

Les neurostéroïdes : une nouvelle fonction du cerveau ?

La prégnénolone et la déhydroépiandrostérone s'accumulent dans le cerveau par un processus indépendant des glandes stéroïdogènes, et la synthèse de prégnénolone à partir du cholestérol a pu être démontrée dans les oligodendrocytes. Ces « neurostéroïdes » peuvent intervenir dans certains comportements sexuels et d'agression. Leurs dérivés métaboliques modulent la fonction du récepteur A du GABA (acide γ -aminobutyrique).

Paul Robel
Étienne-Émile Baulieu

Les relations entre stéroïdes et fonctionnement cérébral doivent être réenvisagées à la faveur d'un fait nouveau : l'existence d'une voie biosynthétique de ces composés à partir du cholestérol, assurée dans le cerveau par les oligodendrocytes, les cellules gliales qui synthétisent la myéline.

Introduction

Les hormones stéroïdes sont synthétisées, à partir du cholestérol [1], dans les cellules glandulaires des surrénales pour les gluco- et minéralocorticostéroïdes, et dans celles des gonades et du placenta pour les dérivés ayant une activité sexuelle. Leur lipophilicité explique le passage facile de la barrière hémato-encéphalique. Au niveau cérébral, les hormones stéroïdes influencent le fonctionnement de nombreuses cellules nerveuses : les mieux connues sont les neurones qui sécrètent les « facteurs hypophysiotro-

pes » stimulant la production des hormones hypophysaires comme l'ACTH et les gonadotrophines, et qui sont soumis à une régulation (un rétrocontrôle) par l'hormone stéroïde correspondante. La cartographie des récepteurs intracellulaires des hormones stéroïdes, obtenue par autoradiographie après administration d'hormones radioactives ou incubation de coupes de cerveau, et par immunohistochimie à l'aide d'anticorps anti-récepteur, a permis de définir avec précision les ensembles neuronaux impliqués au niveau de l'hypothalamus [2]. Les mécanismes d'action des hormones stéroïdes sur les processus mentaux, comportementaux et métaboliques contrôlés par le cerveau restent encore très mal connus.

Nous avons observé dans le cerveau la présence et la synthèse de stéroïdes à partir du cholestérol, indépendamment du fonctionnement des glandes endocrines, et nous avons proposé le terme de neurostéroïdes pour les désigner [3]. Cette courte

ADRESSE

P. Robel : directeur de recherche au Cnrs. E.E. Baulieu : professeur à la faculté, directeur de l'U. 33 Inserm. Communications hormonales (Inserm U.33) et biochimie hormonale. Faculté de médecine, université Paris-Sud, 78, rue du Général Leclerc, 94275 Bicêtre, France.

revue rassemble les arguments expérimentaux en faveur de la synthèse des neurostéroïdes et les premières observations sur leur activité.

Des stéroïdes cérébraux inexpliqués par la production des glandes périphériques. Dans les surrénales et les glandes génitales, le premier stéroïde formé à partir du cholestérol est la prégnénolone (P), dont la structure à 21 atomes de carbone résulte de la

scission oxydative du cholestérol dans les mitochondries. Dans certains cas, une scission itérative provoque la formation de déhydroépiandrosterone (D) : la prégnénolone et la déhydroépiandrosterone conservent la structure Δ^5 - 3β hydroxylée du cholestérol (figure 1).

Nous avons mis en évidence dans le cerveau de rat des concentrations élevées de prégnénolone et de déhydro-

épiandrosterone, supérieures à celles du plasma sanguin, à l'inverse du cas de la corticostérone et de la testostérone – dont les concentrations plasmatiques sont très supérieures aux concentrations cérébrales [4, 5]. Les concentrations de prégnénolone et de déhydroépiandrosterone ne sont pas influencées par l'administration d'ACTH ou le freinage surrénalien à la dexaméthasone, et subissent des

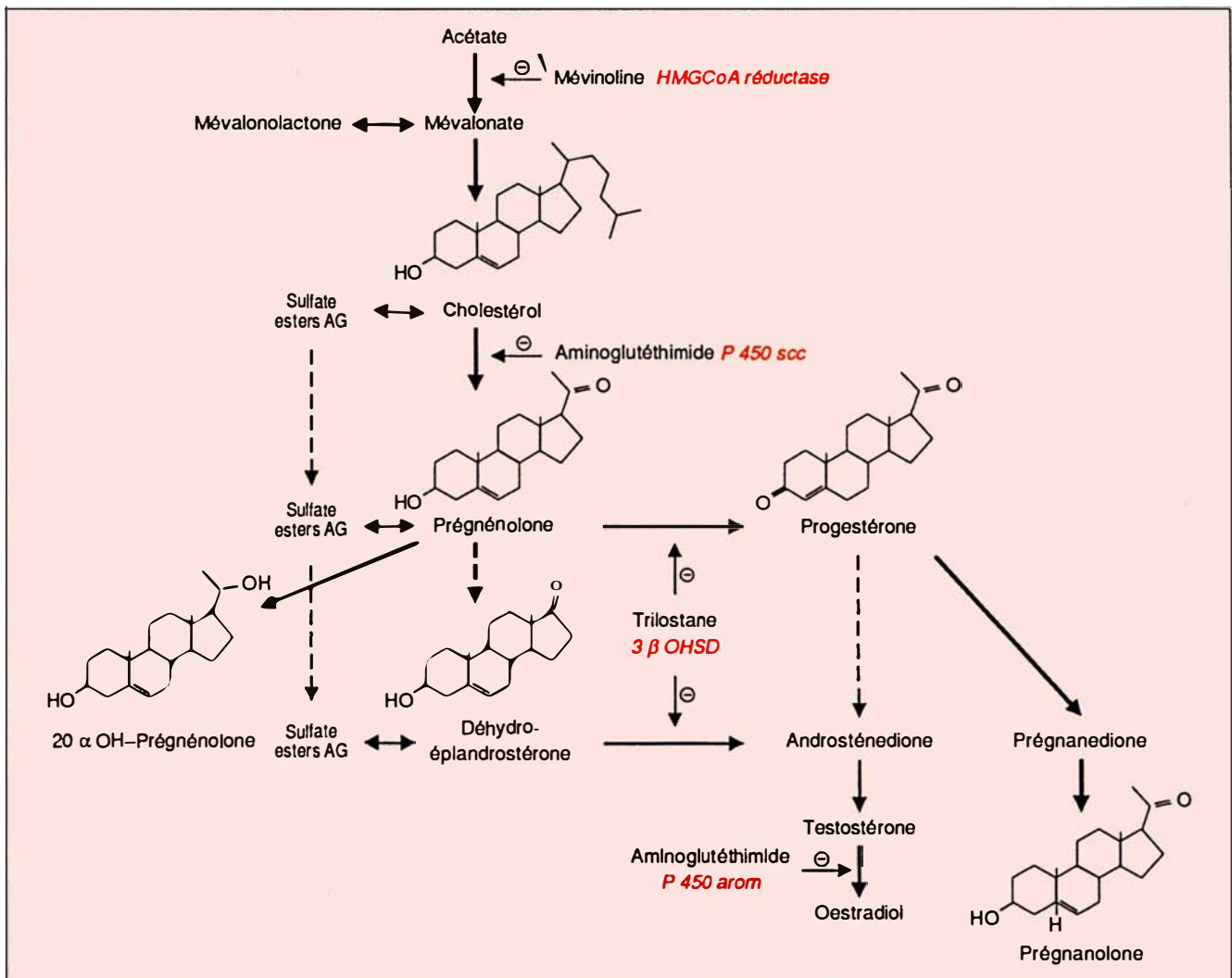


Figure 1. **Biosynthèse des stéroïdes cérébraux.** Les flèches en trait plein indiquent les conversions métaboliques effectivement démontrées. Le rôle de la 3β -hydroxy- 3β -méthyl glutaryl-coenzyme A réductase (HMG-Co-A réductase) dans la synthèse du cholestérol par les cellules gliales est documenté par ailleurs. L'HMG-CoA-réductase est inhibée par la mévinoline, le cytochrome P450_{scc} par l'aminoglutéthimide, et la Δ^5 - 3β -hydroxystéroïde déshydrogénase (3β OHSD) par le trilostane. La conversion P \rightarrow D est postulée mais non démontrée. AG = acides gras.

RÉFÉRENCES

- Lieberman S, Greenfield MJ, Wolfson A. A heuristic proposal for understanding steroidogenic processes. *Endocrinol Rev* 1981 ; 5 : 128-48.
- Fuxe K, Gustafsson JA, Wetterberg L. *Steroid Hormone Regulation of the Brain*. Oxford : Pergamon Press, 1981.
- Baulieu EE. Steroid hormones in the brain : several mechanisms ? In : Fuxe K, Gustafsson JA, Wetterberg L, eds. *Steroid Hormone Regulation of the Brain*. Oxford : Pergamon Press, 1981 : 3-14.
- Corpéchet C, Robel P, Axelson M, Sjövall J, Baulieu EE. Characterization and measurement of dehydroepiandrosterone sulfate in the rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981 ; 78 : 4704-7.
- Corpéchet C, Synguelakis M, Talha S, et al. Pregnenolone and its sulfate ester in the rat brain. *Brain Res* 1983 ; 270 : 119-25.
- Robel P, Baulieu EE. Neuro-steroids : 3 β -hydroxy- Δ 5-derivatives in the rodent brain. *Neurochem Int* 1985 ; 7 : 953-8.
- Robel P, Bourreau E, Corpéchet C, et al. Neuro-steroids : 3 β -hydroxy- Δ 5-derivatives in rat and monkey brain. *J Steroid Biochem* 1987 ; 27 : 649-55.
- Baulieu EE, Robel P, Vatiér O, Haug M, Le Goascogne C, Bourreau E. Neuro-steroids : pregnenolone and dehydroepiandrosterone in the brain. In : Fuxe K, Agnati LF, eds. *Receptor interactions*. Basingstoke : MacMillan Press, 1987 ; 48 : 89-104.
- Jo DH, Ait Abdallah M, Young J, Baulieu EE, Robel P. Pregnenolone, dehydroepiandrosterone, and their sulfate and fatty acid esters in the rat brain. *Steroids* 1989 ; 54 : 287-97.
- Le Goascogne C, Robel P, Gouézou M, Sananès N, Baulieu EE, Waterman M. Neurosteroids : cytochrome P450_{sec} in rat brain. *Science* 1987 ; 237 : 1212-5.
- Jung-Testas I, Alliot F, Pessac B, Robel P, Baulieu EE. Localisation immunohistochimique du cytochrome P450_{sec} dans les oligodendrocytes de rat en culture. *CR Acad Sci Paris* 1989 ; 308 : 165-70.
- Warner M, Tollet P, Strömstedt M, Gustafsson JA. Endocrine regulation of cytochrome P450 in the rat brain and pituitary gland. *J Endocrinol* 1989 ; 122 : 341-9.

Tableau I

CONCENTRATION DES NEUROSTÉROÏDES PRÉGNÉNONOLONE (P), DÉHYDROÉPIANDROSTÉRONNE (D) ET DE LEURS CONJUGUÉS (S : ESTER SULFATE, ET L : LIPOÏDIQUE, ESTER D'ACIDE GRAS) DANS LE CERVEAU DE RAT [9]

Rats	P	PS	PL	DS	DL
Mâles	25 ± 8	19 ± 6	46 ± 14	2,1 ± 0,5	0,59 ± 0,30
Femelles diestrus	32 ± 15	19 ± 6	46 ± 19	1,7 ± 0,4	0,34 ± 0,12
proestrus	27 ± 14	26 ± 6	50 ± 17	2,2 ± 0,4	

Les rats (*Sprague-Dawley*, souche *Ofa*, *Iffa Credo*, *l'Arbresle*) ont été sacrifiés à l'âge de 11 semaines, 10 heures après le début de l'éclairement. Les mesures ont été faites sur le cerveau entier et les résultats sont exprimés en ng/g (moyen ± écart-type, n = 9 ou 10). Les concentrations de D étaient inférieures à 0,5 ng/g, et n'étaient pas mesurables dans les conditions utilisées. Les valeurs sont tirées de la référence [9] ; elles sont corrigées en ce qui concerne DL (pour cette dernière on n'a pas distingué les phases du cycle œstral). Le test de Student a montré des différences significatives en fonction du stade du cycle œstral pour PS et DS.

variations circadiennes décalées par rapport à celles des stéroïdes surrénaliens [6]. La prégnénonolone est déjà présente à une concentration élevée dans la période post-natale, qui chez le rat est caractérisée par une inactivité presque complète des surrénales. Un argument indirect, mais particulièrement important, pour évoquer la synthèse cérébrale de prégnénonolone et de déhydroépiandrosterone est obtenu après castration et surrénalectomie : la prégnénonolone et la déhydroépiandrosterone persistent dans le cerveau malgré plusieurs semaines de déficit hormonal périphérique, au contraire de la testostérone d'origine testiculaire qui en disparaît rapidement. Qu'il ne s'agisse pas de stockage cérébral semble également indiqué par l'administration de prégnénonolone et de déhydroépiandrosterone radioactives dont nous avons montré l'entrée et la sortie rapide du compartiment cérébral, ainsi que par l'administration d'aminoglutéthimide qui, inhibant la synthèse de prégnénonolone, en fait décliner la concentration dans le cerveau : la clairance cérébrale des neurostéroïdes semble très rapide, ce qui implique un taux de renouvellement élevé [6-8].

La prégnénonolone et la déhydroépiandrosterone sont présentes dans le cerveau sous forme de stéroïdes non conjugués, d'esters sulfates (S) et d'esters

d'acides gras (dérivés lipidoïques, L). La concentration de ces différents dérivés a été mesurée dans le cerveau de rats adultes jeunes, mâles et femelles (Tableau I). Les mesures ont été faites dix heures après le début de l'éclairement, à proximité de l'acrophase des variations circadiennes [9]. Les valeurs correspondent à des concentrations moyennes de l'ordre de 10⁻⁸ M et même 10⁻⁷ M, ce qui, du fait de la compartimentation hautement probable du stéroïde, implique l'existence de concentrations régionales très élevées.

Stéroïdogénèse par les oligodendrocytes et métabolisme des neurostéroïdes

La démonstration de la synthèse de prégnénonolone à partir de cholestérol par une formation neurale a été très difficile. Les expériences utilisant des coupes, des homogénats et des fractions subcellulaires obtenues à partir de cerveau total ont été négatives pour différentes raisons, au nombre desquelles l'hétérogénéité cellulaire (en supposant que la synthèse soit propre à certaines cellules), le taux important de cholestérol endogène (diluant la radioactivité du traceur-précurseur devant marquer la prégnénonolone) et l'accès malaisé aux

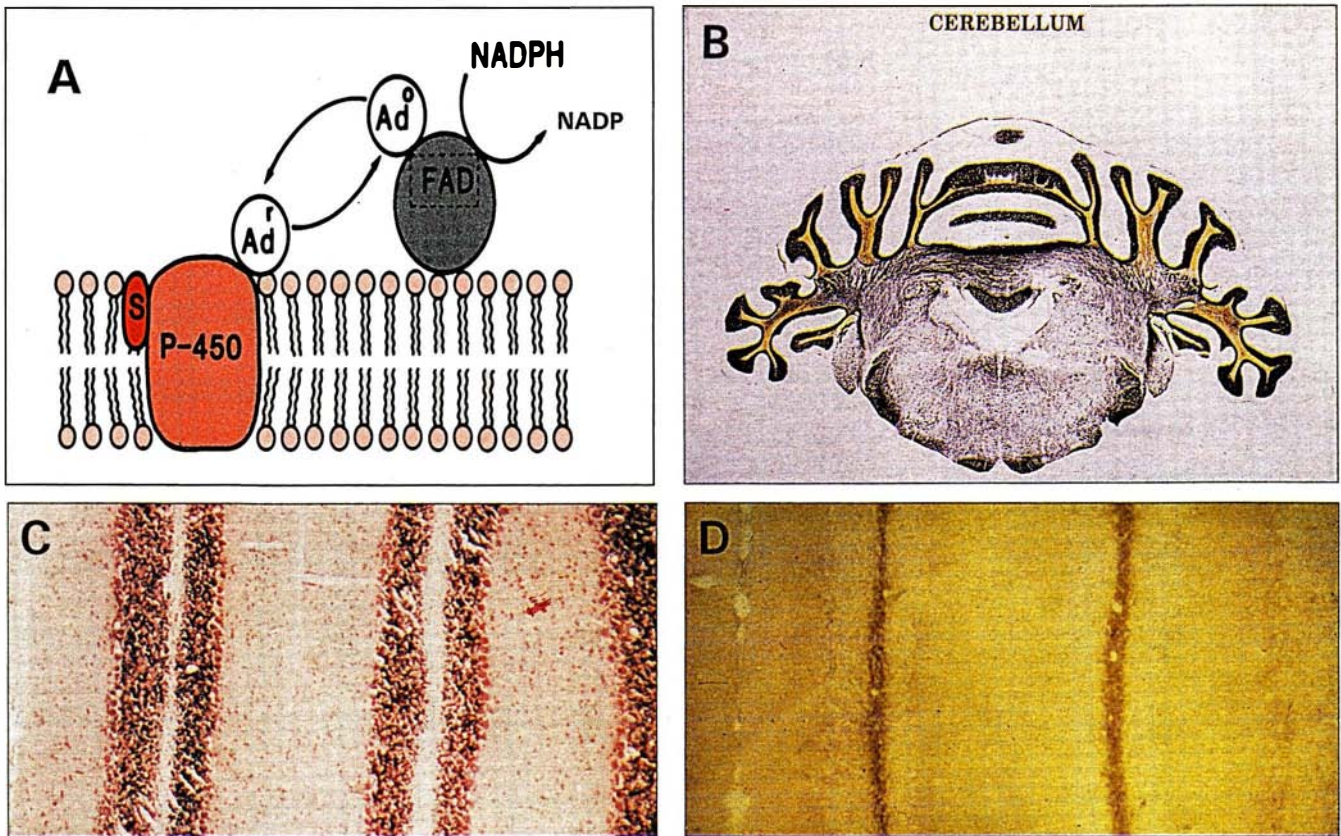


Figure 2. **Clivage enzymatique du cholestérol.** **A.** Le cytochrome $P450_{scc}$ est une protéine mitochondriale membranaire associée à l'adrénodoxine (Ad) réduite par une réductase à FAD. **B.** Schéma d'une coupe transversale de cervelet de rat. **C.** Cervelet de rat, après coloration par le trichrome de Masson (cerebellum = cervelet). **D.** Détection immunohistochimique du cytochrome $P450_{scc}$ par la méthode à la peroxydase au niveau du cervelet de rat. La substance blanche est seule marquée (avec l'aimable autorisation du Dr C. Le Goascogne).

enzymes de la stéroïdogénèse (partition du traceur-précurseur dans les lipides).

Alors que les expériences de biochimie stéroïdienne échouaient, une étude immunohistochimique visant à localiser les enzymes impliquées dans la stéroïdogénèse par les cellules du cerveau s'est avérée fructueuse. Le complexe enzymatique assurant la formation de prégnénolone à partir du cholestérol associe le cytochrome $P450_{scc}$ (scc pour *side chain cleavage* : coupure de la chaîne latérale du cholestérol), l'adrénodoxine et l'adrénodoxine réductase (figure 2).

Nous avons utilisé des immunoglobulines de sérum de lapins immunisés avec le cytochrome $P450_{scc}$ de surrénale bovine et de rat. Ces anticorps reconnaissent le cytochrome $P450_{scc}$

dans les cellules stéroïdogènes de corticosurrénale, d'ovaire et de testicule chez le rat. Dans le cerveau de cet animal, les critères de spécificité de la réaction immunohistochimique n'ont pas été faciles à réunir, et il faut toujours conserver à l'esprit la possibilité de détecter un ou des épitopes communs à l'enzyme recherchée et à d'autres constituants cérébraux. La seule approche immunologique ne peut suffire de toute façon à définir l'existence d'une activité enzymatique. Elle indique cependant que, en première approximation, le $P450_{scc}$ est localisé dans la substance blanche, partout où elle se trouve [10].

La substance blanche est constituée par des fibres nerveuses entourées d'une gaine de myéline, et nous

avons fait l'hypothèse que les cellules qui fabriquent la myéline, les oligodendrocytes, pourraient aussi produire des stéroïdes, ce que suggère aussi l'immunohistochimie [11]. Il existe des techniques très sélectives d'isolement des oligodendrocytes, et après avoir utilisé l'une d'elles, nous avons séparé leurs mitochondries. Lorsque nous avons incubé ces mitochondries dans les conditions décrites pour observer la stéroïdogénèse surrénalienne, nous avons effectivement obtenu une transformation de cholestérol- 3H en $P\text{-}^3H$ et un dérivé de celle-ci, la 20-OHP- 3H ($\Delta 5$ -prégnène- 3β , 20 α -diol tritié) (Tableau II, p. 256). Cependant si, dans les mêmes conditions, on étudie le métabolisme du cholestérol- 3H dans les mitochondries de cerveau

RÉFÉRENCES

13. Hu ZY, Bourreau E, Jung-Testas I, Robel P, Baulieu EE. Oligodendrocyte mitochondria convert cholesterol to pregnenolone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 8215-9.
14. Hu ZY, Jung-Testas I, Robel P, Baulieu EE. Resumption of steroidogenesis in primary glial cell cultures after release of aminoglutethimide blockade. *Biochem Biophys Res Commun* 1989 ; 161 : 917-22.
15. Jung-Testas I, Hu ZY, Robel P, Baulieu EE. Biosynthesis of pregnenolone and progesterone in primary cultures of rat glial cells. *Endocrinology* 1989 ; 125 : 2083-91.
16. Lanthier A, Patwardhan VV. Effect of heterosexual olfactory and visual stimulation on 5-en-3 β -hydroxysteroids and progesterone in the male rat brain. *J. Steroid Biochem* 1987 ; 28 : 697-701.
17. Naftolin F, Ryan J, Davies IJ, et al. The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues. *Rec Progr Hormone Res* 1975 ; 31 : 295-319.
18. Haug M, Brain PF. Effects of treatments with testosterone and oestradiol on the attack directed by groups of gonadectomized male and female mice towards lactating intruders. *Physiol Behav* 1979 ; 23 : 397-400.
19. Haug M, Spetz J-F, Ouss-Schlegel ML, Baulieu EE, Robel P. Rôle de la déhydroépiandrosterone et de la prégnénolone dans l'expression du comportement d'agression vis-à-vis de femelles allaitantes chez la souris. *Path Biol* 1988 ; 36 : 995-1001.
20. Corpéchet C, Leclerc P, Baulieu EE, Brazeau P. Neurosteroids : regulatory mechanisms in male rat brain during heterosexual exposure. *Steroids* 1985 ; 45 : 229-34.
21. Majewska MD, Bluet-Pajot MT, Robel P, Baulieu EE. Pregnenolone sulfate antagonizes barbiturate-induced hypnosis. *Pharmacol Biochem Behav* 1989 ; 33 : 701-3.
22. Roberts E., Bologna L, Flood JF, Smith GE. Effects of dehydroepiandrosterone and its sulfate on brain tissue in culture and on memory in mice. *Brain Res* 1987 ; 40 : 357-62.

total, il n'y a pas de formation de P-³H indiquant à nouveau la difficulté de la mise en évidence de la réaction. D'autres auteurs, récemment, n'ont pu montrer l'existence de cytochrome P450_{sc} dans les mitochondries cérébrales que chez la femelle gestante [12]. La démonstration a été complétée en effectuant des cultures de cellules gliales de rats nouveaux-nés. Ces cultures primaires contiennent des précurseurs des deux catégories de cellules gliales, les astrocytes et les oligodendrocytes. Des expériences de double marquage avec des anticorps spécifiques de constituants des oligodendrocytes (galactocérébroside) ou des astrocytes (protéine fibrillaire acide) et des anticorps anti-P450_{sc} ont confirmé la présence de l'enzyme de la stéroïdogénèse dans les oligodendrocytes (figure 3) [13, 14]. Les études de biosynthèse dans les cellules en culture ont été menées à l'aide d'un précurseur radioactif du cholestérol, le mévalonate. De plus, nous avons utilisé un inhibiteur de l'HMG-CoA-réductase, la mévinoline, pour favoriser l'utilisation du mévalonate exogène et obtenir une meilleure radioactivité spécifique des produits dérivant du cholestérol synthétisé. Le métabolisme ultérieur de la prégnénolone a été inhibé par le trilostane, un inhibiteur de la 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase, enzyme qui transforme la prégnénolone en progestérone. Le point d'impact de ces inhibiteurs est indiqué sur la figure 1. Ces expériences ont confirmé de façon

certaine la synthèse de cholestérol, de prégnénolone et de 20-OH prégnénolone par les cellules gliales. Cette synthèse, inhibée par l'aminoglutéthimide, est augmentée par les analogues de l'AMP cyclique et les glucocorticostéroïdes. Dans les cultures, l'apparition de la stéroïdogénèse coïncide avec la différenciation des oligodendrocytes attestée par l'augmentation de l'activité d'une enzyme marqueur, la phosphodiesterase de nucléotide 2', 3'-cyclique (CNPase) (figure 4, p. 258).

La prégnénolone peut être transformée en progestérone dans les cultures de cellules gliales [6, 15]. A son tour, la progestérone peut être partiellement convertie en métabolites 5 α -réduits, la prégnanedione et la prégnanolone (figure 1). Il n'est pas exclu que les neurones puissent effectuer les mêmes conversions enzymatiques, à partir de la prégnénolone provenant des oligodendrocytes.

Compte tenu des expériences *in vitro*, on peut considérer actuellement qu'en plus de la prégnénolone et de ses esters, la progestérone et ses dérivés réduits peuvent être rangés dans la catégorie des neurostéroïdes. On verra plus loin la signification potentielle d'une telle définition (voir aussi figure 5, p. 259). La concentration de progestérone dans le cerveau est de l'ordre de 1-2 ng/g [16] et celle des métabolites 5 α -réduits de la progestérone n'a pas encore été déterminée. Il faudra examiner si la progestérone et ses métabolites se conforment aux mêmes critères d'indépendance vis-à-

Tableau II

CONVERSION DU ³H-CHOLESTÉROL EN P-³H ET 20-OH P-³H PAR DES MITOCHONDRIES ISOLÉES [13]

Cellules	P- ³ H	20-OH P- ³ H
	pmol/mg protéine/heure	
Oligodendrocytes	2,6 ± 0,3 n = 5	1,9 ± 0,5 n = 4
Cellules surrénaliennes	14,8 n = 2	

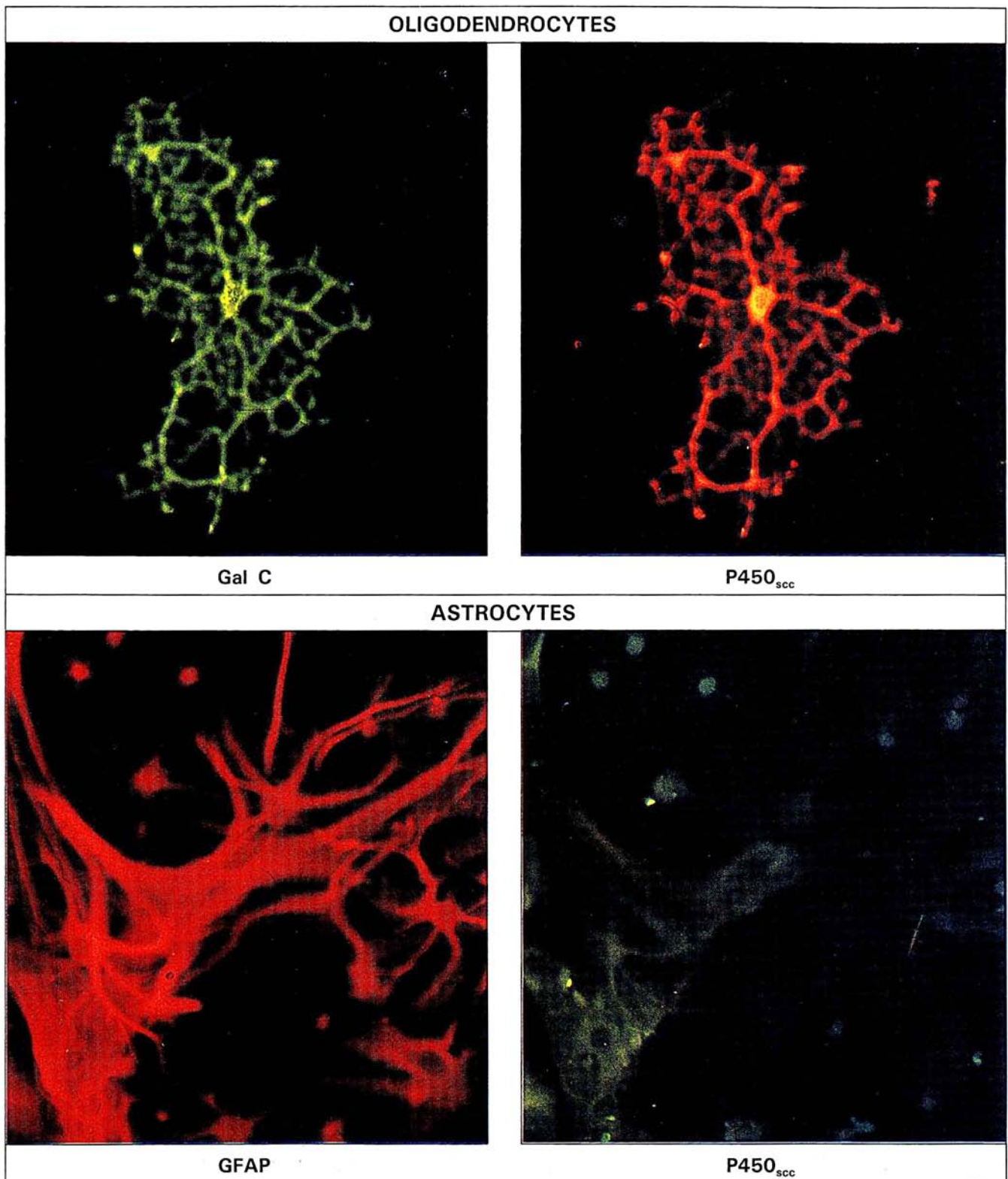


Figure 3. **Localisation immunocytochimique du cytochrome P450_{scc}. Oligodendrocytes en culture.** Double marquage à l'aide d'un anticorps monoclonal anti-Gal C marqué à la fluorescéine (à gauche) et des immunoglobulines anti-P450_{scc} marquées à la rhodamine (à droite). **Astrocytes en culture.** Double marquage à l'aide d'un anticorps anti-GFAP marqué à la rhodamine (à gauche) et des immunoglobulines anti-P450_{scc} marquées à la fluorescéine (à droite) (avec l'aimable autorisation du Dr I. Jung-Testas).

RÉFÉRENCES

23. Baulieu EE, Godeau F, Schorderet M, Schorderet-Slatkine S. Steroid induced meiotic division in *Xenopus laevis* oocytes : surface and calcium. *Nature* 1978 ; 275 : 593-8.
24. Blondeau JP, Baulieu EE. Progesterone receptor characterized by photoaffinity labeling in the plasma membrane of *Xenopus laevis* oocytes. *Biochem J* 1984 ; 219 : 785-92.
25. Finidori-Lepicard J, Schorderet-Slatkine S, Hanoune J, Baulieu EE. Steroid hormone as regulatory agent of adenylate cyclase. Inhibition by progesterone of the membrane bound enzyme in *Xenopus laevis* oocytes. *Nature* 1981 ; 292 : 255-6.
26. Carette B, Poulain P. Excitatory effect of dehydroepiandrosterone, its sulfate ester and pregnenolone sulfate, applied by iontophoresis and pressure, on single neurons in the septo-preoptic area of the guinea pig. *Neurosci Lett* 1984 ; 45 : 205-10.
27. Majewska MD, Harrison NL, Schwartz RD, Barker JL, Paul SM. Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science* 1986 ; 232 : 1004-7.
28. Majewska MD, Schwartz RD. Pregnenolone sulfate : an endogenous antagonist of the γ -aminobutyric acid receptor complex in brain. *Brain Res* 1987 ; 404 : 355-60.
29. Mienville JM, Vicini S. Pregnenolone sulfate antagonizes GABA_A receptor-mediated currents via a reduction of channel opening frequency. *Brain Res* 1989 ; 489 : 190-4.
30. Lanthier A, Patwardhan VV. Sex steroids and 5-en-3 β -hydroxysteroids in specific regions of the human brain and cranial nerves. *J Steroid Biochem* 1986 ; 25 : 445-9.
31. Lacroix C, Fiet J, Benais JP, et al. Simultaneous radioimmunoassay of progesterone, androst-4-enedione, pregnenolone, dehydroepiandrosterone and 17-hydroxyprogesterone in specific regions of human brain. *J Steroid Biochem* 1987 ; 28 : 317-25.
32. Le Goascogne C, Gouézou M, Robel P, et al. The cholesterol side-chain cleavage complex in human brain white matter. *J Neuroendocrinol* 1989 ; 2 : 153-6.

vis de sources périphériques que la prégnénolone et la déhydroépiandrostérone.

Dans le cerveau, la prégnénolone peut également être conjuguée en ester sulfate (PS) et en esters d'acides gras. L'activité de l'acyltransférase impliquée est particulièrement abondante dans le cerveau de jeunes rats de 1 à 3 semaines, et les acides gras principalement utilisés sont les acides palmitique, oléique, linoléique, stéarique et myristique. L'activité d'estérification du cholestérol est très faible (travail en cours de rédaction).

Comme la prégnénolone, la déhydroépiandrostérone peut être estérifiée à des acides gras (même activité acyltransférase) et sulfo-conjuguée. La 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase qui transforme la prégnénolone en progestérone peut transformer la déhydroépiandrostérone en androstènedione, un précurseur de la testostérone. Cependant, comme nous l'avons vu, la majeure partie de la testostérone retrouvée dans le cerveau est d'origine périphérique, ce qui

n'exclut pas une production - limitée à certains sites précis non détecté par les dosages globaux. On sait aussi que l'androstènedione et la testostérone peuvent être, au niveau de l'hypothalamus, transformées en œstrogènes, un autre cytochrome P450 étant en cause (cytochrome P450_{arom}). Jusqu'à présent cependant, les androgènes d'origine testiculaire semblent être la source des œstrogènes synthétisés dans l'hypothalamus, et par conséquent on ne peut actuellement ranger les œstrogènes dans le cadre des neurostéroïdes. Quant à la synthèse de déhydroépiandrostérone, elle reste très conjecturale. Jusqu'à présent, les études que nous avons poursuivies sur le plan biochimique - avec des précurseurs comme P-³H et progestérone-³H, - pour mettre en évidence la formation de D-³H et androstènedione-³H ont été respectivement négatives. Il n'y a pas d'indication biochimique disponible pour la présence d'une activité 17 α -hydroxylase-17-20-desmolase permettant le passage des stéroïdes à 21 ato-

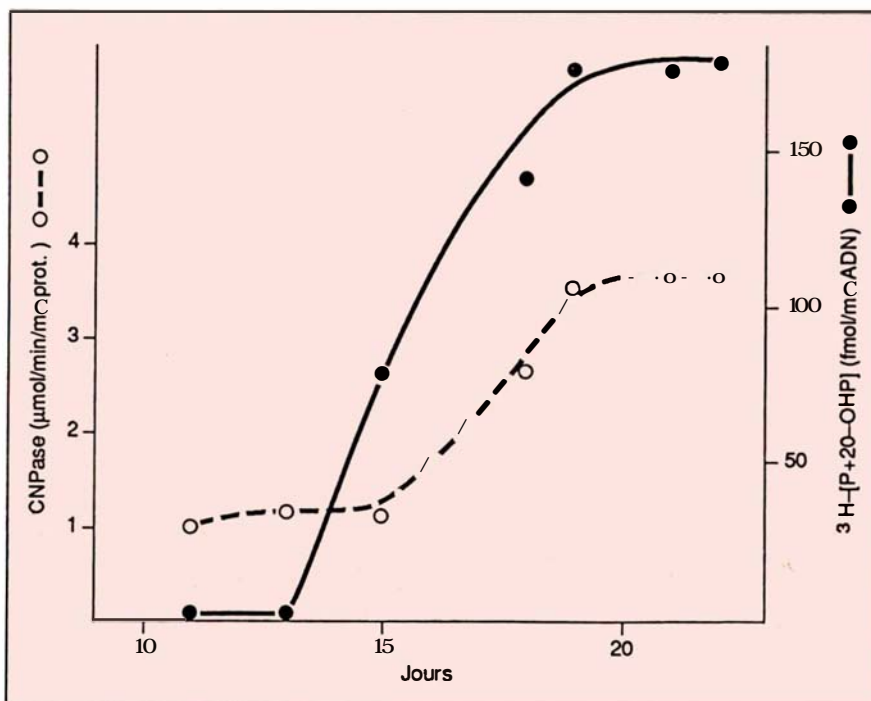


Figure 4. **Ontogenèse de la différenciation d'oligodendrocytes en culture et de la biosynthèse des stéroïdes.** Les cellules gliales ont été incubées avec de la ³H-MVA. La conversion en ³H-P et l'activité CNPase ont été mesurées à différents jours des cultures [15].

mes de carbone (prégnénolone et progestérone) à des stéroïdes à 19 atomes de carbone (déhydroépiandrostérone et androstènedione). Nous avons même montré qu'une publication antérieure l'évoquant pour la formation d'androstènedione décrivait vraisemblablement un artéfact. De plus, les anticorps anti-cytochrome P450_{17OH} (de porc et de cobaye), l'enzyme impliquée dans la transformation biochimique recherchée, n'ont donné aucun résultat immunohistochimique chez le rat et chez le cobaye en dépit de marquages tout à fait positifs avec les glandes stéroïdogènes appropriées. Si cette enzyme microsomale est absente, il est possible que l'origine de la déhydroépiandrostérone se fasse par un mécanisme biochimique alternatif. Nos études se poursuivent à cet égard.

Neurostéroïdes et comportement. Deux séries d'expériences ont indiqué une intervention possible de la déhydroépiandrostérone et de la prégnénolone, respectivement, dans certains phénomènes comportementaux. Un effet anti-agressif de la déhydroépiandrostérone a été mis en évidence sur le modèle bien particulier de souris mâles castrées devenues agressives en présence d'une femelle allaitante. Cette agressivité est absente chez le mâle intact, et elle est supprimée chez le mâle castré par l'administration de testostérone ou d'œstradiol [18]. En collaboration [19], nous avons montré que la déhydroépiandrostérone pouvait à doses modestes faire disparaître l'agressivité des mâles castrés. Comme la déhydroépiandrostérone peut se transformer métaboliquement en testostérone, bien que les quantités retrouvées au niveau du cerveau soient infimes, nous avons utilisé un dérivé, la 3β-méthyl-Δ5-androstène-17-one, dépourvu d'action hormonale et non transformable en testostérone. Ce composé a une action inhibitrice de l'agressivité au moins égale à celle de la déhydroépiandrostérone, et pourrait donc être la tête de file d'une famille de stéroïdes inhibiteurs.

Par ailleurs, la prégnénolone mesurée dans les bulbes olfactifs de rats mâles semble être un maillon dans la chaîne d'événements liés à une exposition hétérosexuelle des animaux. En

effet, par référence aux valeurs trouvées chez des rats mâles exposés à l'odeur d'autres rats mâles, la prégnénolone diminue sélectivement dans les bulbes olfactifs d'animaux exposés à l'odeur de femelles en œstrus [20]. Le signal odorant des femelles semble requérir le fonctionnement ovarien, puisqu'il disparaît après castration et est rétabli par l'œstradiol. De plus, la castration des mâles non seulement diminue initialement la concentration de prégnénolone dans le bulbe olfactif, mais le message odeur devient inopérant, alors qu'on peut le restituer en administrant de la testostérone (qui ne peut pas se transformer en prégnénolone). Il est assez remarquable que l'on puisse mettre en évidence un phénomène phéromonal* et hormono-dépendant, dont la réception, du moins celle traduite par un changement de concentration de prégnénolone, dans une région cérébrale particulière, est également hormono-dépendante.

L'ester sulfate de prégnénolone dont, nous avons vu la présence et la biosynthèse cérébrale, est un inhibiteur du récepteur A du GABA** (R_A-GABA). Aux éléments biochimiques indiqués plus loin s'ajoute la récente mise en évidence d'un raccourcissement du temps de sommeil chez le rat anesthésié par un barbiturique [21]. On peut se demander si ce composé synthétisé dans le cerveau joue un rôle physiologique dans la modulation du récepteur A du GABA (figure 5). D'ailleurs, des expériences de pharmacologie déjà très anciennes avaient démontré une activité de certains stéroïdes sur le fonctionnement du même récepteur : la prégnénolone et d'autres dérivés réduits de la progestérone (et de la désoxycorticostérone) potentialisent l'effet GABA_A, et l'un d'entre eux a été utilisé il y a longtemps comme adjuvant en anesthésie générale ; c'est probablement le mécanisme expliquant la somnolence des femmes enceintes ou traitées par la progesté-

* Phéromones : signaux de reconnaissance sécrétés par des cellules, par exemple chez la levure, ou des organismes de sexe différent.

** GABA : acide γ-aminobutyrique.

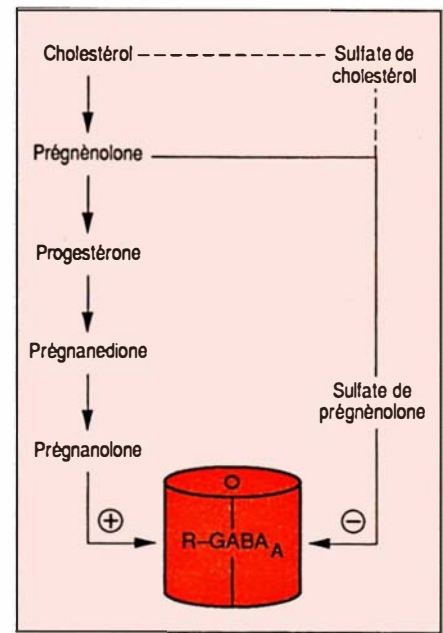


Figure 5. **Modulation du fonctionnement du récepteur A du GABA par des neurostéroïdes.** La prégnanolone et le PS ont des effets opposés (voir texte).

rone à forte dose. La production physiologique de tels dérivés n'est cependant pas démontrée à l'heure actuelle, ainsi qu'on l'a vu plus haut. Enfin, on a rapporté que la déhydroépiandrostérone a, d'une part, un effet trophique sur des neurones de souris en culture et, d'autre part, renforce la mémoire à long terme d'un comportement d'évitement actif [22].

Mécanismes d'action des neurostéroïdes. Les récepteurs intracellulaires des hormones stéroïdes sont actuellement bien connus. Ce sont des protéines intranucléaires qui peuvent se lier à l'ADN. Aucun résultat n'indique actuellement l'existence de récepteurs nucléaires de déhydroépiandrostérone ou prégnénolone, ou *a fortiori* de leurs esters. Si on considère la progestérone synthétisée par les cellules gliales comme un neurostéroïde, la mise en évidence récente d'un récepteur de la progestérone dans ces mêmes cultures (I. Testas et J.M. Renoir, en préparation) indique un mécanisme d'action classique pour de la progestérone, paracrine ou autocrine plutôt qu'endocrine. Le récep-

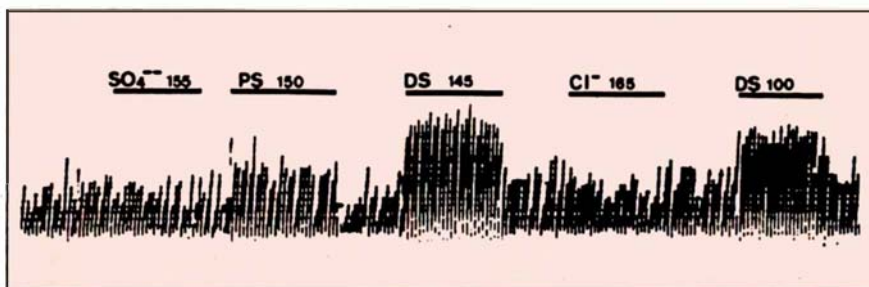


Figure 6. **Effet excitateur de PS et DS sur l'activité électrique d'un neurone septo-optique chez le cobaye.** PS, éjecté avec un courant de 150 nA pendant 30 secondes, et DS, éjecté avec un courant de 100 nA pendant 25 secondes, sont actifs, contrairement aux ions sulfate et chlore [26]. PS = ester sulfate de prégnénolone ; DS = ester sulfate de déhydroépiandrostérone.

teur de la progestérone a également été mis en évidence, en plus de la distribution hypothalamique, dans le cortex cérébral et les méninges.

Un mécanisme d'action membranaire des neurostéroïdes ne pouvait être exclu. Il existe un précédent pour l'existence d'un récepteur membranaire dans le cas de l'ovocyte de xénope, où la progestérone, placée dans le milieu d'incubation, provoque la ré-initiation de la méiose [23]. Des expériences de marquage par photoaffinité ont permis de caractériser une protéine de liaison de 30 kDa ayant les propriétés d'affinité et de spécificité hormonale d'un récepteur [24]. L'effet du stéroïde sur l'adénylate-cyclase de la cellule entière a été reproduit *in vitro* sur une préparation membranaire [25]. Depuis plusieurs années, des expériences d'électrophysiologie avaient montré que divers stéroïdes pouvaient stimuler l'activité électrique de neurones lorsqu'ils sont déposés à leur contact, ce qui a été fait pour la déhydroépiandrostérone, l'ester sulfate de déhydroépiandrostérone et l'ester sulfate de prégnénolone au niveau de la région antéro-septale du cerveau de cobaye (figure 6) [26]. Le mécanisme moléculaire de l'effet anesthésique de dérivés de la progestérone fait intervenir le R_A -GABA. Ce récepteur est formé de plusieurs sous-unités, et il comporte des sites de liaison pour le GABA lui-même, les barbituriques et les benzodiazépines. La prégnanolone et d'autres

dérivés réduits de la progestérone potentialisent l'effet du GABA en se liant au récepteur à proximité du site barbiturique [27]. Cet effet peut être analysé par l'étude du potentiel de membrane ou par la mesure de l'entrée de chlore dans les neurones GABAergiques (le récepteur A est un canal chlore que peut ouvrir le GABA). Au contraire, l'ester sulfate de prégnénolone se comporte comme un antagoniste et, comme la picrotoxine, s'oppose aux effets du GABA sur le canal chlore [28] : l'ester sulfate de prégnénolone diminue la fréquence d'ouverture du canal chlore sur des neurones en culture [29]. L'ester sulfate de déhydroépiandrostérone est même encore plus actif. Le R_A -GABA est devenu, au cours des deux dernières années, une famille incluant plus d'une dizaine de variants, et les études sont en cours pour savoir si les stéroïdes ont le même effet sur chacun d'eux. En tout état de cause, l'action des neurostéroïdes sur le R_A -GABA est un nouvel effet membranaire des stéroïdes.

Les données concernant la biosynthèse de stéroïdes dans le cerveau sont vraisemblablement applicables à l'espèce humaine. Des neurostéroïdes ont été mesurés à des concentrations élevées dans le cerveau de cadavres [30, 31], et la présence des enzymes du complexe permettant la coupure de la chaîne latérale du cholestérol a été démontrée immunohistochimiquement [32]. De là aux applications médicales... ■

Summary

Neurosteroids : a new function of the brain ?

The biosynthesis of neurosteroids proceeds through cholesterol side chain cleavage, and gives rise to pregnenolone (P) and dehydroepiandrosterone (D). These steroids accumulate in the rat brain independently of the supply by peripheral endocrine glands. This led to the discovery of a steroid biosynthesis pathway in rat brain oligodendrocytes based on enzyme immunocytochemistry and conversion of radioactive precursors to C-21 steroids. Several biological functions have been proposed for P and D. They may serve as precursors of other steroids (as progesterone and testosterone and their metabolites). They are implicated in the control of some behavioral activities. They have excitatory effects on neurones, and they modulate the function of GABA_A-receptors. These observations may apply to all mammalian species including the human, and the physiological significance of neurosteroid synthesis needs further investigation.

Remerciements

Ce travail a été réalisé à l'Unité 33 Inserm, avec Y. Akwa, E. Bourreau, C. Clarke, C. Corpéchet, B. Eychenne, C. Le Goascone, M. Gouézou, A. Groyer, Z.Y. Hu, D.H. Jo, K. Kabbadj, I. Jung-Testas, R. Morfin, M. Synguelakis, S. Talha, O. Vatié, C. Vourc'h et J. Young, et avec la collaboration de M. Axelson (Stockholm), P. Brazeau (Montréal), F. Halberg (Minneapolis), M. Haug (Strasbourg), D.M. Majewska (Bethesda), I. Mason (Dallas), M.L. Schlegel (Strasbourg), J. Sjövall (Stockholm), M. Waterman (Dallas) et R. Vihko (Oulu). Nous remercions Roussel-Uclaf, et la Fondation Del Duca pour leur soutien. Corinne Legris a assuré le secrétariat du manuscrit.

TIRÉS A PART

E.E. Baulieu.

m/s n° 3 vol. 6, mars 90