



HAL
open science

Oestrogens and neurogenesis: new functions for an old hormone. Lessons from the zebrafish.

Olivier Kah, Elisabeth Pellegrini, Karen Mouriec, Nicolas Diotel, Isabelle Anglade, Colette Vaillant, Marie-Lise Thieulant, Sok-Keng Tong, François Brion, Bon-Chu Chung, et al.

► **To cite this version:**

Olivier Kah, Elisabeth Pellegrini, Karen Mouriec, Nicolas Diotel, Isabelle Anglade, et al.. Oestrogens and neurogenesis: new functions for an old hormone. Lessons from the zebrafish.. *Journal de la Société de Biologie*, 2009, 203 (1), pp.29-38. 10.1051/jbio:2009007 . hal-00379272

HAL Id: hal-00379272

<https://hal.science/hal-00379272>

Submitted on 28 Apr 2009

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Œstrogènes et neurogénèse : de nouvelles fonctions pour une vieille hormone

Leçons tirées du poisson zèbre

Olivier Kah, Elisabeth Pellegrini, Karen Mouriec, Nicolas Diotel, Isabelle Anglade, Colette Vaillant, Marie-Lise Thieulant, Sok-Keng Tong¹, François Brion², Bon-chu Chung¹, et Farzad Pakdel

Neurogénèse, Aromatase et Œstrogènes
Université de Rennes 1, UMR CNRS 6026
Campus de Beaulieu
35042 Rennes cedex, France

¹Institute of Molecular Biology,
Academia Sinica,
Taipei, Taiwan

² Unité d'évaluation des risques écotoxicologiques,
Direction des Risques Chroniques,
INERIS, BP 2,
60550 Verneuil-en-Halatte, France

Correspondance
Dr. Olivier Kah
Neurogénèse, Aromatase et Œstrogènes
Université de Rennes 1, UMR CNRS 6026
Campus de Beaulieu
35 042 Rennes cedex, France

Téléphone : 02 23 23 67 65

Télécopie : 02 23 23 67 94

olivier.kah@univ-rennes1.fr

Résumé

Contrairement à celui des Vertébrés qui possède une capacité de neurogenèse limitée au cours de la vie adulte, le cerveau des Poissons téléostéens est connu pour sa capacité à proliférer tout au long de la vie et ce dans l'ensemble des territoires cérébraux. Nous examinons ici l'hypothèse selon laquelle l'un des facteurs qui pourraient participer au maintien et à la prolifération de progéniteurs neuronaux pourrait être l'œstradiol. En effet, des résultats récents ont établi que les cellules gliales radiaires, qui persistent dans le cerveau de poisson adulte, expriment fortement le gène *cyp19a1b*, dont le produit est le cytochrome P450 aromatasase, enzyme de synthèse des œstrogènes. Compte tenu des rôles bien connus de l'œstradiol sur la prolifération cellulaire, cette observation est particulièrement intéressante car les cellules gliales radiaires sont des cellules progénitrices capables de générer des neurones. Des données récentes obtenues chez les Mammifères et les Oiseaux suggèrent que dans de nombreuses situations de neurogenèse embryonnaire, adulte ou réparatrice, il existe un lien entre expression d'œstrogènes dans les cellules gliales radiaires ou les astrocytes et l'activité proliférative de ces cellules. Il est donc possible que la situation existant chez les Poissons adultes corresponde à l'exploitation d'un mécanisme général impliquant les œstrogènes dans la neurogenèse, à des fins de croissance continue du cerveau

Summary

In contrast to other vertebrates, in which the adult brain shows limited adult neurogenesis, teleost fishes exhibit an unparalleled capacity to generate new neurons as adults, suggesting that their brains present a highly permissive environment for the maintenance and proliferation of adult progenitors. Here, we examine the hypothesis that one of the factors permitting establishment of this favourable environment is estradiol. Indeed, recent data showed that radial glial cells strongly expressed one of two aromatase duplicated genes. Aromatase is the estrogen-synthesizing enzyme and this observation is of great interest, given that radial glial cells are progenitor cells capable of generating new neurons. Given the well documented roles of estrogens on cell fate, and notably on cell proliferation, these data suggest that estradiol could be involved in maintaining and/or activating these progenitors. Examination of recent data in birds and mammals suggests that the situation in fish could well be an exaggeration of a more general mechanism implicating estrogens in neurogenesis. Indeed, there is accumulating evidence that estrogens are involved in embryonic, adult or reparative neurogenesis in other vertebrates, notably in mammals.

Mots-clé : aromatase, estradiol estrogènes, récepteur des estrogènes, BLBP, cellule gliale radiaire, astrocyte, neurogenèse, transgenèse, GFP

Key-words : aromatase, estradiol estrogens, estrogen receptor, BLBP, radial glial cell, astrocyte, neurogenesis, transgenesis, GFP

Remerciements : Les recherches originales présentées dans cet article ont été soutenues par le CNRS, le Ministère de la Recherche, l'ANR et l'Union Européenne (Programme EDEN et PUBERTIMING). Nous remercions le Professeur Anfré Calas pour son aide lors de la préparation de ce manuscrit.

Introduction

Les œstrogènes sont des hormones, réputées sexuelles, sur lesquelles tout semble avoir été dit tant elles font depuis longtemps partie de celles dont le nom nous est le plus familier. Cependant, pour nous biologistes, il apparaît au contraire que plus nous en découvrons et moins nous en savons sur ces hormones dont les rôles et les mécanismes d'action paraissent se multiplier et se complexifier à l'infini. Outre leur rôle fondamental et classique dans le développement et le fonctionnement de l'axe gonadotrope qui, à lui seul suffirait, à justifier l'intérêt des chercheurs, les œstrogènes se sont peu à peu retrouvés à l'épicentre de préoccupations sociétales particulièrement fondées tant du point de vue la santé humaine que de celle de notre environnement en général.

En effet, l'implication des œstrogènes dans l'étiologie de certains des cancers les plus répandus tels que cancers du sein, de l'utérus ou de l'endomètre est solidement établie. De même, le ralentissement progressif de la synthèse des œstrogènes à la ménopause est bien connu pour favoriser la survenue de fragilités osseuses et l'ostéoporose. Si ces derniers rôles des œstrogènes ne font plus de doute, il persiste de nombreux questionnements quant aux effets neuroprotecteurs des œstrogènes et leurs rôles dans la prévention de maladies neurodégénératives. Dans un autre registre, des interrogations majeures sont liées à la présence dans notre environnement de nombreuses substances à effet œstrogéno-mimétique ou de résidus médicamenteux présents dans le milieu à des concentrations susceptibles d'interférer avec le système endocrinien. S'il existe de nombreux exemples d'effets avérés sur la faune sauvage dans certains lieux particulièrement sensibles, il n'est pas formellement établi qu'il puisse exister un lien direct entre la présence de ces xenoœstrogènes et phytoœstrogènes et l'augmentation du nombre des cancers hormono-dépendants ou anomalies génitales dans les pays industrialisés (Safe, 2002). L'ensemble de ces préoccupations sociétales particulièrement fortes a naturellement conduit à une multiplication des recherches sur tous les aspects des mécanismes biologiques sous-tendant la synthèse, les sites et modes d'actions ou l'activité biologique des œstrogènes naturels ou synthétiques. De cette masse d'informations, souvent contradictoires, émerge tout de même la perception que nous devons profondément remettre en question notre vision classique de ce que sont ces hormones et qui en fait ne reflète certainement que la partie émergée d'un iceberg de connaissances qui restent à acquérir.

Au niveau du système nerveux central, l'œstradiol a tout d'abord été envisagé comme une hormone libérée par la gonade et dont les taux circulants exercent des rétrocontrôles positifs et négatifs sur les circuits neuroendocrines contrôlant la sécrétion cyclique des

hormones gonadotropes. Cependant, il apparaît pleinement à présent que la sphère d'action des œstrogènes dépasse largement le cadre du "cerveau reproducteur" pour s'étendre à la modulation de fonctions cognitives, en particulier l'apprentissage et la mémoire, le contrôle moteur, la perception de la douleur ou encore l'humeur (pour revue (Farage et al., 2008; Garcia-Segura, 2008; Luine, 2008; Simpkins and Singh, 2008). Cette diversification des rôles centraux des œstrogènes va de pair avec la complexification croissante des mécanismes cellulaires et moléculaires sous-tendant les effets des œstrogènes. Outre les effets génomiques faisant intervenir les ER α et ER β susceptibles de se fixer sur des séquences ERE, AP-1 ou SP1 des promoteurs, plusieurs mécanismes d'actions non génomiques ont été démontrés grâce auxquels les œstrogènes peuvent provoquer des changements rapides des fonctions neuronales suite à l'activation de récepteurs membranaires couplés à différentes voies de signalisation intracellulaire (Kelly and Ronnekleiv, 2008; Micevych and Mermelstein, 2008; Raz et al., 2008; Toran-Allerand, 2005; Walf and Frye, 2008). L'ensemble de ces mécanismes sont susceptibles d'expliquer la diversité des effets bien documentés des œstrogènes sur la plasticité des cellules nerveuses (pour revue (de Lacalle, 2006; Spencer et al., 2008; Woolley, 2007).

Depuis quelques années, un certain nombre d'études suggèrent pour les œstrogènes, qu'ils soient d'origine périphérique ou centrale, une nouvelle fonction dans la neurogénèse. Une bonne partie des études ayant conduit à l'émergence de ce nouveau concept, dont on perçoit bien toute l'importance à de multiples égards, a été réalisée sur des modèles non mammaliens, Oiseaux et Poissons, ce qui illustre une fois de plus l'intérêt de la multiplicité des modèles. Cette revue a pour ambition de faire le point sur un certain nombre de travaux réalisés chez les Poissons téléostéens, en grande partie dans notre laboratoire, et témoignant d'une situation particulièrement originale qui pourrait en fait refléter une exagération chez les Poissons d'un mécanisme plus général impliquant les œstrogènes dans la neurogénèse chez les Vertébrés.

1- Les cellules gliales radiales des Poissons expriment fortement l'aromatase, enzyme de synthèse des œstrogènes

Les œstrogènes résultent de la conversion d'androgènes C19 par un complexe enzymatique qui comporte un cytochrome P450 à activité NADPH-réductase et le cytochrome P450 aromatase. Cet unique enzyme de synthèse des œstrogènes est codé chez le Mammifère par un seul gène (*cyp19a1*) d'organisation complexe (Bulun et al., 2004). Ce gène s'exprime dans différents tissus, notamment dans le cerveau et la gonade, par utilisation

alternative de différents promoteurs tissu-spécifiques. Au contraire, suite à la duplication 3R (Teleost specific gene duplication) qui a affecté le génome des Poissons téléostéens au moment de leur émergence (Siegel et al., 2007), la majorité des Poissons téléostéens possèdent deux gènes aromatase. Le gène *cyp19a1a* code l'aromatase A, exprimée principalement dans la gonade, et le gène *cyp19a1b* code l'aromatase B, principalement exprimée dans le cerveau (Callard and Tchoudakova, 1997). C'est ce dernier gène qui est responsable de la très forte expression d'aromatase dans le cerveau des Poissons (Menuet et al., 2003; Tchoudakova and Callard, 1998; Tchoudakova et al., 2001). En effet, une caractéristique du cerveau des Poissons, connue depuis longtemps (Callard et al., 1978; Pasmanik and Callard, 1985), est l'existence d'une capacité exceptionnelle à convertir des androgènes en œstrogènes. Cependant, jusqu'à une date récente, il n'existait aucune donnée sur les sites précis d'expression du gène correspondant, sa régulation et la possible signification physiologique de cette forte activité.

En 2001, paraissait le premier article présentant des données sérieuses quant aux sites d'expression des messagers et de la protéine aromatase dans le cerveau d'un téléostéen, (Forlano et al., 2001). De manière extrêmement surprenante à l'époque, il était montré que l'aromatase s'exprimait majoritairement dans des cellules gliales radiaires en particulier dans le cerveau antérieur. Il convient de rappeler ici que lors de la neurogenèse corticale chez la souris, les cellules gliales radiaires, dont la morphologie est tout à fait particulière (Bentivoglio and Mazzarello, 1999), sont des cellules progénitrices qui génèrent des neurones lesquels migrent le long des prolongements radiaires pour gagner les couches profondes du cortex (Gotz and Huttner, 2005; Noctor et al., 2002; Noctor et al., 2004). En fin de neurogenèse, les cellules gliales radiaires se différencient en astrocytes (Noctor et al., 2004). Ces cellules persistent en partie tout au long de la vie chez les Oiseaux et les Poissons. Effectivement, nous avons confirmé chez la truite et le poisson zèbre non seulement que l'aromatase s'exprime effectivement dans les cellules gliales radiaires (Figure 1), mais aussi que les neurones n'expriment jamais l'aromatase (Kallivretaki et al., 2007; Menuet et al., 2003; Menuet et al., 2005; Pellegrini et al., 2005; Pellegrini et al., 2007). En effet, par des doubles marquage immunohistochimiques, nous avons pu confirmer que les cellules gliales radiaires aromatase B positives n'expriment jamais la tubuline acétylée ou la protéine Hu (une protéine nucléaire neuronale), démontrant ainsi que les cellules exprimant l'aromatase B ne sont pas des neurones. Ces données ont été récemment confirmées par le fait que des poissons zèbres transgéniques exprimant la GFP sous contrôle du promoteur aromatase n'expriment la GFP que dans les cellules gliales radiaires (Tong et al., 2009). Nous avons en effet établi que

toutes les cellules GFP-positives expriment également la protéine BLBP (Figure 2 ; Brain Lipid Binding Protein), un marqueur spécifique des cellules gliales radiaires (Anthony et al., 2005; Tong et al., 2009).

2- Pourquoi l'aromatase ne s'exprime que dans les cellules gliales radiaires ?

Nous nous sommes interrogés sur les raisons pour lesquelles le gène *cyp19a1b* ne s'exprime chez les Poissons que dans les cellules gliales radiaires et avons pour cela réalisé tout un ensemble d'expériences *in vivo* et *in vitro* (Le Page et al., 2008; Le Page et al., 2006; Menuet et al., 2005; Mouriec et al., 2008; Pellegrini et al., 2005). De ces données, il résulte que l'expression de l'aromatase B est principalement contrôlée par l'œstradiol selon une boucle d'autorégulation positive particulièrement originale et intrigante. Nous avons en effet montré que le gène *cyp19a1b* est très fortement régulé par les œstrogènes *in vivo* et *in vitro*, que cette régulation implique un élément de réponse aux œstrogènes (ERE) situé sur le promoteur proximal et qu'elle nécessite l'intervention des récepteurs aux œstrogènes. La réponse est entièrement bloquée par les anti-œstrogènes ou des mutations de l'ERE (Menuet et al., 2005). Néanmoins, il est extrêmement curieux de noter que de nombreux neurones exprimant les ERs n'expriment pas l'aromatase tandis que les cellules gliales radiaires n'exprimeraient quant à elles que de très faibles quantités d'ERs.

En fait, par des expériences de co-transfection, dans diverses lignées cellulaires, de récepteur des œstrogènes et d'un gène rapporteur luciférase placé sous le contrôle du promoteur de l'aromatase B, nous avons montré que la régulation œstrogénique nécessite un contexte cellulaire de type glial. En effet, cette régulation n'est mise en évidence que dans des cellules P19 différenciées en neurones et astrocytes par l'acide rétinoïque ou dans des U251-MG correspondant à des astrocytes humains (Menuet et al., 2005). Par contre, dans ces contextes cellulaires, la réponse œstrogénique est très largement supérieure à celle que l'on obtient dans ces mêmes cellules avec un gène rapporteur artificiel ERE-TK-luciférase. Ceci nous indique que le promoteur du gène *cyp19a1b* est particulièrement sensible à la stimulation œstrogénique, mais uniquement dans des contextes neurogliaux. Ces observations *in vitro* sont en parfait accord avec le fait qu'*in vivo* l'œstradiol induit une très forte expression de l'aromatase B uniquement dans les cellules gliales radiaires.

Grâce à des expériences de délétion et de mutagenèse dirigée, nous avons pu en outre montrer que la réponse œstrogénique du gène *cyp19a1b* nécessite également l'intégrité d'une séquence que nous avons appelée GXRE et qui fixerait un (ou des) facteur(s) spécifique(s) des cellules gliales (Le Page et al., 2008; Le Page et al., 2006; Menuet et al., 2005). Nous

avons également montré que de faibles concentrations de récepteurs des œstrogènes sont capables de fortement stimuler l'expression de l'aromatase dans les contextes neurogliaux (Menuet et al., 2005). Notre hypothèse est que dans les cellules gliales radiaires, une coopération obligatoire entre les récepteurs des œstrogènes et un facteur glial de nature inconnu confère au gène *cyp19a1b* une extrême sensibilité aux œstrogènes (Menuet et al., 2005; Mouriec et al., 2008).

3- Les cellules gliales radiaires sont des cellules progénitrices dans le cerveau des Poissons adultes

Depuis les premiers travaux réalisés chez le guppy (*Lebistes reticulatus*), il est connu que le cerveau des Poissons présente une activité de prolifération intense, mise en évidence au départ grâce à l'injection de thymidine tritiée (Kirsche, 1967; Kranz and Richter, 1970a; 1970b). Cette activité diminue avec l'âge (Kranz and Richter, 1970a; 1970b), mais reste très significative chez l'adulte. Plus récemment, l'introduction de la technique à la BrdU et de l'immunohistochimie du PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) (Ekstrom et al., 2001; Zupanc, 2006) a permis de confirmer et préciser ces résultats. Une caractéristique tout à fait remarquable, rapportée par de nombreux auteurs, est que contrairement à ce qui est acquis chez les Oiseaux ou les Mammifères, cette activité proliférative est observée dans quasiment l'ensemble des territoires cérébraux, mais plus particulièrement dans le cerveau antérieur (tel-di- et mésencéphale) (Lindsey and Tropepe, 2006). Depuis une petite quinzaine d'années, il est reconnu que le cerveau des Mammifères à l'état adulte est capable de générer des nouveaux neurones, mais dans seulement deux aires telencéphaliques restreintes, la zone sous-ventriculaire du ventricule latéral et le gyrus denté de la formation hippocampique (GD) (Lindsey and Tropepe, 2006; Lledo et al., 2006). Chez les Poissons, il apparaît que, non seulement, les équivalents de ces deux régions présentent une activité de prolifération intense, mais également de multiples autres zones périventriculaires. Cette activité de prolifération, presque toujours observée en bordure des ventricules, varie considérablement d'une région à l'autre et est tout à fait spectaculaire dans le sous-pallium ventral antérieur, une sous région de l'aire préoptique, une partie du thalamus et en bordure de diverticules du 3^{ème} ventricule, les recessus latéraux et postérieurs (Adolf et al., 2006; Ekstrom et al., 2001; Grandel et al., 2006; Pellegrini et al., 2007; Zupanc et al., 2005). Néanmoins, il existe également des territoires cérébraux, tels que le cervelet notamment, dans lesquels des cellules en prolifération sont nombreuses dans le parenchyme, sans rapport évident avec les ventricules.

A l'aide des marqueurs de prolifération tels que la BrdU (Bromo-déoxy-uridine) ou le PCNA (Proliferative Cell Nuclear Antigen), nous avons confirmé la forte activité neurogénique du cerveau de zebrafish déjà décrite auparavant (Adolf et al., 2006; Grandel et al., 2006; Zupanc et al., 2005). La BrdU s'intègre à l'ADN des cellules qui sont en phase S lors du traitement et il est possible de visualiser la BrdU en utilisant des anticorps. Une fois la BrdU intégrée à l'ADN, les cellules pourront être identifiées par immunohistochimie après des délais variés suite au traitement ce qui permet d'en étudier le devenir. La protéine PCNA quant à elle est un marqueur des cellules en phase S au moment du sacrifice. Une exposition à la BrdU de 12 à 24 heures avec sacrifice immédiat a permis de confirmer la présence de nombreuses cellules en prolifération dans les zones périventriculaires du cerveau antérieur (bulbes olfactifs, sous pallium, pallium, aire préoptique, thalamus hypothalamus médiobasal, cervelet, régions bordant le 4ème ventricule), régions où les cellules radiaires AroB positives sont nombreuses. Des résultats analogues sont obtenus grâce aux anticorps anti-PCNA. Les deux techniques mettent en évidence une capacité proliférative considérable y compris chez des animaux adultes (Figure 3). L'observation au microscope confocal des doubles marquages AroB/BrdU a montré que, avec des temps de traitement à la BrdU courts, inférieur à 24 heures, une très grande majorité des cellules BrdU-positives sont aussi AroB-positives. Avec ces temps de survie courts, les cellules doublement marquées sont toujours localisées en bordure des ventricules. Ces résultats suggèrent donc très fortement que les cellules radiaires AroB-positives sont capables de se diviser. Cette activité de prolifération est particulièrement importante dans le pallium, l'aire préoptique, l'hypothalamus médiobasal, et les régions bordant les recessi latéraux et postérieurs (Pellegrini et al., 2007).

Par contre, si le temps de survie est augmenté à 48 heures puis à 5, 7, 10, 15 et 30 jours (après exposition de 12 ou 24 heures à la BrdU), on observe dès 48 heures que certaines cellules BrdU positives/AroB négatives apparaissent tout d'abord à proximité du ventricule, puis avec le temps dans des couches de plus en plus éloignées des ventricules. Ces cellules ne sont jamais AroB-positives comme l'ont révélé des doubles marquages BrdU/AroB. Par contre, il est très fréquent d'observer des noyaux BrdU+ étroitement associés aux prolongements radiaires AroB+ des cellules radiaires, ce qui suggère fortement que ces cellules nouvellement générées migrent en position plus latérale le long des prolongements radiaires pour aller s'intégrer à des massifs cellulaires déjà existants. Quinze et 30 jours après un traitement par la BrdU, des doubles marquages BrdU-tubuline acétylée ou BrdU-Hu ont été réalisés. La protéine Hu et la tubuline acétylée sont des marqueurs des noyaux et du cytoplasme des neurones respectivement. Nous observons alors que de nombreuses cellules

BrdU-positives sont également Hu-positives, démontrant que ces cellules nouvellement générées se différencient rapidement en neurones. Ces résultats sont confirmés par le fait que de nombreuses cellules BrdU-positives ont un cytoplasme tubuline acétylée-positif (Pellegrini et al., 2007).

Nous nous trouvons donc face à une situation dans laquelle, au moins une partie des cellules gliales radiaires sont des progéniteurs neuronaux exprimant l'aromatase B. Ces résultats soulèvent, entre autres, la question de savoir si cette caractéristique est propre aux Poissons ou si, au contraire, elle se retrouve dans d'autres lignages.

4- Œstrogènes, cellules gliales radiaires et prolifération chez les autres Vertébrés

Chez les Oiseaux et les Mammifères, il est admis que l'aromatase s'exprime dans des neurones (Balthazart and Ball, 1998; Yague et al., 2006). Cependant, quelques études récentes font état de l'expression des messagers ou de la protéine aromatase dans des astrocytes (Balthazart and Ball, 1998; Yague et al., 2006) ou des cellules gliales radiaires. De manière extrêmement intéressante, le laboratoire d'Arnold Kriegstein a montré que lors du développement du cortex de souris, l'aromatase ainsi que le récepteur alpha des œstrogènes s'expriment dans les cellules gliales radiaires (Martinez-Cerdeno et al., 2006). Ces auteurs montrent également que des antagonistes de ERs bloquent la division de ces cellules, tandis que l'œstradiol la stimule. Ces données sont particulièrement intéressantes dans la mesure où elles ne sont pas sans rappeler nos propres observations dans le cerveau de Poissons adultes, c'est-à-dire l'expression d'aromatase dans des cellules gliales radiaires progénitrices. Il convient aussi de rappeler que chez les Rongeurs, l'activité aromatase cérébrale est maximale durant la période périnatale, baisse ensuite et ne remonte jamais chez l'adulte à des niveaux comparables à ceux atteints lors de la vie embryonnaire (Lephart, 1996). Un nombre croissant de travaux montrent que les œstrogènes sont également connus pour stimuler la neurogénèse adulte au niveau du gyrus denté (Galea, 2008; Saravia et al., 2007) et l'on sait en outre que les astrocytes de cette région qui conserve des capacités de prolifération chez l'adulte synthétisent localement des œstrogènes *de novo* à partir de cholestérol (Hojo et al., 2008).

Par ailleurs, il est connu que dans certaines situations physiopathologiques, les organismes sont capables de réactiver des programmes développementaux afin de réparer les dommages liés à une lésion ou à une blessure. Ainsi, il semble que les mécanismes de réparation mis en route suite à des lésions cérébrales puissent activer l'expression d'aromatase dans des astrocytes qui, rappelons-le dérivent de la glie radiaire. Dans des cas de lésions chimiques ou mécaniques, il a été rapporté que l'aromatase s'exprime dans les astrocytes

réactifs à proximité de lésions chez les Mammifères (Azcoitia et al., 2003; Garcia-Ovejero et al., 2005) ou dans la glie radiaire chez les Oiseaux (Peterson et al., 2004). Dans ce dernier travail, les auteurs montrent que l'aromatase s'exprime dans la glie radiaire au regard, et seulement au regard, d'une lésion unilatérale du cortex de mandarin. En parallèle, il se produit une augmentation très sensible de l'activité proliférative, suggérant là encore un lien entre activité proliférative et production d'œstrogènes (Peterson et al., 2004) dans une situation de néoneurogenèse à visée réparatrice. En parallèle de ces travaux, d'autres études montrent que dans les situations de réparation neuronale, les astrocytes sont capables de se différencier en cellules gliales radiaires qui sont alors capables de se diviser pour générer des neurones (Ganat et al., 2002; Vaccarino et al., 2007). Il est aussi connu qu'*in vitro*, certaines molécules solubles comme le TGF α sont capables d'induire la différenciation d'astrocytes en cellules radiaires, lesquelles génèrent des neurones (Sharif et al., 2007). Enfin, de nombreux travaux montrent à présent que les lésions ou l'hypoxie stimule la néoneurogenèse selon des mécanismes qui commencent à être bien connus et feraient intervenir la voie Notch (Zhang et al., 2008). Si le lien entre ces dernières études et les œstrogènes est loin d'être fermement établi, on peut signaler qu'il vient d'être montré que les œstrogènes stimulent la neurogenèse après l'ischémie et que cet effet est réduit chez les souris invalidées pour le ER α ou ER β (Suzuki et al., 2007).

Conclusions et perspectives

L'ensemble des données présentées ci-dessus montre que les Poissons téléostéens représentent des modèles tout à fait originaux dans lesquels on observe en parallèle d'une activité neurogénique accrue chez l'adulte, une expression d'aromatase dans les cellules gliales radiaires. La persistance des cellules gliales radiaires capables de générer des neurones tout au long de la vie donne à penser que les Poissons « adultes » sur le plan sexuel, ne le sont probablement pas en ce qui concerne le développement cérébral. On sait en effet que le cerveau des Poissons croît, contrairement à celui des Mammifères ou même des Oiseaux, durant toute la vie de l'animal, et ce dans des proportions importantes. Il est donc logique de penser que le cerveau des poissons « adultes » conserve des caractéristiques de cerveau en développement. Si, comme décrit chez la Souris, l'œstradiol synthétisé par les cellules gliales radiaires stimule la division de progéniteurs dans les zones ventriculaires (Martinez-Cerdeno et al., 2006), il est alors tout à fait envisageable que cette caractéristique soit également conservée dans le cerveau des poissons « adultes ».

Par ailleurs, il est clair que, chez les Rongeurs, les œstrogènes favorisent également la neurogenèse réparatrice en réactivant certains programmes développementaux

(dédifférenciation des astrocytes en cellules gliales radiaires progénitrices, synthèse locale d'œstrogènes). Compte tenu du maintien chez les Poissons « adultes » de certaines propriétés du cerveau en développement, il n'est peut être pas surprenant que les Poissons soient connus pour leurs capacités de régénération exceptionnelle (Zupanc and Zupanc, 2006). Il semble donc qu'il faille utiliser la terminologie de neurogénèse adulte avec prudence chez les Poissons chez lesquels paraissent co-exister des mécanismes semblables à ceux de la neurogénèse adulte des Mammifères, tels que l'existence d'un « rostral migratory stream » (Adolf et al., 2006; Chapouton et al., 2007), avec des caractéristiques de cerveau immature. Quoiqu'il en soit, ces particularités font de ces espèces des modèles de choix pour appréhender certains aspects de la neurogénèse ou de la régénération neuronale et soulignent, s'il en est encore besoin, tout l'intérêt de la comparaison des modèles et de la dimension évolutive pour discerner le sens profond des mécanismes biologiques quels qu'ils soient.

Références

- Adolf, B., Chapouton, P., Lam, C.S., Topp, S., Tannhauser, B., Strahle, U., Gotz, M., Bally-Cuif, L., 2006. Conserved and acquired features of adult neurogenesis in the zebrafish telencephalon. *Dev Biol* 295, 278-293.
- Anthony, T.E., Mason, H.A., Gridley, T., Fishell, G., Heintz, N., 2005. Brain lipid-binding protein is a direct target of Notch signaling in radial glial cells. *Genes Dev* 19, 1028-1033.
- Azcoitia, I., Sierra, A., Veiga, S., Garcia-Segura, L.M., 2003. Aromatase expression by reactive astroglia is neuroprotective. *Ann N Y Acad Sci* 1007, 298-305.
- Balthazart, J., Ball, G.F., 1998. New insights into the regulation and function of brain estrogen synthase (aromatase). *Trends Neurosci* 21, 243-249.
- Bentivoglio, M., Mazzarello, P., 1999. The history of radial glia. *Brain Res Bull* 49, 305-315.
- Bulun, S.E., Takayama, K., Suzuki, T., Sasano, H., Yilmaz, B., Sebastian, S., 2004. Organization of the human aromatase p450 (CYP19) gene. *Semin Reprod Med* 22, 5-9.
- Callard, G.V., Petro, Z., Ryan, K.J., 1978. Phylogenetic distribution of aromatase and other androgen-converting enzymes in the central nervous system. *Endocrinology* 103, 2283-2290.
- Chapouton, P., Jagasia, R., Bally-Cuif, L., 2007. Adult neurogenesis in non-mammalian vertebrates. *Bioessays* 29, 745-757.
- de Lacalle, S., 2006. Estrogen effects on neuronal morphology. *Endocrine* 29, 185-190.
- Ekstrom, P., Johnsson, C.M., Ohlin, L.M., 2001. Ventricular proliferation zones in the brain of an adult teleost fish and their relation to neuromeres and migration (secondary matrix) zones. *J Comp Neurol* 436, 92-110.
- Farage, M.A., Osborn, T.W., MacLean, A.B., 2008. Cognitive, sensory, and emotional changes associated with the menstrual cycle: a review. *Arch Gynecol Obstet* 278, 299-307.
- Forlano, P.M., Deitcher, D.L., Myers, D.A., Bass, A.H., 2001. Anatomical distribution and cellular basis for high levels of aromatase activity in the brain of teleost fish: aromatase enzyme and mRNA expression identify glia as source. *J Neurosci* 21, 8943-8955.
- Galea, L.A., 2008. Gonadal hormone modulation of neurogenesis in the dentate gyrus of adult male and female rodents. *Brain Res Rev* 57, 332-341.
- Ganat, Y., Soni, S., Chacon, M., Schwartz, M.L., Vaccarino, F.M., 2002. Chronic hypoxia up-regulates fibroblast growth factor ligands in the perinatal brain and induces fibroblast

- growth factor-responsive radial glial cells in the sub-ependymal zone. *Neuroscience* 112, 977-991.
- Garcia-Ovejero, D., Azcoitia, I., Doncarlos, L.L., Melcangi, R.C., Garcia-Segura, L.M., 2005. Glia-neuron crosstalk in the neuroprotective mechanisms of sex steroid hormones. *Brain Res Brain Res Rev* 48, 273-286.
- Garcia-Segura, L.M., 2008. Aromatase in the brain: not just for reproduction anymore. *J Neuroendocrinol* 20, 705-712.
- Gotz, M., Huttner, W.B., 2005. The cell biology of neurogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6, 777-788.
- Grandel, H., Kaslin, J., Ganz, J., Wenzel, I., Brand, M., 2006. Neural stem cells and neurogenesis in the adult zebrafish brain: Origin, proliferation dynamics, migration and cell fate. *Dev Biol* 295, 263-277.
- Hoyo, Y., Murakami, G., Mukai, H., Higo, S., Hatanaka, Y., Ogiue-Ikeda, M., Ishii, H., Kimoto, T., Kawato, S., 2008. Estrogen synthesis in the brain--role in synaptic plasticity and memory. *Mol Cell Endocrinol* 290, 31-43.
- Kallivretaki, E., Eggen, R.I., Neuhauss, S.C., Kah, O., Segner, H., 2007. The zebrafish, brain-specific, aromatase *cyp19a2* is neither expressed nor distributed in a sexually dimorphic manner during sexual differentiation. *Dev Dyn* 236, 3155-3166.
- Kelly, M.J., Ronnekleiv, O.K., 2008. Membrane-initiated estrogen signaling in hypothalamic neurons. *Mol Cell Endocrinol* 290, 14-23.
- Kirsche, W., 1967. [On postembryonic matrix zones in the brain of various vertebrates and their relationship to the study of the brain structure]. *Z Mikrosk Anat Forsch* 77, 313-406.
- Kranz, D., Richter, W., 1970a. [Autoradiographic studies on the localization of the matrix zones of the diencephalon of young and adult *Lebistes reticulatus* (Teleostae)]. *Z Mikrosk Anat Forsch* 82, 42-66.
- Kranz, D., Richter, W., 1970b. [Autoradiographic studies on the synthesis of DNA in the cerebellum and medulla oblongata of teleosts of various ages]. *Z Mikrosk Anat Forsch* 82, 264-292.
- Le Page, Y., Menuet, A., Kah, O., Pakdel, F., 2008. Characterization of a cis-acting element involved in cell-specific expression of the zebrafish brain aromatase gene. *Mol Reprod Dev* 75, 1549-1557.
- Le Page, Y., Scholze, M., Kah, O., Pakdel, F., 2006. Assessment of xenoestrogens using three distinct estrogen receptors and the zebrafish brain aromatase gene in a highly responsive glial cell system. *Environ Health Perspect* 114, 752-758.

- Lephart, E.D., 1996. A review of brain aromatase cytochrome P450. *Brain Res Brain Res Rev* 22, 1-26.
- Lindsey, B.W., Tropepe, V., 2006. A comparative framework for understanding the biological principles of adult neurogenesis. *Prog Neurobiol* 80, 281-307.
- Lledo, P.M., Alonso, M., Grubb, M.S., 2006. Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nat Rev Neurosci* 7, 179-193.
- Luine, V.N., 2008. Sex steroids and cognitive function. *J Neuroendocrinol* 20, 866-872.
- Martinez-Cerdeno, V., Noctor, S.C., Kriegstein, A.R., 2006. Estradiol stimulates progenitor cell division in the ventricular and subventricular zones of the embryonic neocortex. *Eur J Neurosci* 24, 3475-3488.
- Menuet, A., Anglade, I., Le Guevel, R., Pellegrini, E., Pakdel, F., Kah, O., 2003. Distribution of aromatase mRNA and protein in the brain and pituitary of female rainbow trout: Comparison with estrogen receptor alpha. *J Comp Neurol* 462, 180-193.
- Menuet, A., Pellegrini, E., Brion, F., Gueguen, M.M., Anglade, I., Pakdel, F., Kah, O., 2005. Expression and estrogen-dependent regulation of the zebrafish brain aromatase gene. *J Comp Neurol* 485, 304-320.
- Micevych, P.E., Mermelstein, P.G., 2008. Membrane estrogen receptors acting through metabotropic glutamate receptors: an emerging mechanism of estrogen action in brain. *Mol Neurobiol* 38, 66-77.
- Mouriec, K., Pellegrini, E., Anglade, I., Menuet, A., Adrio, F., Thieulant, M.L., Pakdel, F., Kah, O., 2008. Synthesis of estrogens in progenitor cells of adult fish brain: evolutive novelty or exaggeration of a more general mechanism implicating estrogens in neurogenesis? *Brain Res Bull* 75, 274-280.
- Noctor, S.C., Flint, A.C., Weissman, T.A., Wong, W.S., Clinton, B.K., Kriegstein, A.R., 2002. Dividing precursor cells of the embryonic cortical ventricular zone have morphological and molecular characteristics of radial glia. *J Neurosci* 22, 3161-3173.
- Noctor, S.C., Martinez-Cerdeno, V., Ivic, L., Kriegstein, A.R., 2004. Cortical neurons arise in symmetric and asymmetric division zones and migrate through specific phases. *Nat Neurosci* 7, 136-144.
- Pasmanik, M., Callard, G.V., 1985. Aromatase and 5 alpha-reductase in the teleost brain, spinal cord, and pituitary gland. *Gen Comp Endocrinol* 60, 244-251.
- Pellegrini, E., Menuet, A., Lethimonier, C., Adrio, F., Gueguen, M.M., Tascon, C., Anglade, I., Pakdel, F., Kah, O., 2005. Relationships between aromatase and estrogen receptors in the brain of teleost fish. *Gen Comp Endocrinol* 142, 60-66.

- Pellegrini, E., Mouriec, K., Anglade, I., Menuet, A., Le Page, Y., Gueguen, M.M., Marmignon, M.H., Brion, F., Pakdel, F., Kah, O., 2007. Identification of aromatase-positive radial glial cells as progenitor cells in the ventricular layer of the forebrain in zebrafish. *J Comp Neurol* 501, 150-167.
- Peterson, R.S., Lee, D.W., Fernando, G., Schlinger, B.A., 2004. Radial glia express aromatase in the injured zebra finch brain. *J Comp Neurol* 475, 261-269.
- Raz, L., Khan, M.M., Mahesh, V.B., Vadlamudi, R.K., Brann, D.W., 2008. Rapid estrogen signaling in the brain. *Neurosignals* 16, 140-153.
- Safe, S., 2002. Environmental estrogens: roles in male reproductive tract problems and in breast cancer. *Rev Environ Health* 17, 253-262.
- Saravia, F., Beauquis, J., Pietranera, L., De Nicola, A.F., 2007. Neuroprotective effects of estradiol in hippocampal neurons and glia of middle age mice. *Psychoneuroendocrinology* 32, 480-492.
- Sharif, A., Legendre, P., Prevot, V., Allet, C., Romao, L., Studler, J.M., Chneiweiss, H., Junier, M.P., 2007. Transforming growth factor alpha promotes sequential conversion of mature astrocytes into neural progenitors and stem cells. *Oncogene* 26, 2695-2706.
- Siegel, N., Hoegg, S., Salzburger, W., Braasch, I., Meyer, A., 2007. Comparative genomics of ParaHox clusters of teleost fishes: gene cluster breakup and the retention of gene sets following whole genome duplications. *BMC Genomics* 8, 312.
- Simpkins, J.W., Singh, M., 2008. More than a decade of estrogen neuroprotection. *Alzheimers Dement* 4, S131-136.
- Spencer, J.L., Waters, E.M., Romeo, R.D., Wood, G.E., Milner, T.A., McEwen, B.S., 2008. Uncovering the mechanisms of estrogen effects on hippocampal function. *Front Neuroendocrinol* 29, 219-237.
- Suzuki, S., Gerhold, L.M., Bottner, M., Rau, S.W., Dela Cruz, C., Yang, E., Zhu, H., Yu, J., Cashion, A.B., Kindy, M.S., Merchenthaler, I., Gage, F.H., Wise, P.M., 2007. Estradiol enhances neurogenesis following ischemic stroke through estrogen receptors alpha and beta. *J Comp Neurol* 500, 1064-1075.
- Tchoudakova, A., Callard, G.V., 1998. Identification of multiple CYP19 genes encoding different cytochrome P450 aromatase isozymes in brain and ovary. *Endocrinology* 139, 2179-2189.
- Tchoudakova, A., Kishida, M., Wood, E., Callard, G.V., 2001. Promoter characteristics of two cyp19 genes differentially expressed in the brain and ovary of teleost fish. *J Steroid Biochem Mol Biol* 78, 427-439.

- Tong, S.K., Mouriec, K., Kuo, M.W., Pellegrini, E., Gueguen, M.M., Brion, F., Kah, O., Chung, B.C., 2009. A cyp19a1b-GFP (Aromatase B) transgenic zebrafish line that expresses GFP in radial glial cells. *Genesis* in press.
- Toran-Allerand, C.D., 2005. Estrogen and the brain: beyond ER-alpha, ER-beta, and 17beta-estradiol. *Ann N Y Acad Sci* 1052, 136-144.
- Vaccarino, F.M., Fagel, D.M., Ganat, Y., Maragnoli, M.E., Ment, L.R., Ohkubo, Y., Schwartz, M.L., Silbereis, J., Smith, K.M., 2007. Astroglial cells in development, regeneration, and repair. *Neuroscientist* 13, 173-185.
- Walf, A.A., Frye, C.A., 2008. Rapid and estrogen receptor beta mediated actions in the hippocampus mediate some functional effects of estrogen. *Steroids* 73, 997-1007.
- Woolley, C.S., 2007. Acute effects of estrogen on neuronal physiology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 47, 657-680.
- Yague, J.G., Munoz, A., de Monasterio-Schrader, P., Defelipe, J., Garcia-Segura, L.M., Azcoitia, I., 2006. Aromatase expression in the human temporal cortex. *Neuroscience* 138, 389-401.
- Zhang, R.L., Zhang, Z.G., Chopp, M., 2008. Ischemic stroke and neurogenesis in the subventricular zone. *Neuropharmacology* 55, 345-352.
- Zupanc, G.K., 2006. Neurogenesis and neuronal regeneration in the adult fish brain. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 192, 649-670.
- Zupanc, G.K., Hinsch, K., Gage, F.H., 2005. Proliferation, migration, neuronal differentiation, and long-term survival of new cells in the adult zebrafish brain. *J Comp Neurol* 488, 290-319.
- Zupanc, G.K., Zupanc, M.M., 2006. New neurons for the injured brain: mechanisms of neuronal regeneration in adult teleost fish. *Regen Med* 1, 207-216.

Légendes des figures

Figure 1 : Photographies prises dans l'aire préoptique (A-C) et l'hypothalamus postérieur (D-F) montrant l'expression de l'Aromatase B dans les cellules gliales radiaires (rouge B, E) et la parfaite superposition avec la GFP exprimée sous contrôle du promoteur *cyp19a1b* (vert A,D; Tong et al., in press). La superposition (merge C,F) montre que l'aromatase B n'est présente que dans le cytoplasme, alors que la GFP est aussi exprimée dans le noyau.

Figure 2 : Photographies montrant l'expression de BLBP (Brain Lipid Binding Protein) et de l'aromatase B, révélée par la présence de GFP sous le contrôle du promoteur *cyp19a1b*, dans des cellules gliales radiaires au niveau de deux régions hypothalamiques, l'hypothalamus médiobasal (Hv ; Figures 2A à 2F) et l'hypothalamus caudal, au niveau du recessus latéral (RL) et du recessus postérieur (PR ; Figures 2G à 2L).

Figure 3 : Photographies montrant que certaines cellules en prolifération marquées par PCNA (Figure 3B) correspondent à des cellules gliales radiaires identifiées par la présence de GFP chez des animaux transgéniques *cyp19a1b*-GFP (Figure 3A). En C, la superposition des deux images montrent clairement, en jaune orange, la superposition des marquages verts et rouges. Les régions encadrées correspondent à un agrandissement de la zone repérée par une flèche Dm : medial pallium.





