

Puberté précoce après lésions hypothalamiques : rôle du TGF α

Le déclenchement de la puberté chez les femelles des mammifères est déterminé par une multitude d'événements interdépendants. Au cœur de ces événements se situe l'activation d'un petit groupe de neurones peptidergiques localisés dans l'hypothalamus. Ces neurones sécrètent de façon pulsatile un décapeptide, le LHRH (*luteinizing hormone-releasing hormone*), qui stimule la sécrétion des hormones gonadotropes hypophysaires, LH et FSH.

Les travaux des cinq dernières années ont montré que le signal initial de l'avènement de la puberté provient du système nerveux central [1]. Il est assuré par la maturation des neurones LHRH en un réseau fonctionnel. La manifestation la plus spectaculaire de cette maturation est une modification de leur activité sécrétoire indépendante des gonades. Chez les jeunes rates approchant de la puberté, on observe une modification des taux de LHRH libérés, la quantité de peptide sécrétée augmentant l'après-midi des journées qui précèdent la puberté. Sous l'influence de cette augmentation des taux circulants d'hormones gonadotropes, les ovaires achèvent leur développement et se mettent à sécréter suffisamment d'œstradiol pour déclencher le premier pic préovulatoire de LHRH. Celui-ci entraîne un pic de LH qui conduit à la première ovulation, marquant ainsi le début de la vie sexuelle adulte.

Si cette séquence d'événements est maintenant relativement bien connue, nous avons peu d'informations sur les facteurs qui permettent aux neurones LHRH de se développer en un réseau fonctionnel. Chez l'homme, des études cliniques s'appuyant sur l'analyse tomographique axiale ont permis d'associer un nombre croissant de cas de puberté précoce idiopathique (la forme la plus commune de puberté

précoce d'origine cérébrale chez les fillettes) à la présence de lésions discrètes situées dans l'hypothalamus ou à proximité [2]. Ces observations suggèrent que des modifications locales de l'environnement cellulaire des neurones LHRH pourraient être liées à la maturation précoce de ces neurones. Expérimentalement, il est possible d'induire une puberté précoce chez les rates et les primates femelles par des lésions de l'hypothalamus [3-5]. Ces lésions conduisent à une « véritable » puberté précoce dans le sens où ces animaux sont capables de se reproduire et d'élever leurs petits normalement [4]. Jusqu'à présent, l'effet de ces lésions a été attribué à la destruction de centre(s) inhibiteur(s) de la sécrétion de LHRH [5, 6]. Cependant, les prédictions de cette hypothèse ne sont pas vérifiées expérimentalement. Notamment, aucune augmentation rapide des taux d'hormones gonadotropes n'est observée, contrairement à ce que l'on attendrait à la suite de la destruction d'un centre exerçant une inhibition tonique sur l'activité sécrétoire des neurones LHRH [4, 7].

A la vue de ces résultats, nous avons envisagé la possibilité d'un développement d'activités stimulatrices de la libération de LHRH en réponse aux lésions hypothalamiques [8]. Parmi les différents facteurs pouvant assumer un tel rôle se trouvent les facteurs neurotrophiques considérés comme des acteurs de premier plan dans le contrôle du développement cérébral. Une des situations dans lesquelles la production des facteurs neurotrophiques est considérablement augmentée est celle rencontrée lors des remaniements cellulaires déclenchés par une blessure cérébrale [9]. Nous avons cherché à déterminer si les activités neurotrophiques produites localement à la suite de blessures cérébrales pouvaient être

impliquées dans le processus de puberté précoce liée à des lésions hypothalamiques. Nos efforts se sont concentrés sur le TGF α (*transforming growth factor alpha*), une protéine mitogène aux propriétés neurotrophiques [10], présente dans l'hypothalamus et capable de stimuler *in vitro* la sécrétion de LHRH à partir d'éminences médianes, la structure hypothalamique où sont rassemblées les terminaisons axonales des neurones LHRH [11].

Des rates prépubaires (âgées de 22 jours) ont été soumises à des lésions électrolytiques bilatérales de la partie rostrale de l'aire hypothalamique antérieure (AHA) et de la partie postérieure de l'aire préoptique (POA). Ces rates présentaient une puberté avancée de 5 à 6 jours par rapport aux animaux témoins, et les études d'immunocytochimie montraient que la majorité ($\geq 90\%$) des neurones LHRH était épargnée par la lésion. L'avènement de la puberté était contrôlé par la canalisation du vagin, l'ouverture du vagin étant, chez les rates, un événement strictement dépendant des œstrogènes et qui suit la première ovulation.

Le dosage par *Northern blot* et par hybridation *in situ* en solution des taux d'ARN messager (ARNm) du TGF α dans les tissus entourant le site de la lésion (AHA-POA) a montré une augmentation d'un facteur 3 à 4 de l'abondance de l'ARNm du TGF α dès six jours après la lésion (*figure 1*) quand les rates approchent de la puberté. Une augmentation plus modeste de l'abondance de l'ARNm du récepteur de TGF α , l'*epidermal growth factor receptor* (récepteur EGF/TGF α), était également observée (Junier *et al.*, en préparation). Le TGF α est en effet un analogue structural et fonctionnel de l'EGF et tous ses effets biologiques passent par la mise en jeu de l'activité tyrosine kinase du récepteur

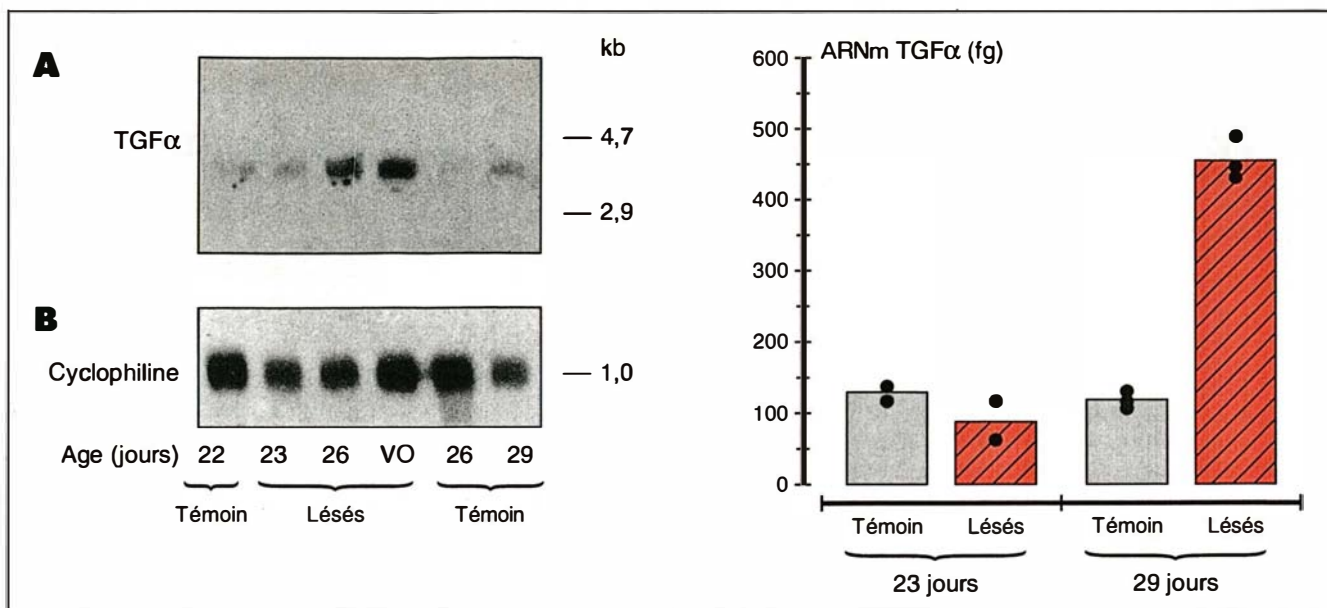


Figure 1. **Panneau gauche : abondance de l'ARNm du TGF α (A) dans l'aire pré-optique (partie postérieure) et l'aire hypothalamique antérieure à différents temps après la lésion.** (Northern blot, 2,5 μ g ARN poly(A⁺) par ligne) ; **(B)** signal de la cyclophiline, un gène exprimé de façon constitutive par les tissus cérébraux. **Panneau droit : quantités d'ARNm du TGF α dans les POA-AHA quantifiés par hybridation en solution 1 et 7 jours après la lésion.** VO : ouverture du vagin.

EGF/TGF α [12]. L'ARNm de l'EGF est indétectable dans l'hypothalamus et, dans cette structure cérébrale, le TGF α apparaît comme le ligand endogène du récepteur EGF/TGF α [11].

Grâce à des études d'hybridation *in situ* et d'immunocytochimie, le TGF α a été localisé en forte concentration dans des astrocytes réactifs proliférant tout autour du site de la lésion (figure 2). Les cellules exprimant le récepteur EGF/TGF α étaient également des astrocytes réactifs situés autour de la lésion, mais en moins grand nombre que les cellules exprimant le TGF α . Afin d'évaluer la participation du

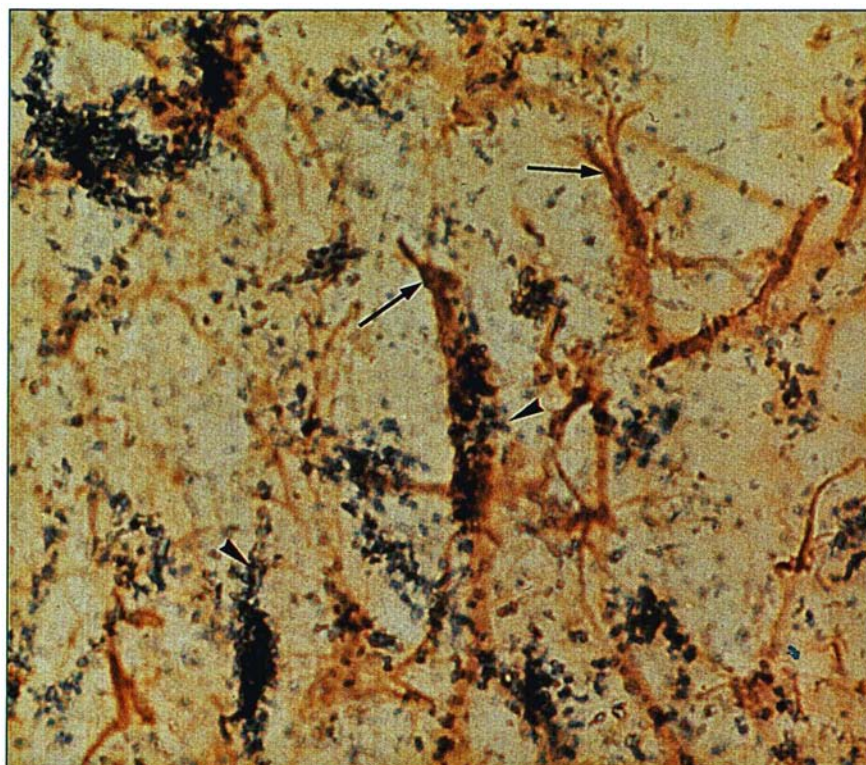


Figure 2. **Colocalisation du TGF α et du GFAP (glial fibrillary acid protein, un marqueur spécifique des astrocytes) autour du site de la lésion.** Le marquage marron et lisse correspond au GFAP (flèches) et le marquage bleu d'aspect ponctué correspond au TGF α (têtes de flèche).

TGF α à l'induction de la puberté précoce par les lésions, nous avons bloqué l'activité tyrosine kinase du récepteur EGF/TGF α par une tyrphostine, le RG 50864, qui en est un inhibiteur sélectif [13]. Dans ces conditions, le RG 50864 bloquait l'avancement de la puberté induit par les lésions (figure 3), montrant ainsi la participation du TGF α aux mécanismes par lesquels des lésions hypothalamiques déclenchent une précocité sexuelle. Ils indiquent également que cet effet du TGF α passe par la mise en jeu de l'activité tyrosine kinase de son récepteur.

La principale conséquence des lésions est une stimulation de l'activité sécrétagogue des neurones LHRH (Junier *et al.*, en préparation). Toutefois, aucun récepteur au TGF α n'a pu être détecté sur les neurones LHRH (Hill *et al.*, en préparation). Les études *in vitro* avaient montré que l'action sécrétagogue du TGF α sur la libération de LHRH à partir des éminences médianes était non seulement bloquée par le RG 50864, mais dépendait également de la mise en jeu d'un métabolite de l'acide arachidonique, la prostaglandine E₂ (PGE₂) [11]. D'autres études ont montré que les astrocytes libèrent de la PGE₂ à la suite de divers stimuli [14]. Ces résultats suggèrent que le mécanisme par lequel TGF α agit sur les neurones LHRH implique une interaction neurone/glie. Le TGF α produit par les astrocytes réactifs stimulerait de façon autocrine et/ou paracrine la libération de prostaglandines par les cellules gliales, les prostaglandines agissant en retour sur les neurones LHRH pour stimuler la libération de LHRH.

Cette étude permet d'envisager qu'une expression anormale de TGF α contribue à l'étiologie des précocités sexuelles humaines d'origine centrale, aussi bien idiopathiques que consécutives à des lésions hypothalamiques. La question d'une éventuelle implication de TGF α dans l'initiation de la puberté normale reste ouverte. Il semblerait, toutefois, que ce soit le cas — car nous avons observé des augmentations corrélées des taux d'ARNm du TGF α dans l'hypothalamus et des taux de gonadotropines circulantes, et, surtout, car nous avons pu retarder l'avènement de la puberté chez la rate nor-

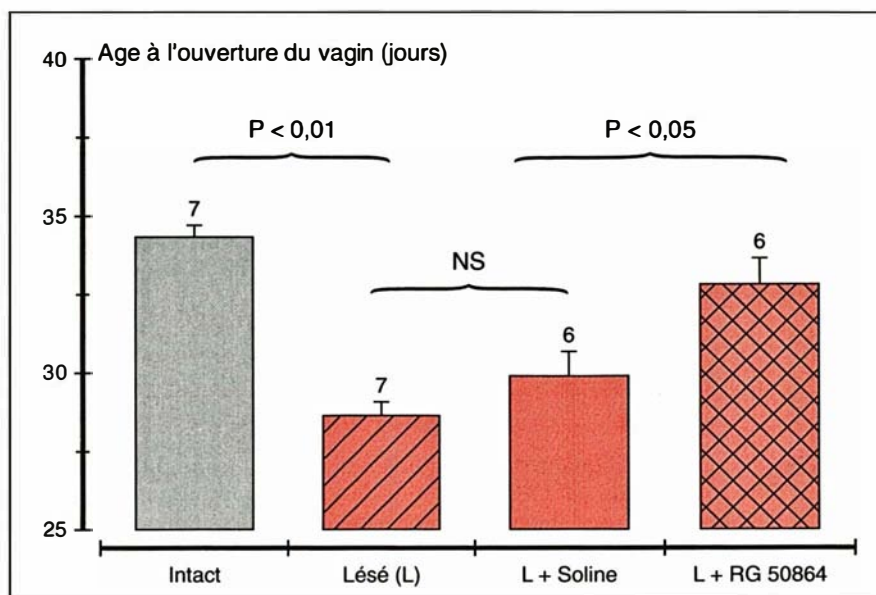


Figure 3. Blocage de l'avancement de la puberté induit par les lésions après injection de RG 50864, un inhibiteur sélectif de l'activité tyrosine kinase du récepteur EGF/TGF α .

male grâce à des implants de RG 50864 situés à proximité de l'éminence médiane (Ma *et al.*, en préparation) ■

Marie-Pierre Junier

Stagiaire post-doctorale, boursière de l'association Recherche et Partage, adresse actuelle C/JF Inserm U. 9102, centre hospitalier universitaire Henri-Mondor, 94010 Créteil, France.

Sergio R. Ojeda

Directeur de la division de neuroscience, Oregon Regional Primate Research Center, Beaverton, OR 97006, États-Unis.

RÉFÉRENCES

- Ojeda SR, Urbanski HF. Puberty in the rat. In : Knobil F, Neill J, *et al.*, eds. *The Physiology of Reproduction*. New York : Raven Press Ltd, 1988 : 1600-737.
- Cacciari EE, Frejavielle E, Cicognani A, *et al.* How many cases of true precocious puberty in girls are idiopathic? *J Pediatr* 1983 ; 102 : 357-60.
- Donovan BT, Van der Werff Ten Bosch JJ. Precocious puberty in rats with hypothalamic lesions. *Nature* 1956 ; 178 : 745.
- Advis JP, Ramirez VD. Plasma levels of LH and FSH in female rats with precocious puberty induced by hypothalamic lesions. *Biol Reproduction* 1977 ; 17 : 313-20.
- Terasawa E, Noonan JJ, Nass TE, Loose MD. Posterior hypothalamic lesions advance the onset of puberty in the female rhesus monkey. *Endocrinology* 1984 ; 115 : 2241-50.

RÉFÉRENCES

- Crithchlow VC, Bar-Sela ME. Control of the onset of puberty. In : Matini L, Ganong WF, eds. *Neuroendocrinology*, vol. 2. New York : Academic Press, 1967 : 101-62.
- Ruff KB, Wilkinson M, De Ziegler D. Brain lesions and precocious puberty in rats. *Nature* 1975 ; 257 : 404-5.
- Junier MP, Ma YJ, Costa ME, Hoffman G, Hill DF, Ojeda SR. Transforming growth factor alpha contributes to the mechanism by which hypothalamic injury induces precocious puberty. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 9743-7.
- Nieto-Sampedro M, Cotman CW. Growth factor induction and temporal order in central nervous system repair. In : Cotman C, ed. *Synaptic Plasticity*. New York : Guilford Press, 1985 : 407-55.
- Massague J. Transforming growth factor alpha. *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 21393-6.
- Ojeda SR, Urbanski HF, Costa ME, Hill DF, Moholt-Siebert M. Involvement of transforming growth factor alpha in the release of luteinizing hormone-releasing hormone from the developing female hypothalamus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 9698-702.
- Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 7709-12.
- Yaish P, Gazit A, Gilon C, Lcvitzki A. Blocking of EGF-dependent cell proliferation by EGF receptor kinase inhibitors. *Science* 1988 ; 242 : 933-5.
- Katsuura G, Gottschall PE, Dahl RR, Arimura A. Interleukin 1 beta increases prostaglandin E₂ in rat astrocyte cultures : modulatory effect of neuropeptides. *Endocrinology* 1989 ; 124 : 3125-7.