HAL
open science

L'hypophyse dévoilée : du couplage stimulation-sécrétion aux réseaux cellulaires câblant la glande

Patrice Mollard

To cite this version:

Patrice Mollard. L'hypophyse dévoilée : du couplage stimulation-sécrétion aux réseaux cellulaires câblant la glande. Biologie Aujourd'hui, 2023. hal-04013916

HAL Id: hal-04013916

https://hal.science/hal-04013916

Submitted on 3 Mar 2023

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.

L'hypophyse dévoilée : du couplage stimulation-sécrétion aux réseaux cellulaires câblant la glande

Patrice Mollard*

Institut de Génomique Fonctionnelle, Université de Montpellier, CNRS, INSERM, 141 rue de la Cardonille, 34094 Montpellier Cedex 5, France.

*Auteur correspondant, patrice.mollard@igf.cnrs.fr

Titre court : Réseaux cellulaires intra-hypophysaires et couplage stimulation-sécrétion

Reçu le 10 octobre 2022

Résumé- L'année 2021 s'est terminée par un événement de grande tristesse : le décès d'Andrée Tixier-Vidal. Elle fut non seulement une pionnière en biologie cellulaire mais également la promotrice charismatique de fédérations collaboratives multidisciplinaires particulièrement stimulantes et fructueuses. Cette note en retrace les succès en terme de découvertes à la fois sur le couplage stimulation-sécrétion des cellules endocrines de l'hypophyse et sur l'organisation de ces cellules hypophysaires en réseaux 3D multicellulaires à l'origine des sécrétions pulsées des hormones hypophysaires qui contrôlent des fonctions de base de l'organisme comme la croissance corporelle et la reproduction.

Mots clés : endocrinologie, réseaux biologiques, imagerie *in situ*

Abstract- The pituitary gland unveiled: from the stimulation-secretion coupling to cellular networks wiring. The year 2021 ended with an event of great sadness: the death of Andrée Tixier-Vidal. She was not only a pioneer in cell biology but also the charismatic promoter of stimulating and successful multidisciplinary collaborations. Her achievements led to subsequent major discoveries on both the stimulation-secretion coupling of pituitary endocrine cells and the hitherto unknown organization of these cells into multicellular 3D networks which build-up highly organized pulses of pituitary hormones controlling basic body functions such as growth and reproduction.

Keywords: endocrinology, biological networks, *in situ* imaging

Introduction

Communication est le terme qui qualifie le plus notre vie de tous les jours. C'est d'autant plus vrai pour le travail de recherche et l'émergence de nouvelles idées, de nouveaux concepts. Mais est-ce que cela a toujours été le cas entre les laboratoires de recherche d'un même pays, et entre pays ? Quand j'ai commencé ma vie de jeune chercheur, la vision de la recherche qu'avaient Mme Tixier-Vidal et d'autres pionniers a été un élément clé de ce que j'allais pouvoir faire en recherche et ce, non pas tout seul dans un laboratoire mais en croisant, combinant, différentes disciplines, expertises et technologies… Cette vision et l'esprit d'ouverture de Mme Tixier-Vidal furent prémonitoires, car les approches multidisciplinaires des grandes questions

biologiques sont maintenant le commun de la vie dans les laboratoires et le prérequis des axes de recherches soutenus par les agences de financement gouvernementales et caritatives.

En 1978, je commençais comme simple étudiant de DEA dans un laboratoire à Poitiers dans lequel la quasi-totalité des chercheurs et des thésards étudiaient le couplage excitation-contraction en utilisant une seule technique électrophysiologique sur des travées de cellules musculaires squelettiques ou cardiaques. Mais ma curiosité de béotien en recherche était bien ailleurs… et portée par les cours d'endocrinologie de mes enseignants d'université. J'allais m'intéresser à un nouveau concept proposé par William Douglas aux Etats Unis suggérant que le contrôle de la sécrétion endocrine de la glande surrénale et d'autres tissus dépendait d'une élévation du calcium intracellulaire (appelé « couplage stimulation-sécrétion ») (Douglas, 1968) et ce, à l'instar du couplage excitation-contraction (Sandow, 1952). Mais à l'époque, je me suis confronté à l'écueil d'ignorer comment étudier avec précision ce couplage sur des cellules de petite taille comme les cellules de Leydig (sécrétant la testostérone) du testicule de rat, qui constituait un verrou technologique à faire « sauter » pour mon travail de thèse (Joffre *et al.*, 1984 a, b). C'est là que l'esprit d'ouverture de Mme Tixier-Vidal m'a montré la voie, en combinant l'expertise de son laboratoire sur des cellules hypophysaires en culture à celle du laboratoire d'électrophysiologie de Jean-Didier Vincent et Bernard Dufy en vue de décrypter des premières signatures de ce couplage stimulation-sécrétion dans des cellules endocrines de l'hypophyse, glande « maîtresse » de notre organisme (Dufy *et al.*, 1979). Cet esprit d'ouverture et de communication dont Mme Tixier-Vidal fut sans conteste une pionnière pour la recherche en endocrinologie/neuroendocrinologie a été le ferment des approches multidisciplinaires, décrites brièvement ci-dessous, qui ont permis d'une part, d'identifier les grandes étapes du couplage stimulation-sécrétion et d'autre part, d'élaborer une vision nouvelle de l'organisation et du fonctionnement intégré de l'hypophyse (pour des revues exhaustives voir : Le Tissier *et al.*, 2017 ; Guérineau *et al.*, 2022).

Les années 1980-2000 : le couplage stimulation-sécrétion décrypté sur cellule endocrine unique

Le début des années 1980 fut marqué par un bond en avant dans les méthodes d'investigation des signaux de communication cellulaire et ce, même pour des cellules de petite taille comme les cellules endocrines. À ce titre il faut souligner les contributions majeures d'Erwin Neher et de Roger Tsien, (qui ont obtenu un prix Nobel respectivement en 1991 et en 2008), concernant respectivement la technique de patch-clamp pour l'étude de l'excitabilité membranaire et des canaux ioniques (Neher *et al.*, 1978) et l'imagerie cellulaire pour le suivi en temps réel de signaux de transduction comme le calcium cytosolique avec des indicateurs fluorescents (Grynkiewicz *et al.*, 1985). La combinaison de ces deux techniques appliquées aux cellules hypophysaires de la lignée GH3/B6 (le modèle cellulaire de « base » du laboratoire de Mme Tixier-Vidal) a ainsi permis de décrire les multiples facettes de la première étape du couplage stimulation-sécrétion avec, à l'origine, une élévation du calcium cytosolique provenant soit d'une entrée de calcium extracellulaire *via* des canaux calciques dépendant du potentiel membranaire et s'ouvrant lors l'excitabilité membranaire (Schlegel *et al.*, 1987), soit de la libération du cation à partir de réserves intracellulaires. Dans ce dernier cas, il en résulte un arrêt d'activité électrique *via* l'activation de canaux potassiques dépendant du calcium intracellulaire (Mollard *et al.*, 1988). L'étude des signaux électrophysiologiques-fluorimétriques combinés a été princeps dans la compréhension des mécanismes de signalisation déclenchés par les neuropeptides hypothalamiques impliqués dans le contrôle de

la sécrétion des hormones de l'hypophyse (prolactine, GH, LH/FSH, ACTH et TSH) (Lledo *et al.*, 1991) et ceux intervenant au niveau d'autres tissus endocrines comme les îlots de Langerhans (Theler *et al.*, 1992).

Là encore, les développements technologiques réalisés par Erwin Neher, et d'autres, ont été décisifs au début des années 1990 pour décrypter la deuxième phase du couplage stimulation-sécrétion, et donc identifier les cascades de signalisation entre l'élévation du calcium intracellulaire et la machinerie d'exocytose des grains de sécrétion hormonale vers le milieu extracellulaire, processus biologique de prédilection des travaux du laboratoire de Mme Tixier-Vidal. Ce fut en effet une variante de la technique de patch-clamp qui a permis de suivre en temps réel, et au niveau cellulaire, des changements de la capacitance membranaire, un index si résolutif qu'il permet de détecter la fusion de 2-3 grains de sécrétion avec la membrane plasmique, et leur ouverture. Ceci, appliqué aux différents types de cellules endocrines, a permis d'identifier précisément la réponse sécrétoire sous forme d'élévations de calcium intracellulaire dues à des entrées de calcium lors d'activité électrique (Augustine & Neher, 1992), de libérations pulsées du cation à partir de réserves intracellulaires (Tse *et al.*, 1993), voire même d'entrées de calcium *via* des récepteurs ionotropiques comme les récepteurs nicotiniques des cellules chromaffines de la glande médullo-surrénale (Mollard *et al.*, 1995).

Les années 2000-2010 : quand l'hypophyse change de dimension

La connaissance mécanistique du couplage stimulation-sécrétion sur cellule isolée était déjà une belle avancée en biologie cellulaire. Mais cette information était-elle suffisante pour comprendre la physiologie, c'est-à-dire comprendre comment chaque population de cellules endocrines de l'hypophyse sécrétait et libérait dans le sang les hormones qui étaient ensuite reçues et décodées par les tissus cibles pour réguler et contrôler de grandes fonctions de l'organisme comme la croissance corporelle, la reproduction ou encore des fonctions vitales de contrôle de développement et de métabolisme d'organes ou même du stress qui rythme et perturbe si souvent nos vies d'occidentaux ?

Cette question était loin d'être résolue au début des années 2000 car la simple comparaison des réponses sécrétoires, d'un facteur x2 à x5 au grand maximum, obtenues *in vitro* sur des cellules en culture, avec celles, de facteurs x100 ou même plus, caractérisant les changements de taux circulants d'hormone observés tant chez l'homme que dans des modèles de mammifères (le cas d'école étant les pulses épisodiques d'hormone de croissance avec des pics x1000 dans le sang) montrait que beaucoup restait encore à explorer pour véritablement comprendre les mécanismes physiologiques de la sécrétion hypophysaire. Ces différences *in vivo versus in vitro* ont donc posé beaucoup de questions aux chercheurs sur leur origine. Là encore le croisement des chemins entre nouvelles idées/concepts et développements de technologies a révélé un degré d'organisation de prime abord inattendu de la glande hypophysaire et de bien d'autres tissus endocrines comme les îlots pancréatiques. Tout d'abord, à la fin des années 90, des travaux sur des tranches fraîches de tissu hypophysaire ont posé les prémices d'une organisation fonctionnelle de l'hypophyse. Mais il a fallu attendre le développement d'outils permettant de visualiser et d'étudier précisément chaque type cellulaire dans le tissu hypophysaire, considéré jusqu'alors comme un patchwork relativement peu organisé de différents types cellulaires irrigués par le système porte-hypophysaire. Un type cellulaire échappait toutefois à cette « règle », il s'agissait des cellules folliculo-stellaires, cellules non endocrines formant un système tentaculaire dans le parenchyme de la glande, qu'a décrit Evelyne Vila-Porcile (1972)

au niveau ultrastructuralS. Dans ce cas, le développement d'un dipeptide fluorescent non toxique et spécifiquement capté par les cellules folliculo-stellaires a permis de visualiser directement dans le tissu hypophysaire vivant un réseau de transmission de signaux cellulaires au sein du système tentaculaire formé par ces cellules (Fauquier *et al.*, 2001). Ces cellules folliculo-stellaires, qu'on appelle depuis ce début de XXIème siècle « cellules souches SOX2-positives », se sont révélées être, au moins pour la majorité d'entre elles, des cellules souches caractérisées par un processus de division cellulaire autonome et capables d'induire à la fois la prolifération de cellules progénitrices et leur différenciation en cellules endocrines spécialisées (pour revue voir Le Tissier *et al.*, 2022).

Mais la plus grande surprise fut la découverte d'une organisation tridimensionnelle en réseaux cellulaires des cellules endocrines de l'hypophyse. Ce fut le résultat d'une conjonction de « circonstances ». Tout d'abord, le gène codant la protéine fluorescente GFP a été pour la première fois utilisée par Roger Tsien et d'autres pionniers (pour revue voir Tsien, 1998) pour visualiser spécifiquement des trafics de protéines dans des cellules de mammifères. Puis l'idée d'utiliser ce gène pour cibler spécifiquement des cellules endocrines hypophysaires en l'exprimant sous le contrôle de promoteurs de gènes d'hormones de cette glande a germé et a été en premier lieu appliquée aux cellules somatotropes. Le codage du peptide signal de la GH en amont de la GFP donnait un outil fantastique pour suivre ce rapporteur de la machinerie d'exocytose depuis l'appareil de Golgi jusqu'au grain fusionnant avec la membrane plasmique et puis, ensuite, la sous forme de GFP sécrétée, détectable dans le milieu extracellulaire. La deuxième « circonstance » a été le développement de la technique d'excitation bi-photonique - absorption de deux photons, par la physicienne Maria Göppert-Mayer en 1929 (prix Nobel en 1963), qui a été appliquée à la microscopie optique à partir des années 90. Cette technique a permis, au début des années 2000, de visualiser des fluorophores sur des dizaines à des centaines de microns en profondeur dans l'hypophyse de souris transgéniques exprimant la GH-GFP dans les cellules somatotropes, sans avoir besoin de couper la glande en fines sections de quelques microns comme cela se faisait au siècle dernier. Quant à la troisième « circonstance », il s'agit du déploiement d'outils de reconstruction de piles d'images en 3D qui commençait à se développer. Au début des années 2000, de longs temps de calcul et des machines volumineuses (jusqu'aux « clusters » d'ordinateurs normalement utilisés pour les prévisions météo et autres !) étaient nécessaires alors que maintenant des petits ordinateurs de bureau sont suffisants et font même bien plus. Enfin, le quatrième « circonstance » résulte du travail de brillants biomathématiciens, comme Uri Alon au Weizmann Institute of Science en Israël (Alon, 2003), qui ont décrypté, à partir de leur modèle simple d'étude (*e.g.* le métabolisme de bactéries), la base et les propriétés fondamentales de réseaux biologiques aussi complexes que des réseaux neuronaux et maintenant des réseaux sociaux… L'utilisation combinée de ces technologies performantes associée à la mise au point de nouveaux modèles et à l'élaboration de concepts novateurs a permis de visualiser et de comprendre comment chaque type de cellules endocrines hypophysaires (GH, prolactine, ACTH, LH) s'organise en réseaux de cellules connectées entre elles et capables de câbler la glande lors du développement pré- et/ou post-natal (Bonnefont *et al.*, 2005; Budry *et al.*, 2011; Hodson *et al.*, 2012). Ces réseaux, qui se mettent en place juste avant la genèse des signaux déclencheurs de la sécrétion d'hormones, s'orchestrent et s'entrelacent entre eux selon un ordre développemental précis, le réseau de cellules corticotropes étant le premier à apparaître lors du développement fœtal (Budry *et al.*, 2011). Ils permettent une réponse coordonnée entre les cellules d'un même réseau sous l'action des neuropeptides hypothalamiques et présentent un dimorphisme sexuel en accord avec leur

réponse sécrétoire (Sanchez-Cardenas *et al.*, 2010). À l'instar des systèmes nerveux et immunitaires, ces réseaux peuvent « apprendre » et « mémoriser » les informations d'une « demande » physiologique à une autre, comme cela fut montré dans des modèles de souris pour le réseau de cellules lactotropes, qui se révèle plus efficace pour sécréter de la prolactine lors d'une seconde période d'allaitement et ce, même si celle-ci n'intervient que plusieurs mois après la première (Hodson *et al.*, 2012). Qui plus est, la présence d'une hétérogénéité cellulaire dans un réseau avec des cellules « chefs d'orchestre », capables de transmettre des informations aux cellules voisines connectées, a été princeps pour l'identification d'une coordination intra-réseau de dynamiques de transcription de gènes, comme celui de la prolactine (Featherstone *et al.*, 2016). Enfin, des cellules β particulières du pancréas, appelées cellules « hub » (Johnston *et al.*, 2016) ou « leader » (Salem *et al.*, 2019), se sont révélées capables d'orchestrer la réponse coordonnée au glucose des cellules β d'ilots pancréatiques et ainsi d'adapter leur sécrétion d'insuline aux besoins de l'organisme. Ces cellules « chefs d'orchestre » étant des cibles de prédilection lors du diabète, les travaux pionniers à l'origine de la découverte des réseaux cellulaires dans l'hypophyse ont eu une portée qui dépasse largement la physiologie et les dysfonctionnements de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Des années 2010 à nos jours : quand les études sur les modèles animaux se rapprochent de la clinique

Après ces découvertes sur le couplage stimulation-sécrétion au niveau cellulaire et les réseaux hypophysaires, comment pouvait-on aller plus loin et apporter des réponses à des questions sociétales qui touchent notamment la santé humaine ? Pour cela, il fallait replacer ces processus physiologiques et leurs possibles implications en pathologie dans un contexte expérimental qui se rapproche au plus près du patient. Ce niveau de résolution est maintenant accessible et révèle, là encore, des informations sur le fonctionnement intégré de l'hypophyse et ses relations avec ses partenaires dans chaque axe endocrine, tant les neurones parvocellulaires hypothalamiques que les tissus cibles. De plus, ces études sont réalisables dans des modèles murins suivis pendant des jours à des mois qui, de ce fait, peuvent être leur propre contrôle et donnent ainsi accès à des études d'inter-individualité, de différences en fonction du sexe, de l'âge… Ce fut notamment le cas de l'étude sur animal éveillé de la pulsatilité de la sécrétion de prolactine rendue possible par le développement de tests ELISA ultra-sensibles pour le dosage de l'hormone dans des prélèvements successifs de quelques microlitres de sang (Guillou *et al.*, 2015). Le contrôle inhibiteur de la prolactine libérée *via* la dopamine sécrétée par des neurones hypothalamiques a pu ainsi être directement décrypté chez l'animal libre de ses mouvements. L'implantation chronique de très fines électrodes de carbone (30 µm à la pointe) a permis de mesurer et comprendre l'organisation bien particulière de la libération de dopamine au niveau des capillaires fenêtrés de l'éminence médiane et ce conjointement avec le suivi des taux circulants de prolactine chez le même animal (Romano *et al.*, 2017).

Enfin il devient maintenant envisageable de réaliser directement des enregistrements multicellulaires des réseaux de cellules endocrines hypophysaires (Hoa *et al.*, 2019) ainsi que ceux des neurones hypothalamiques parvocellulaires (Campos *et al.*, 2020) simultanément avec le suivi des profils hormonaux chez le même animal. Parallèlement, il est possible d'identifier à l'échelle de la cellule/du neurone sa signature « multi-omique » (transcriptomique, épigénétique…) (Zhang *et al.*, 2022) et ensuite de manipuler précisément un à plusieurs gènes d'intérêt (code barre de manipulation) dans ces réseaux cellulaires exposés ou non à un challenge pathologique (Braun *et al.*, 2022). Quand ces manipulations seront associées et

corrélables avec les données de séquençage à grande échelle de patients porteurs d'une pathologie (Kus *et al.*, 2020), le niveau de « communication » pourra alors s'établir entre les résultats obtenus dans le laboratoire de recherche et ceux issus du patient suivi à l'hôpital. On pourra ainsi escompter que ce type d'approche translationnelle, basée sur une synergie d'expertises multidisciplinaires (à l'instar de celles initiées par Mme Tixier-Vidal), sera porteur d'espoir pour des suivis et des traitements personnalisés de patients souffrant de maladies endocriniennes.

Remerciements - L'auteur remercie les membres de son laboratoire et de la plateforme IPAM-BCM-FBI, ainsi que toutes celles / tous ceux qui ont contribué aux travaux présentés dans l'article. Les recherches de son laboratoire sont actuellement financées par l'université de Montpellier, le CNRS, l'INSERM et l'Agence Nationale de la Recherche (France-BioImaging ANR-10-INBS-04, ANR-18-CE14-0017, ANR-22-CE14-0001-01).

Références

Augustine, G.J., Neher, E. (1992). Calcium requirements for secretion in bovine chromaffin cells. *J Physiol.*, 450, 247-271.

Alon, U. (2003). Biological networks: the tinkerer as an engineer. *Science*, 301, 1866-1867.

Bonnefont, X., Lacampagne, A., Sanchez-Hormigo, A., Fino, E., Creff, A., Mathieu, M.N., Smallwood, S., Carmignac, D., Fontanaud, P., Travo, P., Alonso, G., Courtois-Coutry, N., Pincus, S.M., Robinson, I.C., Mollard, P. (2005). Revealing the large-scale network organization of growth hormone-secreting cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102, 16880-16885.

Braun, C.J., Adames, A.C., Saur, D., Rad, R. (2022). Tutorial: design and execution of CRISPR in vivo screens. *Nat Protoc*, 17, 1903-1925.

Budry, L., Lafont, C., El Yandouzi, T., Chauvet, N., Conejero, G., Drouin, J., Mollard, P. (2011). Related pituitary cell lineages develop into interdigitated 3D cell networks. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108, 12515-12520.

Campos, P., Walker, J.J., Mollard, P. (2020). Diving into the brain: deep-brain imaging techniques in conscious animals. *J Endocrinol*, 246, R33-R50.

Douglas, W.W. (1968). Stimulus-secretion coupling: the concept and clues from chromaffin and other cells. *Br J Pharmacol*, 34, 451-474.

Dufy, B., Vincent, J.D., Fleury, H., Du Pasquier, P., Gourdji, D., Tixier-Vidal, A. (1979). Membrane effects of thyrotropin-releasing hormone and estrogen shown by intracellular recording from pituitary cells. *Science*, 204, 509-511.

Fauquier, T., Guérineau, N.C., McKinney, R.A., Bauer, K., Mollard, P. (2001). Folliculostellate cell network: a route for long-distance communication in the anterior pituitary. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98, 8891-8896.

Featherstone, K., Hey, K., Momiji, H., McNamara, A.V., Patist, A.L., Woodburn, J., Spiller, D.G., Christian, H.C., McNeilly, A.S., Mullins, J.J., Finkenstädt, B.F., Rand, D.A., White, M.R., Davis, J.R. (2016). Spatially coordinated dynamic gene transcription in living pituitary tissue. *Elife* 5, e08494.

Grynkiewicz, G., Poenie, M., Tsien, R.Y. (1985). A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.*, 260, 3440-3450

Guérineau, N.C., Campos, P., Le Tissier, P.R., Hodson, D.J., Mollard, P. (2022). Cell networks in endocrine/neuroendocrine gland function. *Compr Physiol*, 12, 3371-3415.

Guillou, A., Romano, N., Steyn, F., Abitbol, K., Le Tissier, P., Bonnefont, X., Chen, C., Mollard, P., Martin, A.O. (2015). Assessment of lactotroph axis functionality in mice:

longitudinal monitoring of PRL secretion by ultrasensitive-ELISA. *Endocrinology,* 156, 1924-1930.

Hoa, O., Lafont, C., Fontanaud, P., Guillou, A., Kemkem, Y., Kineman, R.D., Luque, R.M., Fiordelisio Coll, T., Le Tissier, P., Mollard, P. (2019). Imaging and manipulating pituitary function in the awake mouse. *Endocrinology,* 160, 2271-2281.

Hodson, D.J., Schaeffer, M., Romano, N., Fontanaud, P., Lafont, C., Birkenstock, J., Molino, F., Christian, H., Lockey, J., Carmignac, D., Fernandez-Fuente, M., Le Tissier, P., Mollard, P. (2012). Existence of long-lasting experience-dependent plasticity in endocrine cell networks. *Nat Commun,* 3, 605.

Joffre, M., Mollard, P., Régondaud, P., Alix, J., Poindessault, J.P., Malassiné, A., Gargouil, Y.M. (1984a). Electrophysiological study of single Leydig cells freshly isolated from rat testis. I. Technical approach and recordings of the membrane potential in standard solution. *Pflugers Arch,* 401, 239-245.

Joffre, M., Mollard, P., Régondaud, P., Gargouil, Y.M. (1984b). Electrophysiological study of single Leydig cells freshly isolated from rat testis. II. Effects of ionic replacements, inhibitors and human chorionic gonadotropin on a calcium activated potassium permeability. *Pflugers Arch,* 401, 246-253.

Johnston, N.R., Mitchell, R.K., Haythorne, E., Pessoa, M.P., Semplici, F., Ferrer, J., Piemonti, L., Marchetti, P., Bugliani, M., Bosco, D., Berishvili, E., Duncanson, P., Watkinson, M., Broichhagen, J., Trauner, D., Rutter, G.A., Hodson, D.J. (2016). Beta cell hubs dictate pancreatic islet responses to glucose. *Cell Metab* 24, 389-401.

Kus, A., Chaker, L., Teumer, A., Peeters, R.P., Medici, M. (2020). The genetic basis of thyroid function: novel findings and new approaches. *J Clin Endocrinol Metab,* 105, 1707–1721.

Le Tissier, P., Campos, P., Lafont, C., Romano, N., Hodson, D.J., Mollard, P. (2017). An updated view of hypothalamic-vascular-pituitary unit function and plasticity. *Nat Rev Endocrinol,* 13, 257-267.

Le Tissier, P.R., Murray, J.F., Mollard, P. (2022). A new perspective on regulation of pituitary plasticity: the network of SOX2-positive cells may coordinate responses to challenge. *Endocrinology,* 163(8):bqac089. doi: 10.1210/endocr/bqac089.

Lledo, P.M., Guérineau, N., Mollard, P., Vincent, J.D., Israel, J.M. (1991). Physiological characterization of two functional states in subpopulations of prolactin cells from lactating rats. *J Physiol,* 437, 477-494.

Mollard, P., Vacher, P., Dufy, B., Winiger, B.P., Schlegel, W. (1988). Thyrotropin-releasing hormone-induced rise in cytosolic calcium and activation of outward K^+ current monitored simultaneously in individual GH3B6 pituitary cells. *J Biol Chem,* 263, 19570-19576.

Mollard, P., Seward, E.P., Nowycky, M.C. (1995). Activation of nicotinic receptors triggers exocytosis from bovine chromaffin cells in the absence of membrane depolarization. *Proc Natl Acad Sci USA,* 92, 3065-3069.

Neher, E., Sakmann B., Steinbach, J.H. (1978).The extracellular patch clamp: a method for resolving currents through individual open channels in biological membranes. *Pflugers Arch.,* 375, 219-228.

Romano, N., Guillou, A., Hodson, D.J., Martin, A.O., Mollard, P. (2017). Multiple-scale neuroendocrine signals connect brain and pituitary hormone rhythms. *Proc Natl Acad Sci USA,* 114, 2379-2382.

Salem, V., Silva, L.D., Suba, K., Georgiadou, E., Neda Mousavy Gharavy, S., Akhtar, N., Martin-Alonso, A., Gaboriau, D.C.A., Rothery, S.M., Stylianides, T., Carrat, G., Pullen, T.J., Singh, S.P., Hodson, D.J., Leclerc, I., Shapiro, A.M.J., Marchetti, P., Briant, L.J.B., Distaso, W., Ninov, N., Rutter. G.A. (2019). Leader beta-cells coordinate Ca^{2+} dynamics across pancreatic islets in vivo. *Nat Metab,* 1, 615-629.

Sanchez-Cardenas, C., Fontanaud, P., He, Z., Lafont, C., Meunier, A.C., Schaeffer, M., Carmignac, D., Molino, F., Coutry, N., Bonnefont, X., Gouty-Colomer, L.A., Gavois, E., Hodson, D.J., Le Tissier, P., Robinson, I.C., Mollard. P. (2010). Pituitary growth hormone network responses are sexually dimorphic and regulated by gonadal steroids in adulthood. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107, 21878-21883.

Sandow, A. (1952). Excitation-contraction coupling in muscular response. *Yale J Biol Med*, 25, 176-201.

Schlegel, W., Winiger, B.P., Mollard, P., Vacher, P., Wuarin, F., Zahnd, G.R., Wollheim, C.B., Dufy, B. (1987). Oscillations of cytosolic Ca^{2+} in pituitary cells due to action potentials. *Nature*, 329, 719-721.

Theler, J.M., Mollard, P., Guérineau, N., Vacher, P., Pralong, W.F., Schlegel, W., Wollheim, C.B. (1992). Video imaging of cytosolic Ca^{2+} in pancreatic beta-cells stimulated by glucose, carbachol, and ATP. *J Biol Chem*, 267, 18110-18117.

Tse, A., Tse, F.W., Almers, W., Hille, B. (1993). Rhythmic exocytosis stimulated by GnRH-induced calcium oscillations in rat gonadotropes. *Science*, 260, 82-84.

Tsien, R.Y. (1998) The green fluorescent protein. *Annu Rev Biochem*, 67, 509-544.

Vila-Porcile, E. (1972). [The network of the folliculo-stellate cells and the follicles of the adenohypophysis in the rat (pars distalis)]. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 129, 328-369.

Zhang, Z., Zamojski, M., Smith, G.R., Willis, T.L., Yianni, V., Mendelev, N., Pincas, H., Seenarine, N., Amper, M.A.S., Vasoya, M., Cheng, W.S., Zaslavsky, E., Nair, V.D., Turgeon, J.L., Bernard, D.J., Troyanskaya, O.G., Andoniadou, C.L., Sealfon, S.C., Ruf-Zamojski, F. (2022). Single nucleus transcriptome and chromatin accessibility of postmortem human pituitaries reveal diverse stem cell regulatory mechanisms. *Cell Rep*, 38, 110467.