

Prolactine et hormone ovulatoire du cobaye

par J. LEONARDELLI, Dominique CROIX, G. TRAMU, E. HERMAND

avec la collaboration technique de A. PILLEZ,

Section d'Histochimie du Laboratoire d'Histologie
Faculté de Médecine, Place de Verdun, 59045 Lille Cedex.

Summary. *Prolactin and luteinizing hormone secretion control in guinea pig.*

Ovine prolactin infused intraventricularly to male guinea-pig induces changes in the hypothalamic LH-RH neurons counted by immunofluorescence. This action is rapid and lasting and is accompanied by an increase in plasma LH which is radioimmunoassayed. Prolactin appears to stimulate LH-RH synthesis and release. The possibility of direct hypothalamic prolactin action interfering with LH-RH neurons by way of the aminergic system is discussed.

Introduction.

Les interactions prolactine (PRL)-sécrétion de l'hormone lutéinisante LH sont soupçonnées depuis longtemps. On en trouve de nombreux exemples tant dans la physiologie ou la pathologie (aménorrhée de la gestation, du *post partum* de la lactation et de tumeurs hypophysaires à prolactine) que dans les expérimentations pharmacologiques (effets du TRH, du Sulpiride ou d'implants hypothalamiques de PRL sur les sécrétions de LH et de PRL). Cependant s'il existe des relations entre les deux sécrétions hormonales antéhypophysaires elles sont mal précisées et ne s'exercent pas dans tous les cas de manière identique. Ainsi Clemens *et al.* (1969) et Voogt et Meites (1971) ont montré qu'une implantation hypothalamique de PRL est suivie d'une augmentation de LH sérique ; dans des hyperprolactinémies expérimentales par injections de TRH certains auteurs obtiennent, chez la femme, une abolition des variations de LH (Bohnet *et al.* 1974 ; Boyar *et al.*, 1974), d'autres n'observent aucune modification (Zarate *et al.*, 1974). Après traitement au Sulpiride il existe aussi une hyperprolactinémie mais si certains notent une abolition ou une déplétion du pic ovulatoire de LH (Delvoe *et al.* 1974), d'autres malgré une certaine anarchie des taux de LH retrouvent parfois des pics presque normaux (Linquette *et al.*, 1975). Ces diverses observations sont, au moins apparemment contradictoires et leur interprétation d'autant plus difficile qu'à un

impact central possible de la PRL (au cours du rétrocontrôle de sa sécrétion) s'ajoute un impact périphérique certain sur les gonades et leur sécrétion de stéroïdes gonadiques (Acker et Alloiteau, 1969, Hixon et Armstrong, 1971 ; Mc Natty *et al.*, 1974) ; l'hypothèse d'effets centraux de PRL sur le contrôle de la sécrétion de LH n'est pas en contradiction avec nos observations de l'action du Sulpiride sur les neurones à LH-RH de l'hypothalamus du Cobaye (Leonardelli *et al.*, 1973). Après injection de cette drogue lactogène et antioovulatoire, nous observons une modification des neurones à LH-RH traduite par une accumulation de matériel immunodélectable dans les péricaryons ; en l'absence de dosages concomitants de LH plasmatique, nous ne pouvons interpréter l'état fonctionnel des neurones élaborateurs de LH-RH (synthèse activée ou cession diminuée) et surtout nous ne pouvons apprécier le rôle de l'hyperprolactinémie dans la genèse des modifications observées.

Dans le but de reprendre ce problème nous avons donc envisagé d'étudier l'effet d'injections intraventriculaires de PRL ovine sur les neurones à LH-RH de l'hypothalamus du Cobaye.

Matériel et technique.

Nous avons choisi le Cobaye mâle adulte pesant entre 3 et 400 g dans le but d'éliminer des variations cycliques de la sécrétion de LH-RH ; chez cet animal il n'existe que peu de péricaryons hypothalamiques à LH-RH détectables par immunocytochimie, dans les conditions physiologiques (Barry *et al.*, 1973, Leonardelli et Dubois, 1975). Trente-huit Cobayes anesthésiés par un mélange nembutal-uréthane et placés sur un appareil à stéréotaxie type Baltimore ont reçu en injection intraventriculaire lente 50 μ l de solution en 30 mn grâce à un appareil type Perfusor de Braun relié à une aiguille descendue par stéréotaxie dans le ventricule cérébral latéral. Vingt-deux animaux ont reçu 500 μ g de PRL ovine (Sigma) en solution (solvant : phénol 3 mg, glucose 50 mg par ml d'eau). Seize animaux n'ont reçu dans le même volume et le même temps que le seul solvant. Les Cobayes ont été sacrifiés 2, 4, 6, 8, 10, 18 et 24 h après le début de l'injection lente. Ils ont été sacrifiés à la même heure de la journée soit à 18 h pour tous les animaux sauf pour les deux dernières séries qui l'ont été entre 12 et 13 h. Après décapitation tous les cerveaux ont été disséqués, les hypothalamus prélevés, fixés au mélange de Bouin-Hollande et inclus à la paraffine. Les coupes sériées de 10 microns d'épaisseur ont été traitées par une méthode d'immunofluorescence indirecte utilisant comme anticorps spécifique un sérum de lapin anti LH-RH de synthèse déjà employé précédemment (Leonardelli *et al.*, 1973) et un sérum de mouton antiglobuline de lapin marqué à l'isothiocyanate de tiourescéine (Institut Pasteur, Paris). Les critères de spécificité ayant déjà été discutés (Leonardelli *et al.*, 1973) nous avons décompté les sections de corps cellulaires de neurones visibles en immunofluorescence avec notre méthode.

Parallèlement les sérums de douze animaux sacrifiés 2, 5 et 18 h après injection intraventriculaire de 500 μ g de PRL, ont été recueillis ainsi que ceux de douze témoins recevant dans les mêmes délais le seul solvant. Un dosage radioimmunologique de LH a été utilisé selon une technique employée par l'un d'entre nous (Croix et Franchimont, 1975) pour évaluer les taux sériques de LH dans ces séries expérimentales.

Résultats.

Chez tous les animaux injectés de PRL par voie intraventriculaire cérébrale latérale, nous avons observé une augmentation du nombre de coupes de cellules à LH-RH immunofluorescentes. Cette augmentation apparaît à la deuxième heure et persiste encore quoique moindre 24 h après. Un maximum de mise en charge de LH-RH semble exister vers la sixième heure (fig. 1). Il faut noter qu'à côté de ces sections de cellules décomptées, possédant du matériel fluorescent sous forme de grains fins répartis dans tout le cytoplasme, ou sous forme de grains plus gros et confluent, on retrouve, à l'examen attentif, des neurones ne possédant que quelques grains fluorescents fins dans leur cytoplasme sous forme d'amas dessinant la topographie des corps de Nissl ; ces derniers pouvant échapper à l'attention de l'observateur, ne sont pas décomptés dans nos résultats ; ils sont cependant particulièrement nombreux chez les animaux sous traitement à la prolactine.

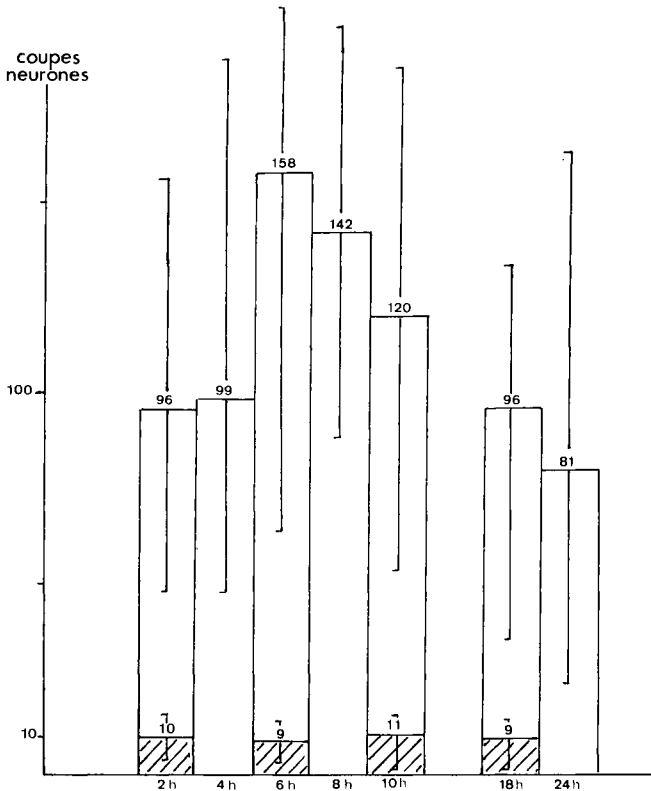


FIG. 1. — Variations du nombre moyen de sections de cellules à LH-RH immunofluorescentes en fonction du délai après injection intraventriculaire de 500 µg de prolactine ovine. Les colonnes hachurées concernent les animaux témoins ; les traits verticaux indiquent l'amplitude entre les valeurs extrêmes trouvées.

Chez tous les animaux traités il existe une charge importante en LH-RH de l'éminence médiane, tant dans sa lèvre dorsale que dans sa lèvre ventrale, avec une extension antéro-postérieure importante. Certains faisceaux de fibres à LH-RH ne se retrouvent que chez les animaux traités par PRL : il s'agit de fibres immunoréactives supra-chiasmiques à trajet ascendant latéroventriculaire, et d'un réseau prémammillaire dense. Les hypothalamus des Cobayes recevant de la prolactine sont d'une façon constante beaucoup plus riches en trajets axoniques et en terminaisons immunoréactives à LH-RH, que ceux des animaux recevant le seul solvant, qui nous servent de témoins.

Les résultats de nos dosages radioimmunologiques de LH sérique sont consignés dans la figure 2. Il apparaît que 2 h après injection de PRL intraventriculaire, on observe une élévation significative des taux de LH qui passent de $5,56 \pm 1,81$ ng/ml chez les témoins à $12,56 \pm 7,22$ ng/ml chez les traités. Cinq heures après l'injection on retrouve encore une augmentation des taux de LH sérique de nos animaux traités, mais elle est peu significative ; enfin dix-huit heures après traitement il ne persiste qu'une augmentation non significative de LH circulante. Nos séries expérimentales n'étant que de quatre animaux, nous considérons nos résultats comme préliminaires.

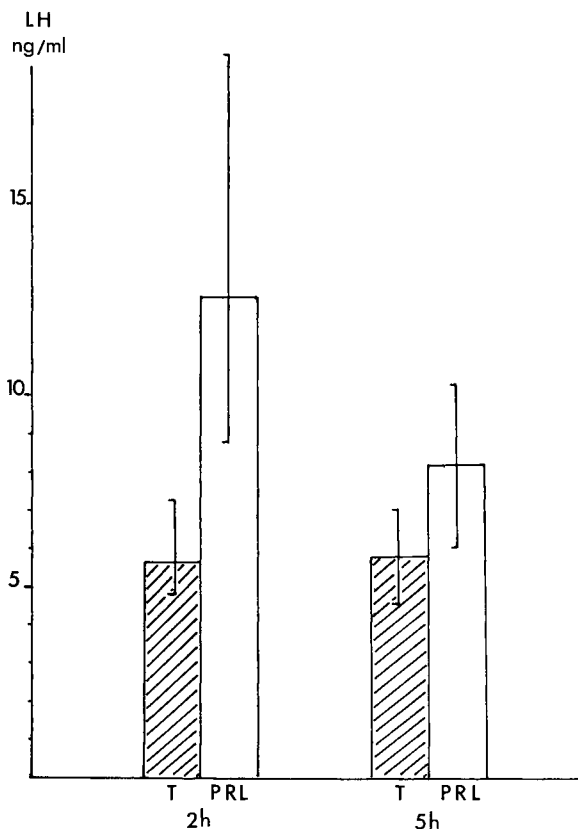


FIG. 2. — Variations des taux de LH plasmatique dosé par radioimmunologie, 2 et 5 h après l'injection intraventriculaire de prolactine ovine (PRL) chez le Cobaye mâle. T = témoins recevant le seul solvant. Les traits verticaux indiquent l'amplitude entre les valeurs extrêmes trouvées.

Discussion.

Il apparaît tout d'abord que l'injection de 500 μg de PRL ovine par voie intraventriculaire est susceptible de provoquer des modifications des neurones hypothalamiques à LH-RH, dans lesquels on voit augmenter le matériel immunoréactif. Nous avons pu montrer que cet effet n'est pas dépendant de la dose (Leonardelli, 1976) et qu'il s'exerce aussi si la PRL est injectée par voie générale, quoique de manière moins démonstrative dans ce cas. L'action de la PRL injectée par voie intraventriculaire est relativement rapide (2 h) aussi pourrait-on penser à une action hypophysaire de PRL sur la sécrétion de LH, mais les neurones à LH-RH étant dans les mêmes délais modifiés, il faut admettre que la PRL a aussi une action hypothalamique sur ces neurones et donc sur le contrôle de la sécrétion de LH. Un effet périphérique de PRL sur la sécrétion de stéroïdes gonadiques est probable mais sans rapport avec les modifications hypothalamiques provoquées dans le délai de 2 h. Enfin il nous faut discuter le fait que la PRL ovine utilisée ne soit pas pure : le contaminant le plus probable de PRL est GH, aussi la LH étant éliminée en principe au cours du fractionnement ne devrait pas être présente dans le produit injecté ; même si tel devait en être le cas les taux utilisés ne devraient pas permettre de retrouver l'hormone dans le sang circulant aux doses mesurées surtout 5 et 18 h après l'injection.

L'interprétation de cette mise en charge hypothalamique en LH-RH basée sur les observations morphologiques, est difficile car si l'apparition de grains immunofluorescents en amas dans certaines cellules, dans la topographie des corps de Nissl est plutôt en faveur de l'hypothèse d'une stimulation de la synthèse du LH-RH, l'accumulation de matériel immunoréactif dans l'éminence médiane peut tout autant coïncider avec un blocage de la cession qu'avec une synthèse stimulée. Ce sont les résultats préliminaires des dosages radioimmunologiques qui nous permettent de penser que la cession de LH-RH existe, qu'elle est probablement augmentée et que la synthèse doit être stimulée pour expliquer l'accumulation de LH-RH dans les corps cellulaires.

Cet effet stimulant de la prolactine injectée par voie intraventriculaire, sur la libération plasmatique de LH, concorde avec les résultats de Clemens *et al.* (1969) et de Voogt et Meites (1971) qui utilisaient des implants de PRL intraéminentiels ; ils nous permettent de supposer que l'hypothalamus médiobasal pourrait être l'un des points d'impact de la PRL. Dès lors l'hypothèse de travail que nous retenons est que au cours du rétro-contrôle hypothalamique de sa sécrétion la prolactine pourrait stimuler un système aminergique, dopaminergique plus précisément, qui à son tour pourrait influencer la synthèse et (ou) la cession de LH-RH. Dans ce cadre il serait possible de mieux comprendre l'action hyperprolactinémiant, stimulante dopaminergique (au niveau du noyau tubéroinfundibulaire) du Sulpiride qui par ailleurs provoque aussi une mise en charge des neurones hypothalamiques à LH-RH (Leonardelli *et al.*, 1973).

La Prolactine semble donc exercer une action centrale stimulante sur le centre de contrôle hypothalamique de la sécrétion de LH.

Remerciements. — Nous tenons à remercier Monsieur le Dr M. P. Dubois, INRA, Nouzilly, qui nous a procuré l'immunsérum anti LH-RH.

Travail réalisé dans le cadre d'un contrat INSERM 74.1.143.4 et d'un contrat de l'UER 3 des Sciences Médicales de Lille.

Références

- ACKER G., ALLOITEAU J. J., 1969. Le corps jaune peut-il s'opposer à l'ovulation lorsque la progestérone en est incapable. *C. R. Acad. Sci. Paris, Série D*, **269**, 1874-1877.
- BARRY J., DUBOIS M. P., POULAIN P., LEONARDELLI J., 1973. Caractérisation et topographie des neurones hypothalamiques immunoréactifs avec des anticorps anti LRF de synthèse. *C. R. Acad. Sci., Paris, Série D*, **276**, 3191-3193.
- BOHNET H. G., DAHLEN H. G., SCHNEIDER H. P. G., 1974. Hyperprolactinemia and pulsatile LH fluctuation. *Acta Endocrinol. (KbH)*, **75**, suppl. 184, 109.
- BOYAR R. M., KAPEN S., FINKELSTEIN J. W., PERLOW M., SASSIN J. F., FUKUSHIMA D. K., WEITZMAN E. D., HELLMAN L., 1974. Hypothalamic pituitary function in diverse hyperprolactinemic states. *J. Clin. Invest.*, **53**, 1588-1598.
- CLEMENS J. A., SAR M., MEITES J., 1969. Inhibition of lactation and luteal function in post partum rats by hypothalamic implantation of prolactin. *Endocrinology*, **84**, 868-872.
- CROIX D., FRANCHIMONT P., 1975. Changes in the serum levels of the gonadotrophins, progesterone and estradiol during the estrous cycle of the guinea pig. *Neuroendocrinology*, **19**, 1-11.
- DELVOYE P., TAUBERT H. D., JURGENSEN O., L'HERMITTE M., DELOGNE J., ROBYN C., 1974. Evolution des gonadotrophines et de la progestérone sériques au cours de l'hyperprolactinémie induite par le Sulpiride pendant la phase lutéale du cycle menstruel. *C. R. Acad. Sci., Paris, Série D*, **279**, 1463-1466.
- HIXON J. E., ARMSTRONG D. T., 1971. Inhibition of gonadotropin induced ovulation by prolactin. *Endocrinology*, **89**, 584-590.
- LEONARDELLI J., 1976. Modifications des neurones hypothalamiques à LH-RH après injection intraventriculaire de prolactine chez le cobaye. *Ann. Endocrinol.* (sous presse).
- LEONARDELLI J., BARRY J., DUBOIS M. P., 1973. Mise en évidence par immunofluorescence d'un constituant immunologiquement apparenté au LH-RF dans l'hypothalamus et l'éminence médiane chez les Mammifères. *C. R. Acad. Sci., Paris, Série D*, **276**, 2043-2046.
- LEONARDELLI J., DUBOIS M. P., 1975. Catecholaminergic, cholinergic and serotonergic control of LH-RH secreting neurons in the guinea pig hypothalamus. *Symp. Int. Soc. Psychoneuroendocrinol., Visegrad. Acta morph. Acad. Sci. Hung* (to be published.).
- LEONARDELLI J., HERMAND E., TRAMU G., 1973. Action du Sulpiride sur les neurones hypothalamiques élaborateurs de LH-RH. *C. R. Soc. Biol.*, **167**, 1815-1819.
- LINQUETTE M., BUVAT J., GASNAULT J. P., DECROIX-BLACKER C., THOMAS K., 1975. Evolution des gonadotrophines plasmatiques féminines sous Sulpiride. *Ann. Endocrinol.*, **36**, 49-50.
- Mc NATTY K. P., SAWERS R. S., Mc NEILLY A. S., 1974. A possible role for prolactin in control of steroid secretion by the human graafian follicle. *Nature*, **250**, 653-655.
- VOOGT J. L., MEITES J., 1971. Effects of an implant of prolactin in median eminence of pseudopregnant rats on serum and pituitary LH, FSH and prolactin. *Endocrinology*, **88**, 286-293.
- ZARATE A., SCHALLY A. V., SORIA J., JACOBS L. S., CANALES E. S., 1974. Effect of thyrotropin releasing hormone (TRH) on the menstrual cycle in women. *Obstet. Gynecol.*, **43**, 487-489.