Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen

Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences

médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

**Band:** 34 (1978)

**Artikel:** Distribution sucellulaire des neuronhormones hypothalamiques et

stimulation de leur liberation in vitro

Autor: Kordon, C. / Epelbaum, J. / Gautron, J.P.

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-308146

#### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

#### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

#### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF: 29.11.2025** 

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Unité de Neuroendocrinologie, INSERM, Paris

# THALAMIQUES ET STIMULATION DE LEUR LIBERATION IN VITRO

### C. KORDON, J. EPELBAUM et J.P. GAUTRON

## Summary

Neuronal compartments can be separated by differential spinning or by centrifugation on continuous or discontinuous density gradients. Application of these fractionation techniques to brain structures containing neurosecretory neurons shows that LHRH, somatostatin and a non dopamine prolactin inhibiting factor (PIF) are exclusively recovered from synaptosomal fractions. This indicates that biologically and/or immunologically reactive forms of these hormones are almost entirely concentrated in nerve-endings of neurosecretory neurons. In contrast, other neuropeptides - posterior pituitary hormone, but also TRH, a vasoactive intestinal peptide (VIP), substance P or endorphins – are also found in supernatant fractions. The existence of multiple molecular forms of neuropeptides is likely to explain these differences. Current theories postulate that they are synthetized on ribosomes as precursor forms. Their active structure is only achieved by enzymatic splitting of the pre- or the prohormone within nerve endings. This mode of synthesis is probably common to all neuropeptides, although it has only been well substantiated in a few cases, in particular for the hormones of the posterior pituitary. Thus, the lack of immunologically detectable LHRH or SRIF outside the synaptosomal fraction may reflect masking of the active immunological sites by inert peptide chains associated with prohormonal forms.

Fractionation methods can also be applied to physiological or pharmacological experiments. In particular, they permit to characterize, on presynaptic membranes of neurosecretory neurons, specific receptors to neurotransmitters involved in the control of neurohormone secretion. Interaction of dopamine and acetylcholine with LHRH and CRF release are presented as examples of such applications.

### 1. Introduction

La distribution subcellulaire de protéines, d'enzymes ou de neurones transmetteurs dans le système nerveux central (SNC) est étudiée depuis plusieurs années (WHITTAKER et al., 1964; DE ROBERTIS, 1964); mais les techniques de fractionnement n'ont été appliquées que récemment au problème des neurohormones. L'originalité de ces techniques au niveau du système nerveux central découle de la propriété qu'ont les terminaisons nerveuses de se resceller et de former des particules, dites "synaptosomes" après broyage ménagé du tissu. Les synaptosomes sont donc des sphérules artificiellement closes qui contiennent la majeure partie du matériel présynaptique (WHITTAKER, 1969). Pour les obtenir, on recourt à une centrifugation préalable à basse vitesse d'homogénats de structures nerveuses, qui permet de se séparer des noyaux et des plus grosses particules membranaires. Ensuite, les propriétés de sédimentation des mitochondries, des petits débris membranaires, de la myéline et des synaptosomes permettent de séparer ces éléments figurés des constituants cytosolubles. Une purification additionnelle des éléments particulaires peut être entreprise sur des gradients discontinus ou continus de saccharose ou de ficol, par exemple. Dans le premier cas, les différents types de particules sont retenus sur des interfaces de densité discontinue en fonction de leur taille et de leur densité. Par exemple, dans des gradients discontinus à 3 bandes comportant respectivement des concentrations de 0,32, 0,8 et 1,2 M de saccharose, une centrifugation à 1000000 g pendant 40 minutes permet de récupérer la plupart des mitochondries et des débris membranaires dans le culot, tandis que les synaptosomes se retrouvent dans l'interface B-C et la myéline en phase A (Figure 1). Les contaminants cytosolubles, eux, restent dans la partie supérieure du gradient. Dans le deuxième cas, celui des gradients continus (LADU-RON, 1977), la taille et la densité des éléments figurés déterminent des vitesses différentes de migration; on peut ainsi obtenir une meilleure résolution des fractions, notamment en les prélevant avant qu'elles n'aient atteint leur état d'équilibre.

Chaque fraction peut être contrôlée, soit par un examen des culots ou des interfaces en microscopie électronique, soit par un dosage d'enzymes marqueurs. C'est ainsi par exemple
que la succinodéshydrogénase est considérée comme un bon marqueur des mitochondries,
tandis que la lactate-déshydrogénase, enzyme exclusivement cytosoluble (JOHNSON et
WHITTAKER, 1963), est un bon marqueur des synaptosomes de la fraction mitochondriale
brute. En effet, après élimination des fractions cytosolubles correspondant au corps cellulaire et à l'axoplasme, la seule fraction particulaire qui renferme encore cette enzyme est
la fraction synaptosomale.

## SCHEMA DU FRACTIONNEMENT SUBCELLULAIRE

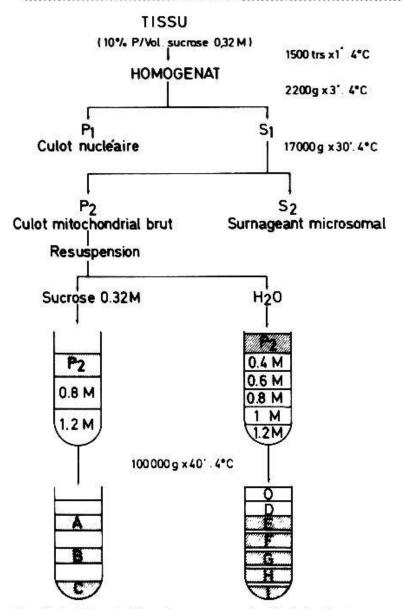


Fig. 1. Schéma du fractionnement subcellulaire de structures nerveuses. Les synaptosomes se retrouvent dans le culot mitochondrial brut P2; sur gradient, ils migrent préférentiellement dans la bande B, qui constitue l'interface des densités de sucrose comprises entre 0,8 et 1,2M.

L'intérêt de telles techniques de fractionnement est multiple. D'abord, elles renseignent sur la distribution proprement neuronale des substances neurosécrétées; les autres éléments cellulaires du système nerveux, comme les cellules gliales ou les épendymocytes, ne forment pas de synaptosomes. Ensuite, la connaissance de la répartition de ces substances entre des fractions solubles et des fragments insolubles ou particulaires, ou encore entre le cytoplasme et le synaptoplasme, fournit des renseignements importants sur la migration ou les sites de

stockage des produits de sécrétion du système nerveux. Elle permet ainsi de proposer des hypothèses de travail sur le mécanisme de biosynthèse et de libération de ces molécules. Enfin, le fractionnement subcellulaire permet l'incubation séparée de différentes fractions; on peut ainsi déterminer le site cellulaire de certaines interactions avec la cellule nerveuse. C'est ainsi qu'on a pu localiser le mécanisme de recapture des transmetteurs aminergiques au niveau de la terminaison nerveuse (CLOUET et al., 1973) et caractériser, à ce niveau, la présence de récepteurs spécifiques impliqués dans les rétroactions intraneuronales (GIOR-GIEFF et al., 1976).

Dans le présent article, nous allons passer en revue les données expérimentales concernant la distribution des neuropeptides à action hormanale. Nous nous interrogerons ensuite sur les conséquences de cette distribution sur les sites et les mécanismes de leur biosynthèse. Puis, nous envisagerons quelques exemples de l'application du fractionnement subcellulaire à l'étude de la régulation physiologique de la sécrétion des neurohormanes.

## 11. Distribution subcellulaire des neuropeptides

Commençons par l'examen du LHRH, qui, sous cet aspect, est actuellement le neuropeptide le mieux étudié.

Soixante-dix pour cent du LHRH hypothalamique migrent dans la fraction mitochondriale brute, ainsi qu'on a pu le vérifier dans toutes les structures comportant une densité importante de neurones à LHRH (RAMIREZ et al., 1975). Un fractionnement plus poussé de cette fraction mitochondriale brute sur gradient discontinu montre que le peptide se retrouve essentiellement dans la fraction synaptosomale, c'est à dire dans la bande B du gradient; une certaine activité, probablement due à une contamination par les synaptosomes, se retrouve également dans la bande C (Figure 2) (RAMIREZ et al., 1975). A ce niveau, une excellente corrélation a pu être observée entre la distribution de l'enzyme marqueur et celle du LHRH (Figure 2).

Dans un gradient continu, on retrouve également deux bandes distinctes d'activité lors d'un fractionnement à court terme (Figure 3) (BARNEA et al., 1976). Si la centrifugation est poursuivie plus longtemps, les deux catégories de particules migrent vers un état d'équilibre commun. Pour expliquer cette hétérogénéité de distribution aux temps courts, certains auteurs ont suggéré qu'il existerait 2 populations différentes de neurones contenant le neuropeptide; par exemple, une partie des neurones pourrait comporter une articulation conventionnelle sur une cellule postsynaptique, tandis que les autres en seraient dépourvus. Cette conclusions demeure cependant problématique; les propriétés des synaptosomes peuvent être

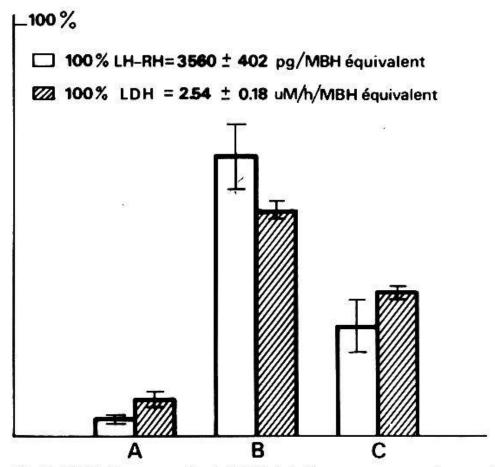


Fig. 2. Distribution comparée du LHRH et de l'enzyme marqueur du synaptoplasme dans une fraction P<sub>2</sub> passée sur gradient discontinu. Noter la bonne corrélation des distributions (Ramirez et al., 1975).

modifiées en cours de fractionnement, et la population migrant dans l'interface C pourrait aussi être constituée de synaptosomes partiellement dégradés.

Quoiqu'il en soit, le LHRH semble se distribuer presque exclusivement dans les synaptosomes. Avant d'être acceptée, cette conclusion doit être soumise à des vérifications soigneuses, pour s'assurer notamment que le LHRH présent dans d'autres compartiments n'a pas été électivement dégradé par des enzymes peptidasiques, ou qu'il n'a pas été absorbé artificiellement sur des fractions particulaires. L'addition de LHRH exogène à des homogénats avant fractionnement montre que la distribution du peptide exogène diffère notablement de celle du peptide endogène (GAUTRON et al., 1977). Elle permet également de montrer que, lorsque le LHRH est administré par voie intraventriculaire et migre vers l'éminence médiane, par l'intermédiaire de tanicytes par exemple, il ne se distribue que dans la fraction cytosoluble (GAUTRON et al., 1977). On peut ainsi conclure que la distribution synaptosomale du LHRH ne résulte pas d'un artéfact méthodologique ou d'une dégradation du peptide dans le cytoplasme; l'excellent rendement de la récupération synaptosomale du peptide par rapport à sa concentration dans l'homogénat confirme également cette conclusion.

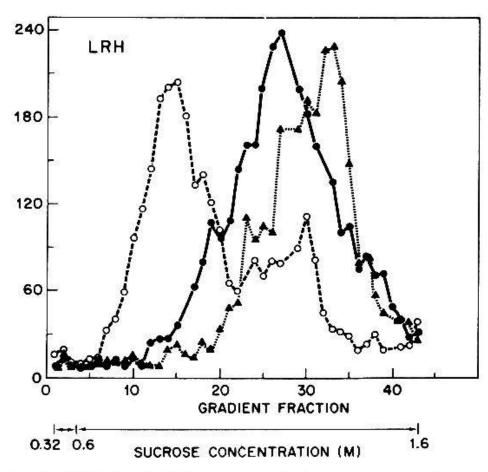


Fig. 3. Distribution du LHRH dans un gradient de saccharose continu. La courbe en pointillé montre la distribution bimodale du peptide avant que sa migration n'ait atteint un état d'équilibre. Les courbes en traits gras et en traits pleins représentent la distribution du peptide pour des temps de centrifugation plus longs (Barnea et al., 1976).

Le fractionnement des synaptosomes eux-mêmes, pour étudier la distribution subsynaptosomale, montre que le peptide se distribue de manière bimodale, à la fois dans une fraction synaptosoluble et dans des particules qui représentent probablement les granules de sécrétion ou d'exocytose (Figure 4) (Gautron, observation inedite).

Dans le cas d'autres neurohormones, les études de fractionnement ont abouti à des conclusions analogues. La somatostatine présente également une distribution exclusivement synaptosomale; dans un gradient discontinu, la corrélation entre la distribution de l'activité du peptide et celle de l'enzyme marqueur est aussi bonne que dans le cas du LHRH (Figure 5) (EPELBAUM et al., 1977).

Le fractionnement subcellulaire de l'activité PIF (prolactin inhibiting factor) a fourni des données intéressantes. On sait maintenant qu'une grande partie de l'inhibition de la prolactine est due à la libération, au niveau du système porte hypothalamo-hypophysaire, de la dopamine contenue dans les neurones du tractus tubéroinfundibulaire (MCLEOD et LEH-

# PROTEINES CHEZ LE MALE NORMAL.

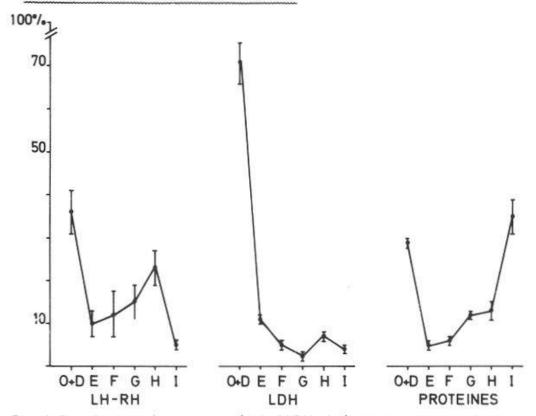


Fig. 4. Distribution subsynaptosomale du LHRH, de l'enzyme marqueur du synaptoplasme et des protéines dans l'hypothalamus du rat mâle normal. La couche supérieure du gradient (O + D) représente la fraction soluble, tandis que les fractions G et H sont liées aux éléments granulaires.

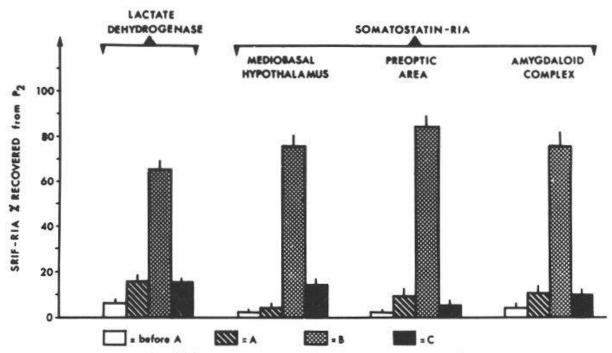


Fig. 5. Distribution subcellulaire comparée de la somatostatine et de l'enzyme marqueur du synaptoplasme dans trois structures différentes de l'hypothalamus. Noter la similitude de distribution (Epelbaum et al., 1977).

Tableau I: Distribution relative des peptides hypothalamiques entre la fraction mitochondriale brute (P<sub>2</sub>) et le surnageant microsomal (S<sub>2</sub>). Les pourcentages sont donnés par rapport à l'homogénat. RIA = Dosage radioimmunologique; BA = Dosage biologique.

Peptide	Dosage	P <sub>2</sub>	$s_2$	Référence
LH-RH	RIA	50-60	5	Barnea et al., 1975, 1976
	RIA-BA	65	2	Ramirez et al., 1975
Somatostatine	RIA	90	7	Epelbaum et al., 1977
PIF*	BA	80	2	Enjalbert et al., 1978
TRH	RIA	50-60	20-25	Barnea et al., 1975, 1976
	RIA	36	20	Winokur et al., 1977
Peptides à activité morphinomimétique	BA	74	15	Simantov et al., 1976
Substance P	RIA	59	31	Duffy et al., 1977
VIP	RIA	79	45	Giachetti et al., 1977
Vasopressine	BA	46	50	Sachs, 1963
αMSH	RIA	36	31	Barnea et al., 1977

<sup>\*</sup> L'activité PIF correspond à des fractions épuisées en dopamine par passage sur alumine (voir Enjalbert et al., 1978).

MEYER, 1974). Cependant, la dopamine ne rend pas compte de la totalité de l'activité PIF d'extraits hypothalamiques (GREIBROKK et al., 1974; SCHALLY et al., 1976). En particulier, une activité PIF non-dopaminergique se retrouve préférentiellement dans une fraction synaptosomale de l'hypothalamus médiobasal, et non dans des fractions synaptosomales obtenues à partir d'autres structures cérébrales riches en dopamine, comme le striatum (ENJALBERT et al., 1977). La distribution du PIF non-dopaminergique semble donc s'apparenter à celle du LHRH et de la somatostatine. Le TRH a une distribution voisine de celle des neuro-hormones déjà citées; les synaptosomes qui contiennent ce peptide présentent en outre une répartition bimodale en gradient continu analogue à celle du LHRH (BARNEA et al., 1976). Mais, dans ce cas comme dans celui des neuropeptides morphinomimétiques et de la substance P, une proportion plus importante de l'immunoréactivité ou de l'activité biologique liée au peptide se retrouve dans le surnageant microsomal (Tableau I).

Enfin, les neuropeptides d'un dernier groupe sont répartis également dans le cytoplasme périkaryal et dans les terminaisons. C'est le cas des hormones post-hypophysaires, de l' $\alpha$ -MSH et du VIP (Vasoactive intestinal peptide).

L'activité immunologique ou biologique de tous les neuropeptides se retrouve donc dans la terminaison nerveuse, mais l'activité présente dans les fractions associées au cytoplasme périkaryal ou à l'axoplasme varie d'un peptide à l'autre, comme le montre le tableau I. Cette différence de distribution pourrait s'expliquer par l'existence de formes moléculaires multiples des neuropeptides.

En effet, contrairement à la théorie initialement avancée par MITNICK et REICHLIN (1971) d'un mécanisme enzymatique non ribosomal de synthèse des neurohormones, on pense maintenant que des formes précurseurs de ces molécules sont synthétisées au niveau des ribosomes des neurones neurosécrétoires. Les travaux de plusieurs auteurs suggèrent la présence de formes immunoréactives multiples des peptides hypothalamiques (JOHANSSON et al., 1972; FAWCETT et al., 1974; MILLAR et al., 1977). La mise en évidence de précurseurs demeure délicate; une activité peptidasique importante présente dans les extraits de tissu nerveux interfère généralement avec le dosage radioimmunologique de fractions non précipitées, en dégradant le traceur lui-même. En outre, certaines formes précurseurs peuvent n'être pas reconnues par les techniques immunologiques habituelles, en raison du masquage des sites actifs dans la molécule "lourde", c'est à dire d'une différence d'affinité du peptide et de son précurseur vis-à-vis des anticorps spécifiques. De telles différences d'affinité rendent très aléatoire la mise en évidence de la forme la moins affine dans un système de compétition.

Des raisons de cet ordre pourraient rendre compte des divergences observées entre certains résultats acquis par des méthodes histoimmunochimiques ou par fractionnement subcellulaire. Du LHRH (BARRY et al., 1973) ou de la somatostatine (ELDE et al., 1975) a pu être mis en évidence dans le cytoplasme de certains corps cellulaires, bien que les formes actives biologiquement ou immunologiquement (dans un système de compétition) ne se retrouvent pratiquement pas en dehors de la fraction synaptosomale. Sur les autres points, les données des deux techniques sont bien corrélées, puisque l'histoimmunochimie suggère également une localisation préférentielle des peptides adéno-hypophysiotropes dans la zone de distribution des terminaisons neurosécrétoires, c'est-à-dire l'éminence médiane (BARRY et al., 1973; KORDON et al., 1974; HÖKFELT et al., 1974) et, pour certains, l'organe vasculaire de la lame terminale (KORDON et RAMIREZ, 1975; BAKER et al., 1976). En microscopie électronique, l'histoimmunochimie permet d'associer le matériel immunoréactif avec des éléments granulaires (CALAS et al., 1975; PELLETIER et al., 1977; STYNE et al., 1977), ce qui correspond bien aux résultats de l'analyse subsynaptosomale.

Des différences de comportement immunologique des précurseurs et des peptides actifs expliquent également que le rôle précurseur de substances présentant des réactions immunologiques croisées avec un neuropeptide, mais dotées de propriétés chromatographiques ou électrophorétiques différentes, n'a pas encore été formellement prouvé dans le cas des peptides hypophysiotropes. En revanche, les arguments en faveur de ce mécanisme sont plus concluants dans le cas des hormones post-hypophysaires (GAINER et al., 1977) et, surtout, des endorphines (MAINS et al., 1977), ainsi que pour de nombreuses hormones périphériques.

La théorie d'un mode ribosomal de synthèse de formes précurseurs implique, dans le cas d'une neurohormone, le transport axonal du précurseur et son clivage par des mécanismes enzymatiques. C'est ainsi que peut s'expliquer l'échec, jusqu'à présent, des tentatives d'incorporation directe, in vitro, d'acides aminés précurseurs dans des peptides hormonaux. Il est intéressant de constater qu'in vivo, l'infusion intraventriculaire de précurseurs tritiés a permis d'obtenir le marquage de certains peptides; l'intensité de l'incorporation était, dans ce cas, proportionnelle à la vitesse de renouvellement du peptide (KORDON et al., 1976). Ces recherches n'en sont cependant qu'à leur stade préliminaire et doivent encore être confirmées.

## III. Application du fractionnement subcellulaire à l'étude de la régulation de la synthèse des neuropeptides

Dès lors que presque toute l'activité des peptides hormonaux se retrouve dans la terminaison nerveuse, il était tentant de rechercher les conditions de leur libération à partir de fractions synaptosomales. Cependant, avant de pouvoir conclure à la validité de tels modèles, un certain nombre de conditions doivent être remplies. En particulier, on doit pouvoir montrer qu'une libération in vitro représente une sécrétion active, c'est à dire qu'elle dépend de la température, qu'elle peut être induite par une dépolarisation (consécutive par exemple à l'enrichissement du milieu en K<sup>+</sup>), et que de tels effets sont Ca<sup>++</sup>-dépendants. Dans l'état actuel des méthodes de préparation des synaptosomes, la fraction synaptosomale ne satisfait pas encore entièrement à tous ces critères. La libération de base des peptides à partir de fractions synaptosomales demeure très élevée par rapport à leur contenu (BLEDSOE et RAMIREZ, 1976) (Figure 6). La dépolarisation au KC1 ne provoque généralement pas les effets attendus et la dépendance de la sécrétion vis-à-vis du calcium n'est pas vérifiée (BENNETT et al., 1975). Cela tient sans doute aux conditions de préparation des synaptosomes; le fractionnement à basse température libère plusieurs substances neurosécrétées (BAKER et HOPE, 1976) et les molarités élevées de saccharose qui constituent les gradients affectent les propriétés osmotiques du synaptoplasme. Il en résulte probablement un déplacement de la localisation granulaire des neuropeptides, qui aboutit à une forte libération passive, par diffusion, des hormanes dans le milieu d'incubation (RAMIREZ et KORDON, 1978). Malgré ces inconvénients, l'interaction de certains neurotransmetteurs avec la libération de neurohormones a pu être mise en évidence in vitro. C'est ainsi que la dopamine semble stimuler la libération du LHRH (BENNETT et EDWARDSON, 1975) et que l'acetylcholine libère une activité CRF dans le milieu d'incubation de synaptosomes d'hypothalamus (ED-WARDSON et BENNETT, 1974; HILLHOUSE et al., 1975). Ces données ont d'ailleurs été

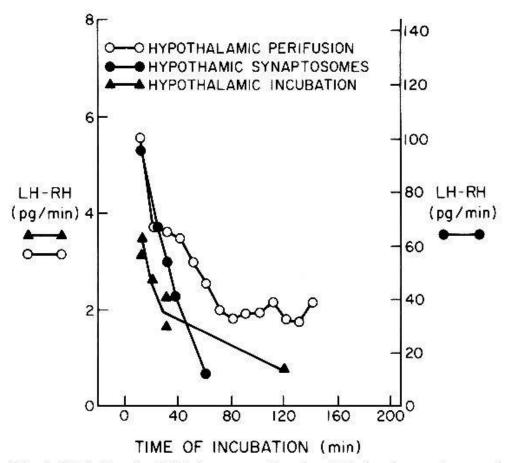


Fig. 6. Libération du LHRH dans un système de périfusion de synaptosomes (en haut, à gauche) et de fragments d'hypothalamus médiobasal (en bas). Noter le niveau de libération élevé des synaptosomes (Ramirez et Kordon, 1978).

confirmées sur des fragments de tissu comportant des terminaisons neurosécrétoires. Dans ce cas, l'effet de dépolarisation par le potassium et la dépendance et de cette stimulation vis-à-vis du calcium ont été vérifiées (ROTSZTEJN et al., 1976). Dans ces conditions, le LHRH est libéré hors des terminaisons sous l'effet de l'adjonction de dopamine au milieu d'incubation (ROTSZTEJN et al., 1977) (Figure 7). Cet effet est dose-dépendant; il parait en outre spécifique, car les antagonistes des récepteurs dopaminergiques l'inhibent, tandis que la noradrenaline ne produit pas la même action. La signification physiologique de ces interactions in vitro semble en outre attestée par la bonne corrélation, au niveau de trois structures distinctes contenant des terminaisons à LHRH, entre la capacité de libérer le peptide sous l'effet de la dopamine et la concentration endogène de ce médiateur (ROTSZTEJN et al., 1977).

Ces expériences suggèrent l'existence de récepteurs spécifiques au niveau des terminaisons à LHRH, bien que les techniques habituelles de mesure de la liaison soient encore insuffisamment sensibles pour avoir permis de mettre ces récepteurs en évidence par des moyens plus

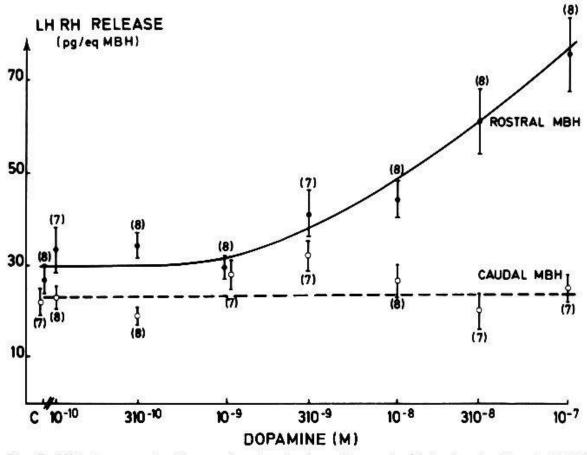


Fig. 7. Effet de concentrations croissantes de dopamine sur la libération <u>in vitro</u> de LHRH à partir de l'éminence médiane (rostral MBH) et de la lèvre dorsale de la tige (caudal MBH) (Rotsztejn et al., 1977).

directs (BROWN et al., 1976). Ces récepteurs paraissent stéroïde-dépendants; leur effet ne peut être mis en évidence que chez des animaux entiers au prétraités par des stéroïdes (ROTSZTEJN et al., 1977). Ceci pourrait expliquer les contradicitions subsistant dans la littérature sur l'effet de la dopamine sur la sécrétion de LH; des effets inhibiteurs de cette amine ont en effet été obtenus, mais presque exclusivement chez des animaux castrés (BECK et al., 1977).

### IV. Conclusions

Les techniques de fractionnement subcellulaire présentent ainsi un grand intérêt. Elles constituent une méthode de purification d'extraits de système nerveux central; en effet, dans une fraction synaptosomale, une proportion importante de protéines cytoplasmiques ou membranaires se trouve éliminée.

Elles représentent un bon modèle pour l'étude de la synthèse ribosomale des neuropeptides, et surtout de l'étape de clivage de l'hormone à partir de son précurseur. Elles offrent en

outre la possibilité d'étudier les effets différentiels de facteurs de régulation sur la biosynthèse et sur la libération des neuropeptides. Enfin, elles permettent d'étudier la régulation
de la sécrétion de ces substances au niveau de la terminaison nerveuse, et donc de caractériser des récepteurs et d'entreprendre des études de pharmacologie cellulaire. Dans cet esprit,
le fractionnement subcellulaire ouvre un nouveau chapître de l'étude de la régulation de la
neurosécrétion au niveau cellulaire.

Les auteurs remercient Mademoiselle Marie-Christine SIMON pour sa précieuse assistance.

```
Baker, R.W., et Hope, D.B. (1976): J. of Neurochem. 27: 197.
Baker, B.L., Dermody, W.C. et Reel, J.R. (1974): Am. J. Anat. 139: 129.
Barnea, A., Ben Jonathan, N., Colston, C., Johnston, J.M. et Porter, J.C. (1975): PNAS
    72: 3153.
Barnea, A., Ben Jonathan, N. et Porter, J.C. (1976): J. Neurochem. 27: 477.
Barnea, A., Oliver, C. et Porter, J.C. (1977): J. Neurochem. 29: 619.
Barry, J., Dubois, M.P. et Carette, P. (1973): Z. Zellforsch. 146: 351.
Beck, W., Engelhardt, S., Gelato, M. et Wuttke, W. (1977): Acta Endoc. 84: 62.
Bennett, G.W., Edwardson, J.A., Holland, D., Jeffcoate, S.L. et White, N. (1975): Nature
    257: 323.
Bennett, G.W. et Edwardson, J.A. (1975): J. of Endocr. 65: 33.
Bledsoe, W. et Ramirez, V.D. (1976): Proc. of the 58th Meeting of the Endocrine Society,
    Abstract 201, p. 157.
Brown, G.M., Seeman, P. et Lee, T. (1976): Endocrinology 99: 1407.
Calas, A., Kerdelhué, B., Assenmacher, Y. et Jutisz, M. (1973): C.R. Acad. Sci. (Paris) 277:
    2765.
Clouet, D.H., Johnson, J.C., Ratner, M., Williams, N. et Gold, G.J. (1973): In Frontiers in
    Catecholamine Res., E. Vodin et S.M. Snyder, eds, Pergamon Press, N.Y., p. 1039.
De Robertis, E. (1964): Histophysiology of Synapses and Neurosecretion, Pergamon, Oxford.
Duffy, M.J., Mulhall, D. et Powell, D. (1975): J. Neurochem. 25: 305.
Edwardson, J.A. et Bennett, G.W. (1974): Nature 251: 425.
Elde, R.P. et Parsons, J.A. (1975): Am. J. Anat. 144: 541.
Enjalbert, A., Moos, F., Carbonell, L., Priam, M. et Kordon, C. (1978): Neuroendocrinology,
    in press.
Epelbaum, J., Brazeau, P., Tsang, D., Brauer, J. et Martin, J.B. (1977): Brain Res. 126: 309.
Fawcett, C.P., Beezley, E.A. et Wheaton, J.E. (1974): I.R.C.S. Med. Sci. 2: 1663.
Gainer, H., Sarne, Y. et Brownstein, M.J. (1977): Science 195: 1354.
Gautron, J.P., Pattou, E. et Kordon, C. (1977): Mol. Cell. Endoc. 8: 81.
Giachetti, A., Saïd, S.I., Reynolds, R.C. et Koniges, F.C. (1977): P.N.A.S. 74: 3424.
Giorguieff, M.F., Le Floch, M.L., Westfall, T.C., Glowinski, J. et Besson, M.J. (1976):
    Brain Res. 106: 117.
Greibrokk, T., Hansen, J., Knudsen, R., Lam, Y.K. et Folkers, K. (1975): Biochem. Bioph.
    Res. Commun. 67: 338.
```

Hillhouse, E.W., Burden, J. et Jones, M.T. (1975): Neuroendocrinology 17: 1.

Bioph. Res. Commun. 49: 656.

Hökfelt, T., Efendic, S., Johansson, O., Luft, R. et Arimura, A. (1974): Brain Res. 80: 165. Johansson, N.G., Hooper, F., Sievertsson, H., Curie, B.L. et Folkers, K. (1972): Biochem.

- Johnson, N.K. et Whittaker, V.P. (1963): Biochem. J. 88: 404.
- Krodon, C., Epelbaum, J., Enjalbert, A. et McKelvy, J.F. (1976): In: Subcellular Mechanisms in Reproductive Endocrinology, F. Naftolin, K.J. Ryan et I.J. Davies, eds., Elsevier, Amsterdam, p. 187.
- Kordon, C., Kerdelhué, B., Pattou, E. et Jutisz, M. (1975): Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 147:
- Kordon, C. et Ramirez, V.D. (1975): In: Anatomical Neuroendocrinology, W.E. Stumpf et L.D. Grant eds., Karger, Basel, pp. 409.
- Laduron, P. (1977): Int. Rev. of Neurobiol. 251: 281.
- McLeod, R.M. et Lehmeyer, J.E. (1974): Endocrinology 94: 1077.
- Mains, R.E., Eipper, B.A. et Ling, N. (1977): Proc. Nat. Acad. Sci. 74: 3014.
- Millar, R.P., Aehnelt, C. et Rossier, G. (1977): Biochem. Bioph. Res. Commun. 74: 720. Mitnick, M. et Reichlin, S. (1971): Science 172: 1241.
- Pelletier, G., Leclerc, R., Dubé, D., Arimura, A. et Schally, A.V. (1977): Neurosci. Lett. 4: 27.
- Ramirez, V.D., Gautron, J.P., Epelbaum, J., Pattou, E., Zamora, A. et Kordon, C. (1975): Mol. Cell. Endoc. 3: 339.
- Ramirez, V.D. et Kordon, C. (1978): In: Cell Biology of Hypothalamic Neurosecretory Processes, Editions du C.N.R.S., Paris, 1978, sous presse.
- Rotsztejn, W.H., Charli, J.L., Pattou, E., Epelbaum, J. et Kordon, C. (1976): Endocrinology 99: 1663.
- Rotsztejn, W.H., Charli, J.L., Pattou, E. et Kordon, C. (1977): Endocrinology 101: sous presse.
- Schally, A.V., Dupont, A., Arimura, A., Takamara, J., Redding, T.W., Clemens, J. et Shaar, C. (1976): Acta Endoc. 82: 1.
- Simantov, R., Snowman, A.M. et Snyder, S.M. (1976): Brain Res. 107: 650.
- Styne, D.M., Goldsmith, P.C., Burstein, S.R., Kaplan, S.L. et Grumbach, M.M. (1977): Endocrinology 101: 1099.

Adresse pour la correspondance: Prof. Dr C. Kordon, Unité de Neuroendocrinologie (U. 159), Centre Paul Broca de l'INSERM, 2ter rue d'Alésia, F-75014 Paris (France)