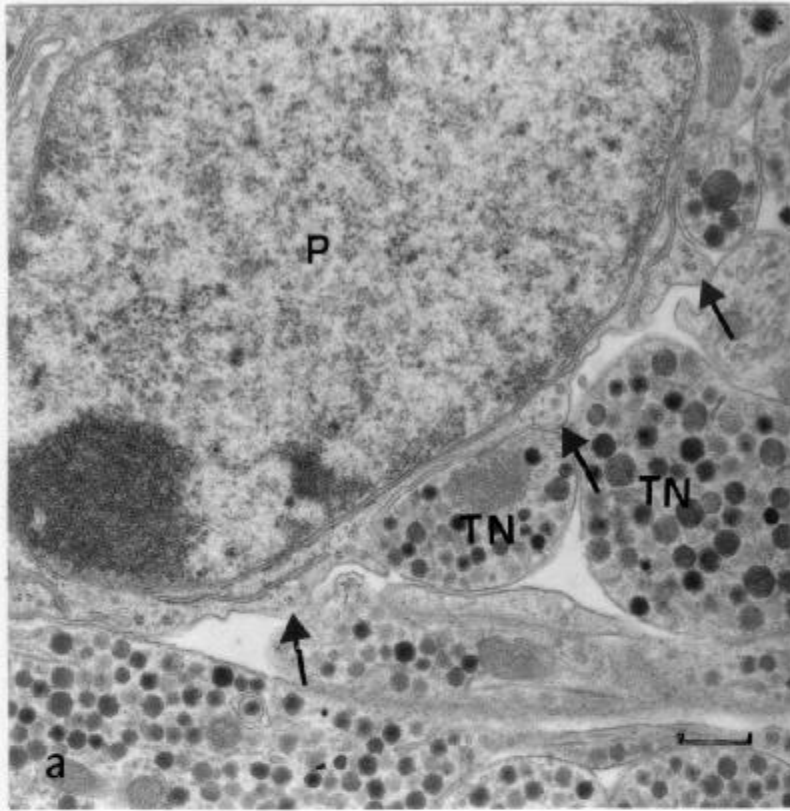


Fig. 25 : Aspect ultrastructural des pituicytes dans le LN d'hypophyse de gerbille déshydratée (a) et de gerbille hydratée (b).

Chez la gerbille déshydratée, les pituicytes présentent souvent des prolongements cytoplasmiques très rétractés (flèches) et de larges espaces intercellulaires sont souvent observés (asters) (a).

Chez la gerbille hydratée par contre, les pituicytes envoient de nombreux prolongements cytoplasmiques qui s'intercalent entre les terminaisons nerveuses (flèches) et les espaces intercellulaires sont très réduits (b).

Noter l'absence d'inclusions lipidiques dans le cytoplasme de pituicytes

P : Pituicyte.

TN : Terminaison nerveuse.

Barres de calibration : 0.5 μ m.

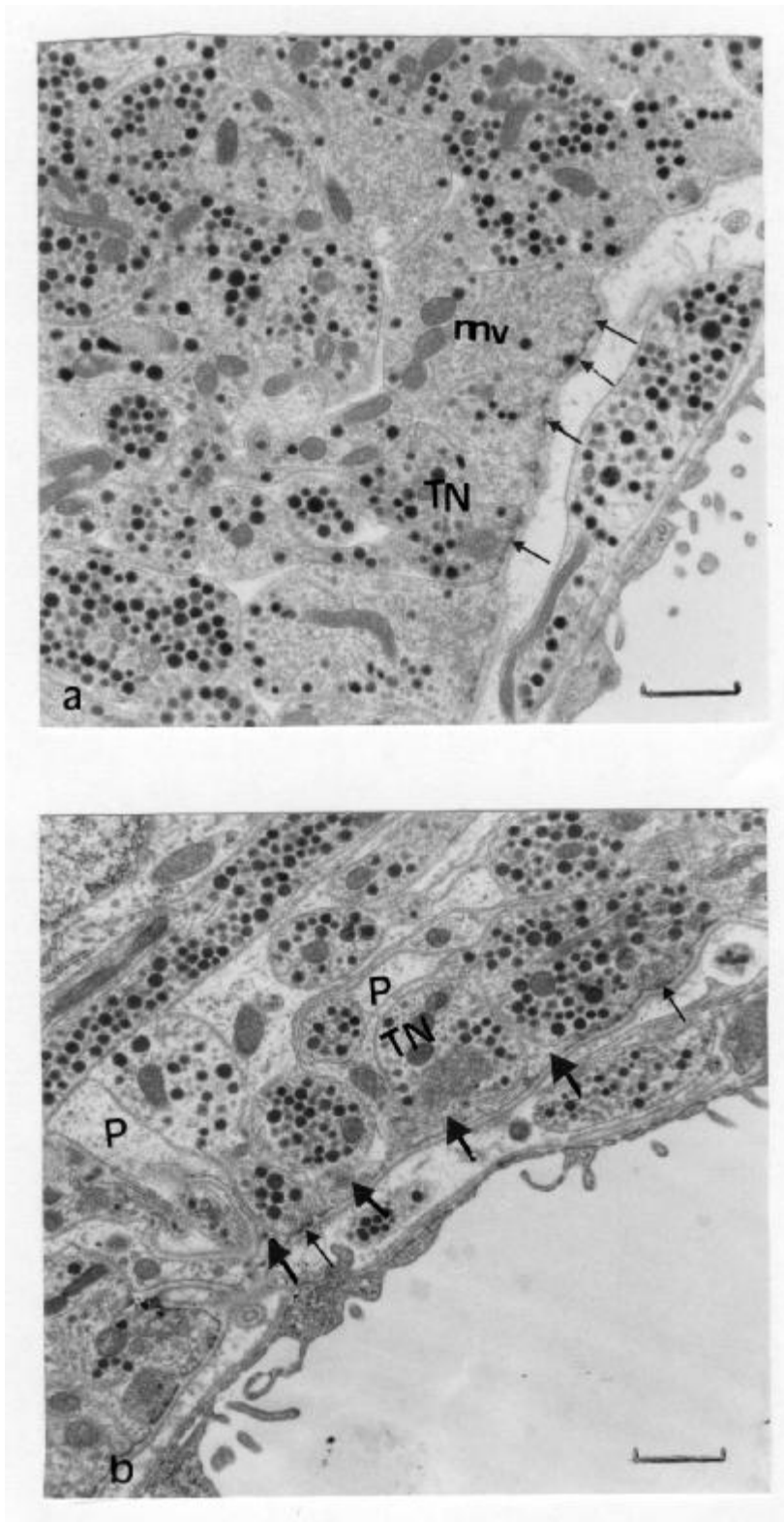


Fig. 26 : Coupes ultrafines de LN d'hypophyse montrant des terminaisons nerveuses (TN) sécrétrices au voisinage de la membrane basale limitant les

espaces périvasculaires chez la gerbille déshydratée (a) et chez la gerbille hydratée (b).

Chez la gerbille déshydratée, les terminaisons nerveuses forment des palissades très serrées autour de la lame basale et de nombreuses synapses neurohémales sont observées (petites flèches). A ce niveau, les prolongements cytoplasmiques de pituicytes sont quasiment absents (a).

Chez la gerbille hydratée, de nombreuses terminaisons nerveuses sont entièrement englobées dans les expansions cytoplasmiques des pituicytes et plusieurs prolongements s'intercalent également entre les TN et la lame basale périvasculaire (grosses flèches). Les synapses neurohémales sont rares (petites flèches) (b).

mv : microvésicule.

TN : terminaisons nerveuses.

P : prolongements cytoplasmiques de pituicytes.

Barres de calibration : 1 μ m.