



HAL
open science

Immunocytologie et histochimie des cellules gonadotropes et thyroïdotropes hypophysaires chez la carpe *Cyprinus carpio*

Roland Billard, Bernard Breton, Maurice P. Dubois

► **To cite this version:**

Roland Billard, Bernard Breton, Maurice P. Dubois. Immunocytologie et histochimie des cellules gonadotropes et thyroïdotropes hypophysaires chez la carpe *Cyprinus carpio*. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. Série D, Sciences naturelles, 1971, 272 (7), pp.981-983. hal-01600245

HAL Id: hal-01600245

<https://hal.science/hal-01600245>

Submitted on 2 Jun 2020

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.

PHYSIOLOGIE. — *Immunocytologie et histochimie des cellules gonadotropes et thyrotropes hypophysaires chez la Carpe Cyprinus carpio*. Note (*) de MM. Roland Billard, Bernard Breton et Maurice P. Dubois, présentée par M. Maurice Fontaine.

Des anticorps préparés, l'un à partir d'un facteur gonadotrope de Carpe, l'autre d'un matériel hypophysaire de Carpe riche en TSH, permettent de séparer en immunofluorescence un type unique de cellules gonadotropes et un deuxième type cellulaire présumé thyrotrope dans l'hypophyse de la Carpe. Un anticorps anti LH ovine révèle la même population cellulaire, mais la LH ovine n'inhibe pas la fluorescence de l'Ac. antigonadotrope de Carpe. Un anticorps anti TSH bovine, actif chez les ruminants et le Porc, est sans action sur les cellules thyrotropes de l'hypophyse de la Carpe.

Les méthodes histochimiques classiques n'ont pas permis de déceler avec certitude 1 ou 2 types de cellules gonadotropes dans l'hypophyse des Poissons [(¹), (¹²)]. L'isolément dans l'hypophyse de Carpe d'une hormone gonadotrope hautement purifiée (cHG) [(⁴), (⁵)] et biologiquement active sur la restauration de la spermatogenèse du Cyprin hypophysectomisé (²), a permis d'obtenir un anticorps anti cHG avec lequel les cellules gonadotropes hypophysaires de la Carpe ont été recherchées par immunofluorescence. De même, les cellules thyrotropes ont été étudiées grâce à un anticorps préparé à partir d'un matériel hypophysaire de Carpe contenant de la TSH.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — L'étude porte sur des hypophyses de Carpes mâles (variété miroir) sacrifiées en juillet 1970, après la période de fraie, mais dont les testicules sont encore très développés et remplis de spermatozoïdes. La technique d'immunofluorescence (IF) indirecte est appliquée sur coupes d'hypophyses de 5 μ après fixation dans le mélange d'Elftman (⁸) et inclusion dans la paraffine.

La préparation des anticorps anti cHG et anti LH ovine (oLH) a été décrite précédemment [(³), (⁷)]. Le sérum de Lapin contenant les Ac. anti TSH de Carpe est dû à Y. A. Fontaine (⁹). L'anticorps anti TSH bovine a été obtenu à partir d'une préparation NIH B₂.

Après les tests immunologiques, les lames sont lavées et colorées par le bleu alcian (pH 1,5) associé au PAS et à l'orange G (¹⁰).

RÉSULTATS. — Les résultats sont résumés dans le tableau et la planche ci-jointe.

Immunofluorescence. — Après traitement des coupes avec les Ac. anti cHG et anti TSH de Carpe, la fluorescence apparaît sur une population hétérogène de cellules localisées dans la *pars distalis* proximale. Cette population cellulaire comporte des cellules de grande taille, sphériques, localisées principalement à la périphérie de la glande et au contact de la *pars distalis* rostrale et de la *pars intermedia*. Une autre catégorie est constituée de cellules fluorescentes moins nombreuses, plus petites, fusiformes ou polygonales, réparties dans toute la *pars distalis* proximale.

Après saturation de l'Ac. anti TSH de Carpe par des quantités croissantes de cHG, la fluorescence ne subsiste plus que dans les petites cellules. Par contre, oLH ajoutée

à l'anti TSH de Carpe ne provoque pas l'extinction de la fluorescence des cellules gonadotropes, comme elle le fait en présence de l'anti TSH bovine sur l'hypophyse de bovins, Moutons ou Porcs (6).

L'anticorps anti TSH bovine est sans action sur l'hypophyse de Carpe. Lorsque des coupes d'hypophyse des mêmes animaux sont traitées avec anti oLH, elles révèlent la même population cellulaire qu'avec anti cHG. Mais oLH ajoutée à l'anti cHG ne provoque pas, même à fortes doses (1 mg oLH/ml d'Ac.) l'extinction de la fluorescence des cellules gonadotropes.

Histochimie. — La coloration par le bleu alcian-PAS-orange G entraîne une cyanophilie intense des mêmes types cellulaires mise en évidence par l'immunofluorescence. Les cellules gonadotropes présentent, au milieu du cytoplasme fortement coloré en bleu, une ou plusieurs vacuoles de taille variable contenant fréquemment du matériel PAS +, non fluorescent dans les réactions immuno-chimiques et donc sans rapport avec l'hormone élaborée. Les petites cellules présumées thyroïdiques sont également cyanophiles, mais le bleu est moins intense et la densité du cytoplasme beaucoup plus faible que dans les cellules gonadotropes.

TABLEAU

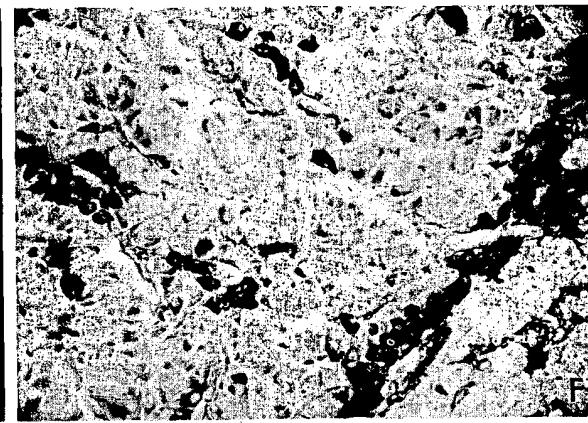
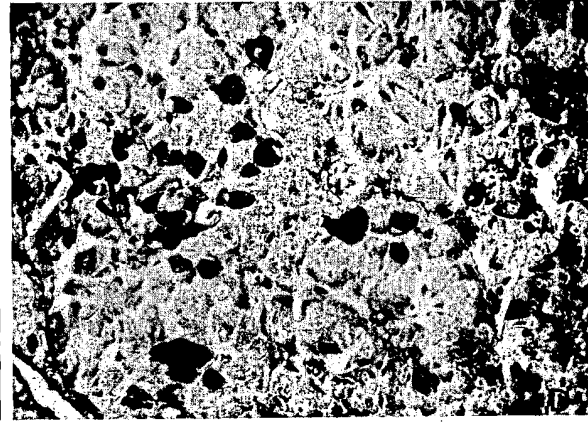
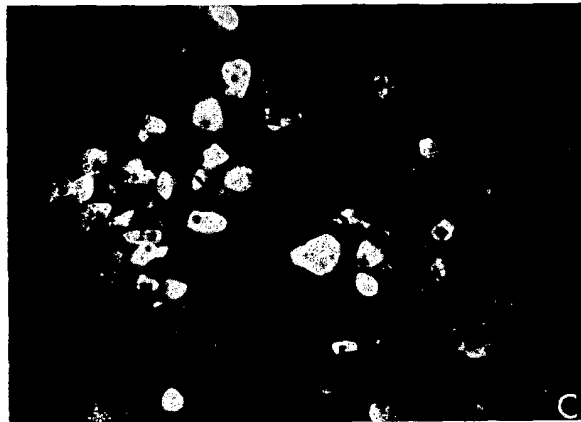
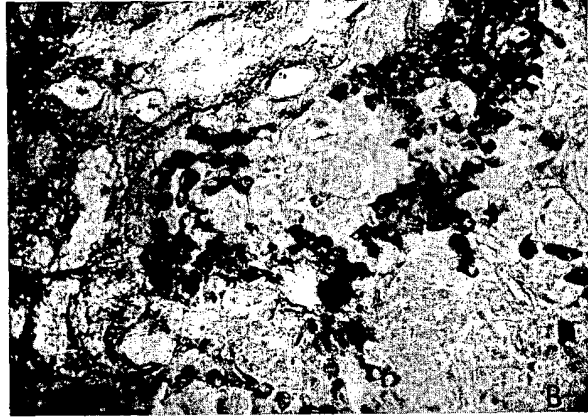
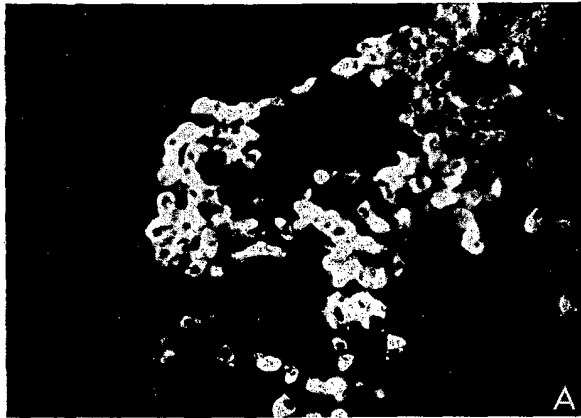
Résumé des réactions observées en immunofluorescence sur l'hypophyse de la Carpe

Anticorps	Antigène inhibiteur	Type de cellules fluorescentes	
		Cellules gonadotropes	Cellules thyroïdiques
Anti cHG		+	+
Anti cHG	cHG	—	—
Anti cHG	oLH	+	+
Anti TSH Carpe		+	+
Anti TSH Carpe	cHG	—	+
Anti TSH Carpe	oLH	+	+
Anti oLH		+	—
Anti TSH bovine (1)		+	—
Anti TSH bovine	oLH	—	—

(1) Existence d'un fort contaminant anti LH.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

- A. Immunofluorescence. Anticorps anti cHG (Oc. × 6; Obj. × 54) : Cellules gonadotropes et thyroïdiques.
 C. Immunofluorescence. Anticorps anti LH ovine (Même grossissement) : cellules gonadotropes.
 E. Immunofluorescence. Anticorps anti TSH de Carpe saturé par le facteur gonadotrope de Carpe (Même grossissement) : cellules thyroïdiques.
 B, D, F. Les coupes précédentes ont été colorées par le bleu Alcian, PAS, Orange G et les mêmes champs photographiés (Microscope Leitz « Ortholux ». Filtre d'excitation BG 12. Filtre d'arrêt K 530. Film Ektachrome EHB 135-20).



DISCUSSION ET CONCLUSION. — Chez la Carpe, les cellules gonadotropes détectées en immunofluorescence sont également identifiables après coloration histo-chimique et se localisent dans la *pars distalis* proximale, mais il n'est pas possible de différencier des cellules β à FSH et γ à LH comme Ionescu-Varo et Cristian (¹¹) l'ont fait dans cette espèce. Dans les exemplaires étudiés la *pars distalis* rostrale est très peu développée et se limite à quelques couches cellulaires de sorte qu'il n'est pas possible de dire si les cellules à TSH observées en bordure de la zone rostrale appartiennent à cette zone ou à la partie proximale. L'antigène utilisé pour la préparation de l'anticorps assure à lui seul la régénération complète de la spermatogenèse et la spermiation du Cyprin hypophysectomisé (²) : ainsi, chez la Carpe, si l'on fait abstraction des cellules présumées thyroïdiques, il n'est pas possible de différencier deux types cellulaires dans la population révélée par l'anticorps anti cHG. Faut-il conclure qu'un seul type de cellules gonadotropes, défini par l'histo et l'immuno-chimie, est à l'origine d'une hormone unique contrôlant à elle seule la fonction de reproduction, au moins chez le mâle ? Le fait que cHG présente une réaction immunologique incomplète (croisement de 10 à 15 %) avec anti oLH à l'excès et inversement (³) explique que oLH, même à forte dose, ne puisse supprimer totalement la fluorescence due à anti cHG. D'autre part, l'activité de anti oLH reste suffisante pour entraîner une réaction décelable au niveau des cellules gonadotropes.

La présence de matériel PAS + non fluorescent dans les vacuoles permet de conclure dans ce cas à la non-spécificité de la réaction PAS à l'égard de l'hormone gonadotrope. L'existence de ce matériel et de vacuoles, déjà signalée chez la Carpe (¹¹), suggère plutôt, comme chez l'Anguille (¹²), des images d'une dégénérescence qui affecterait, après la fraie, les cellules gonadotropes de l'hypophyse de ces Poissons dont la reproduction est cyclique. De ce point de vue, de nouvelles observations sont nécessaires.

(*) Séance du 11 janvier 1971.

(1) J. N. BALL et B. J. BAKER, in : Fish Physiology, Hoar et Randall, 2, 1969, p. 1-110.

(2) R. BILLARD, E. BURZAWA-GERARD et B. BRETON, *Comptes rendus*, 271, Série D, 1970, p. 1896.

(3) B. BRETON, G. KANN, E. BURZAWA-GERARD et R. BILLARD, *Comptes rendus*, 272, 1971.

(4) E. BURZAWA-GERARD, 1971 (à paraître).

(5) Y. A. FONTAINE et E. BURZAWA-GERARD, *Comptes rendus*, 256, 1963, p. 5634.

(6) M. P. DUBOIS, *Observ. Pers.* (non publiée).

(7) M. P. DUBOIS et P. MAULÉON, *Comptes rendus*, 269, Série D, 1969, p. 219.

(8) M. ELFTMAN, *St. techn.*, 32, 1957, p. 25.

(9) Y. A. FONTAINE, *Acta Endocrinol.*, suppl. 136, 1969, 154 pages.

(10) M. HERLANT, *Bull. Micr. appl.*, 10, 1960, p. 37.

(11) M. IONESCU-VARO et A. CRISTIAN, *Bull. Ist. Cerc. Pro. Pisc.*, 27, 1968, p. 21.

(12) M. OLIVEREAU, *Z. Zellforsch.*, 80, 1967, p. 287.

Avec la collaboration technique de M^{me} Anne-Marie Escaffre.

Ce travail a bénéficié des conseils et des suggestions de M. Oliveureau.

(I. N. R. A., Station Centrale de Physiologie Animale,
78-Jouy-en-Josas, Yvelines ;
Station de Physiologie de la Reproduction,
37-Nouzilly, Indre-et-Loire.)