

## MISE EN EVIDENCE ET DISTRIBUTION DE LA CAVEOLINE-1 DANS LE SYSTEME HYPOTHALAMO-NEUROHYPOPHYSAIRE DE RATS WISTAR EUHYDRATE ET DESHYDRATE

Reçu le 25/10/2010 – Accepté le 15/05/2011

### Résumé

Notre travail consiste à étudier, par une approche immunohistologique, la distribution des cavéolines dans le SHN de rats normaux et d'en établir les rôles possibles en les étudiant suite à un stimulus hydrique en l'occurrence une privation d'eau de 6 jours. Les résultats montrent que la cavéoline-1 est exprimée dans la neurohypophyse, le NSO et le NPV. Elle est retrouvée dans les neurones magnocellulaires, dans les astrocytes, les pituicytes et dans les terminaisons nerveuses et dilatations subterminales. La cavéoline-1 est aussi retrouvée à ces niveaux chez le rat déshydraté mais sa distribution cellulaire est modifiée et son expression semble diminuée dans le NSO et le NPV. Les résultats que nous avons obtenus nous avons permis d'émettre diverses hypothèses; que cette protéine pourrait jouer au niveau de l'axe hypothalamo-neurohypophysaire, un rôle dans la modulation de la signalisation, l'endocytose et probablement dans la plasticité morphologique de ce système.

**Mots clés:** *Caveoline-1, Système hypothalamo-neurohypophysaire, Immunohistochimie.*

### Abstract

Our job is to study, by immunohistological approach, the distribution of caveolins in the NHS in normal rats and to establish possible roles in the response to a stimulus in this case a 6 days water deprivation. The results show that caveolin-1 is expressed in the neurohypophysis, the supraoptic (SON) and paraventricular (PVN) nuclei. It is found in the magnocellular neurons, in astrocytes, in pituicytes and in nerve endings and subterminal swellings. Caveolin-1 is also found at these levels in dehydrated rats but its cellular distribution is altered and its expression appears reduced in the SON and PVN. The results we obtained allowed issuing various assumptions, that this protein may play in the hypothalamic-neurohypophysial a role in modulating signalling, endocytosis and probably in the morphological plasticity of this system.

**Keywords:** *Caveolin-1, hypothalamic-neurohypophysial system, Immunohistochemistry.*

S. LOUNIS  
L. DORBANI-MAMINE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Neurochimie/Laboratoire de Biologie et Physiologie des Organismes, FSB/USTHB, Alger, Algérie

### ملخص

يُمكن هذا العمل في دراسة توزيع caveolins في جهاز المهاد النخامي العصبي للفئران العادية، وذلك بمقاربة مناعية نسيجية، وإقامة الأدوار المحتملة نتيجة تنبيه مائي، في هذه الحالة حرمان مائي لمدة ستة أيام. تبرز النتائج أن Caveolin-1 يظهر في النخام العصبي و NSO و NPV. كما وجدت في الخلايا العصبية الكبيرة و الخلايا النجمية و في النهايات العصبية و تظهر أيضا عند الفئران المحرومة من الماء و لكن توزيعها الخلوي متغير و تنقص في NSO و NPV. كما سمحت لنا هذه النتائج بافتراض نظريات: هذا البروتين قد يلعب دورا على مستوى محور المهاد النخامي العصبي و ذلك بتعديل الإشارة و الالتقام الخلوي و حتى الليونة المرفولوجية لذات الجهاز.

**الكلمات المفتاحية:** *Caveolin-1، جهاز المهاد النخامي العصبي، مناعية نسيجية*

Le système hypothalamo-neurohypophysaire (SHN) est morphologiquement bien défini. Il est composé de larges neurones, localisés essentiellement dans les noyaux supraoptiques (NSO) et paraventriculaires (NPV). Les axones de ces neurones traversent l'éminence médiane (EM) pour se terminer dans la neurohypophyse (NH) où ils sécrètent principalement, la vasopressine (VP) et l'ocytocine (OT). Ces deux neurohormones interviennent, au niveau périphérique, dans la régulation de la balance hydrique, la lactation et la parturition. Ce système fonctionne par des changements morphologiques réversibles, représentés par des interactions dynamiques et complexes entre les propriétés intrinsèques des NMCs, des interactions des NMCs, les uns avec les autres, les uns avec les cellules gliales (astrocytes et pituicytes), et enfin l'influence des afférences synaptiques extrinsèques (1). Tous ces remaniements cellulaires, qui modifient l'excitabilité des NMCs et la sécrétion neurohypophysaire, sont intimement liés aux réorganisations structurales synchronisées d'éléments de la matrice extracellulaire, de la membrane et du cytosquelette, notamment des filaments d'actine localisés dans la région sous-membranaire du soma, des dendrites et de l'axone des NMCs, ainsi que des cellules gliales (2,3). Le lien entre la membrane et les microfilaments s'établit par le biais des composants du cytosquelette subcotical, la spectrine dans le globule rouge, la fodrine dans les cellules neuroendocrines et nerveuses du SNC et les dystrophines et les utrophines dans le muscle.

La dystrophine, protéine issue du gène de la Dystrophie Musculaire de Duchenne (DMD), a été largement étudiée dans la cellule musculaire squelettique. Elle relie les espaces extracellulaire et intracellulaire. D'un côté, elle s'accroche aux filaments d'actine et de l'autre, à la membrane grâce à un complexe de protéines transmembranaires: les Dystrophin-Associated-Proteins (DAPs) (4). Les DAPs sont représentées au niveau du muscle par le complexe des dystroglycans ( $\alpha$  et  $\beta$ ), les syntrophines, les sarcoglycans, les dystrobrevines, la rapsyne etc.... Par ailleurs, d'autres protéines sont considérées aussi comme DAPs, notamment la famille des caveolines, représentée par la caveoline-3, la seule forme de caveolines qui existe dans le muscle squelettique. En effet, la Caveoline-3 et la dystrophine interagissent avec le même motif PPXY du  $\beta$ -dystroglycane, ce qui suppose une liaison compétitive entre la Cav-3 et la dystrophine (Pour revue: (5). Au niveau des cellules du muscle, la position du complexe de dystrophines-DAPs et d'Utrophine-DAPs leur permet d'intervenir dans la stabilité de la membrane dans les cycles de contraction/décontraction, dans les phénomènes de signalisation et dans les phénomènes de plasticité. Dans d'autres tissus tels que le cerveau, les dystrophines sont aussi présentes (6). Dans la SHN, pour la première fois, les dystrophines, utrophines et certaines DAPs ont non seulement été mises en évidence mais aussi montrées avec des variations de distribution et d'expression dans des conditions de stress hydrique (7). Ainsi, il leur a été suggéré l'implication dans le stockage des granules vasopressinergiques, dans la plasticité cellulaire et dans les

processus de transduction et de plasticité cellulaire neuronique et gliale.

Dans le contexte de l'étude des rôles des dystrophines et des DAPs, on s'intéresse aux caveolines. En effet, la sécrétion des neuropeptides se fait par exocytose, déclenchée principalement, par la dépolarisation des terminaisons nerveuses des neurones magnocellulaires (NMCs). Cette exocytose est suivie d'une endocytose compensatoire, permettant le maintien de la taille de la surface de la membrane. Le mécanisme moléculaire de cette endocytose n'est pas encore connu. Cependant, il semble être indépendant de la clathrine puisqu'aucune structure recouverte de clathrine n'a été mise en évidence dans les NMCs (8). Par conséquent, d'autres voies d'endocytose, indépendantes de la clathrine, sont impliquées dans ce retour vésiculaire. Parmi ces voies, on suppose celle des caveolae. En effet, les caveolae sont des invaginations membranaires présentant la caveoline comme protéine de structure. Ils sont impliqués dans la transcytose des molécules dans la cellule endothéliale et dans l'endocytose de certaines toxines bactériennes (Pour revue: (5)). La caveoline est la protéine essentielle pour le maintien et la formation des caveolae. Ces dernières sont des invaginations membranaires qui interviennent dans la transcytose, l'endocytose et la potocytose (9). La caveoline intervient aussi dans l'homéostasie cellulaire du cholestérol et dans la modulation du signal. En effet, la caveoline fonctionne comme protéine d'échafaudage pour l'organisation et la concentration des molécules de signalisations dans les caveolae (10-11). De part le rôle important que joue la caveoline dans la cellule et vue sa relation structurale et probablement fonctionnelle avec les dystrophines et les  $\beta$ -dystroglycans qui jouent un rôle important dans le SHN, il serait probable qu'elle puisse être associée aux phénomènes de sécrétion des granules à "core" dense vasopressinergiques, notamment dans le retour vésiculaire mais aussi dans la plasticité, en relation avec les phénomènes de transduction de signaux lors de stimulations afférentes.

Notre présent travail porte sur la mise en évidence de la caveoline dans les différentes structures du SHN et d'étudier sa distribution dans des conditions de stress hydrique par privation d'eau du rat Wistar pour une durée de 6 jours.

## METHODOLOGIE DE TRAVAIL

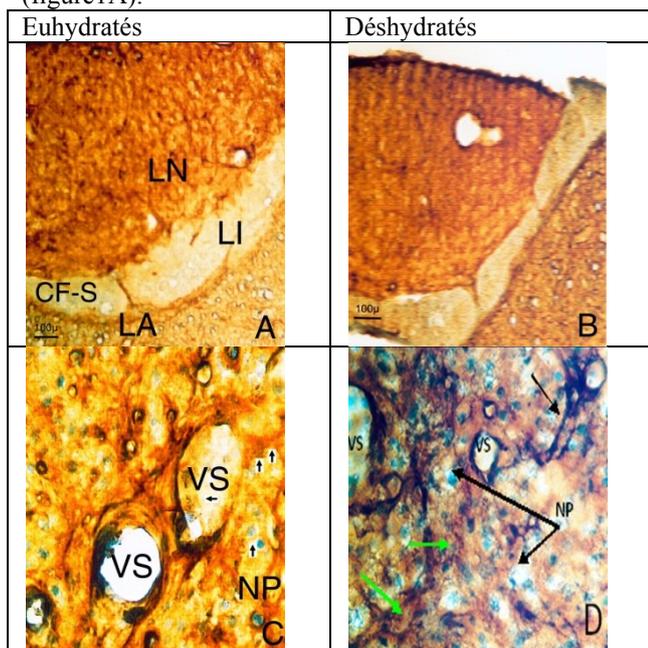
Notre expérimentation s'est basée sur une approche immunohistochimique sur coupes de tissu fixé: Des rats euhydratés et déshydratés sont anesthésiés par injection intrapéritoneale, d'une solution d'uréthane à 30%, à raison de 1ml/100g de poids corporel puis perfusés par une solution de paraformaldéhyde (PF) à 4%/ glutaldéhyde à 0,2%. La perfusion est intracardiaque et semi-circulante, par clampage de l'aorte descendante. Après décapitation, le cerveau et l'hypophyse sont délicatement prélevés et post-fixés par immersion, dans le liquide fixateur pendant 4 heures, à +4°C. Les blocs sont par la suite, conservés à

+4°C pendant 24 heures dans du tampon phosphate 0,1 M contenant du thymérosal (antifongique) à 0.1%. Les hypophyses et les régions qui nous intéressent, sont coupés au vibratome à une épaisseur de 50 µm. Pour une conservation à long terme, les coupes sont placées dans des tubes hermétiques contenant une solution d'anti-congélation et mis à -20°C. Les coupes au vibratome sont perméabilisées par du triton X-100 à 0,5 % dans le PBS. Le blocage des liaisons non spécifiques se fait par du sérum de cheval à 5% dans le PBS. Les coupes sont incubées pendant 15h dans un anticorps primaire anti-Cav-1 polyclonal, dilué au 1/100 (BD Biosciences, C13630) dans du PBS. La révélation de la liaison antigène/anticorps se fait par la mise en évidence de l'activité peroxydase associée à l'anticorps secondaire. Le marquage est représenté par un dépôt brun. L'observation des coupes et la prise des photos sont réalisées au service de microscopie électronique (FSB-USTHB) grâce à une photo microscope ZEISS.

**RESULTATS : 1-Mise en évidence et distribution par immunohistochimie de la caveoline**

**a/ Dans la neurohypophyse**

On remarque tout d'abord que chez le rat euhydraté, seul le lobe nerveux réagit positivement à l'anticorps anti-cav-1 (figure 1A).



**Figure 1 :** Localisation et distribution par immunoperoxydase de la Cav-1 dans l'hypophyse de rats euhydraté et déshydraté 6 jours. CF-S: cellule folliculo-stellaire; VS: vaisseau sanguin; P: pituicyte; NP: noyaux des pituicytes; LA: lobe antérieur; LI: lobe intermédiaire; LP: lobe postérieur. Grossissement A et D: Gx104, B et E: Gx416, C et F: Gx1041

**A :** Marquage de la neurohypophyse et des cellules folliculo-stellaires; **B :** Persistance du marquage de la neurohypophyse et des cellules folliculo-stellaires; **C :** Marquage vasculaire (flèches noires) et péri vasculaire (flèches blanches) marquage en trait fin allant vers la zone péri vasculaire et qui pourrait être celui des terminaisons nerveuses des NMCs ; **D :** le marquage péri vasculaire semble diminuer ; augmentation du nombre de pituicytes ; Regroupement du marquage (flèches vertes).

En effet l'antéhypophyse est discrètement marquée par la cav-1 et aucun marquage n'est retrouvé dans le lobe

intermédiaire à l'exception des cellules folliculo-stellaire. Ces cellules appartiennent au lobe intermédiaire et ont des propriétés de cellules gliales.

Au niveau de la neurohypophyse, le marquage est plus prononcé au niveau des vaisseaux sanguins (figure 1C) qui sont d'une grande importance dans ce lobe. On observe aussi un marquage péri vasculaire qui est plus important, localisé dans des régions qui correspondraient aux zones de contact entre les expansions de pituicytes et la lame basale. Le marquage des pituicytes apparaît moins important que celui de ces zones de contact, indiquant une localisation préférentielle de la cav-1 dans les expansions des pituicytes.

Par ailleurs, nous remarquons un marquage sous forme de projections allant vers la zone péri vasculaire et qui pourrait être celui des terminaisons nerveuses des NMCs (figure 1C).

Après 6 jours de déshydratation, à faible grossissement, on constate que l'expression de la cav-1 augmente légèrement dans la NH. Ce lobe reste toujours le plus marqué des deux autres lobes (figures 1A et 1B). Au fort grossissement, il apparaît que le marquage péri vasculaire diminue (figure 1D).

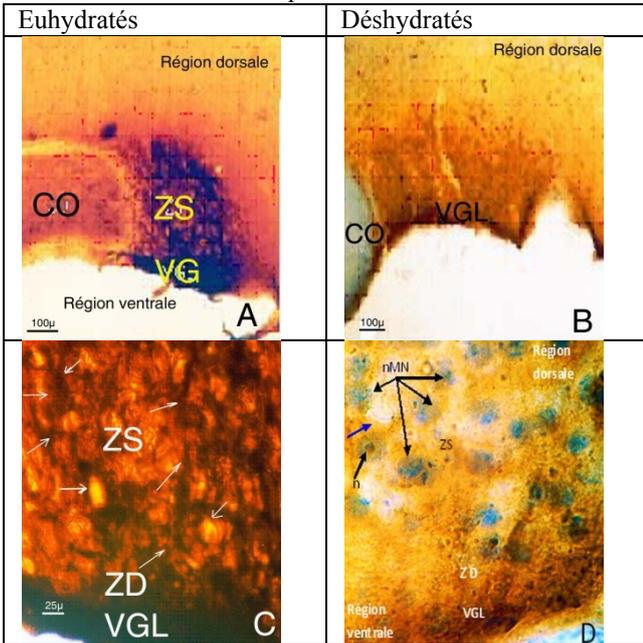
Par ailleurs, par contre-coloration, on remarque que les noyaux des pituicytes apparaissent un peu plus nombreux, bien visibles et regroupés (fig. 1 D). On remarque aussi on dehors des zones péri vasculaires, un regroupement du marquage qui pourrait être glial ou synaptique.

**b/ Dans le Noyau Supra Optique (NSO)**

Les résultats obtenus montrent que chez le rat témoin, les NSO sont immunopositifs à l'anticorps anti-cav-1 (fig. 2A). La figure 2C montre que les corps cellulaires des NMCs, regroupés latéralement au chiasma optique dans la zone somatique, sont immuno-positifs. Les dendrites des ces NMCs qui se projettent ventralement, semblent aussi marqués. Par ailleurs, un marquage très important est retrouvé au niveau de la région la plus ventrale où se trouvent les astrocytes et leurs prolongements membranaires constituant la limitante gliale ventrale (VGL). Les prolongements astrocytaires vers la région dorsale, s'insinuant entre les dendrites et les corps cellulaires des NMCs semblent aussi très marqués. On note un marquage vasculaire et péri vasculaire en continuité avec le marquage des plongements astrocytaires. Ce marquage correspondrait probablement aux pieds des astrocytes.

Chez le rat déshydraté (fig. 2B et D), le marquage semble diminuer aussi bien au niveau des NMCs qu'au niveau de la VGL. Les corps cellulaires des NMCs sont apposés et de ce fait, leurs limites cellulaires sont très difficiles à observer, donnant un aspect de syncytium.

On note aussi au niveau de leur noyau, un nucléole développé signe d'hyperactivité. Par ailleurs, le marquage vasculaire est moins net que chez le rat témoin.



**Figure 2 :** Localisation par immunopéroxydase de la Cav-1 dans le noyau supraoptique de rats euhydraté et déshydraté. **Co:** chiasma optique, **n:** nucléole, **nMN:** noyau des neurones magnocellulaires, **VGL:** limitante gliale ventrale, **ZD:** zone dendritique, **ZS:** zone somatique.

**A :** Immunomarquage positif du NSO ; **B :** Diminution du marquage de la Cav-1 dans le NSO ; **C :** Immunomarquage positif dans la zone somatique (ZS), dendritique (ZD) et de la limitante gliale ventrale (VGL). Marquage des prolongements astrocytaires (flèches bleues) ; **D :** Diminution du marquage dans la zone somatique (ZS), dendritique (ZD) et de la limitante gliale ventrale (VGL). Diminution du marquage des prolongements astrocytaires

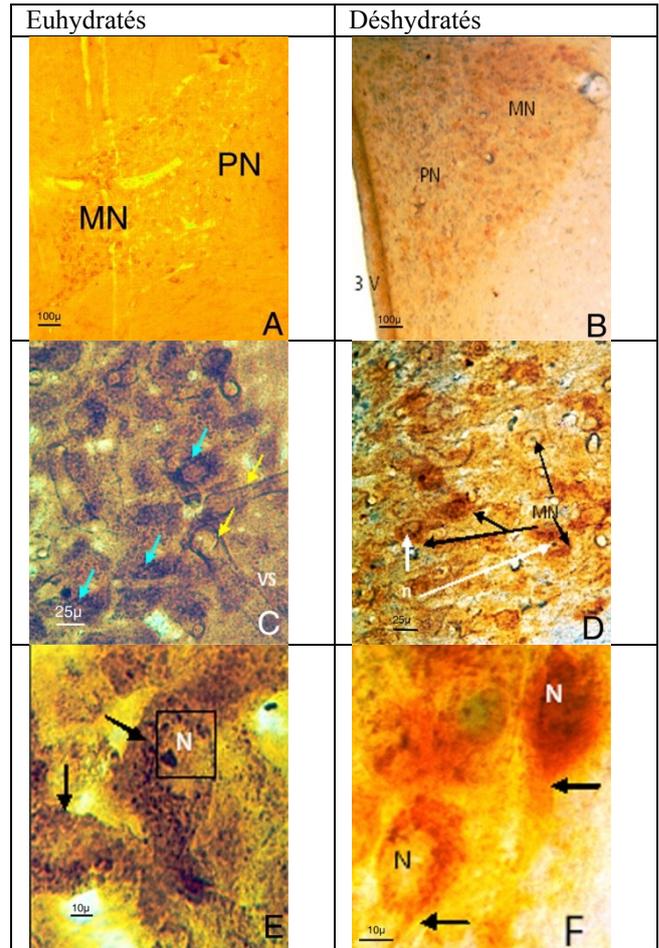
### c/ Dans le Noyau Paraventriculaire (NPV)

Au faible grossissement, chez le rat euhydraté, le NPV présente un marquage dans la zone des NMCs et moins dans celle des parvoneurones (fig. 3A). Au fort grossissement (fig. 3C), dans la zone des NMCs, le marquage apparaît très évident au niveau des corps cellulaires des NMCs et des vaisseaux mais moins important dans les astrocytes qui s'insinuent entre les NMCs. Le marquage dans ces derniers, est péri nucléaire et cytosolique (fig. 3E).

Le marquage vasculaire n'est pas uniforme. Il apparaît plus important dans certaines zones et moins dans d'autres zones du vaisseau (fig 3C).

Chez le rat déshydraté, le NPV semble moins marqué. Le marquage est toujours situé dans la zone des NMCs (fig. 3D). La caveoline-1 au niveau des NMCs, est cytosolique mais surtout péri nucléaire (fig. 3F).

La grande activité des NMCs est remarquée par leur regroupement, une importante densité du trajet de l'axone et par un nucléole très développé. Le marquage vasculaire est moins important (fig. 3F).



**Figure 3 :** Localisation par immunopéroxydase de la Cav-1 dans le noyau para-ventriculaire de rats euhydraté et déshydraté 6 jours.

**MN:** neurones magnocellulaires, **nMN:** noyau des neurones magnocellulaires, **n:** nucléole, **PN:** Parvoneurones, **VS:** vaisseau sanguin, **3V:** troisième ventricule.

**A, B :** Immunomarquage du NPV dans la zone des NMCs ; **C :** Immunomarquage vasculaire (flèche jaune) et au niveau des corps cellulaires des NMCs (flèche bleue); **D :** Diminution du marquage dans le NPV ; **E :** L'immunomarquage des NMCs est cytosolique, péri nucléaire et au début du trajet des axones et nucléole développé ; **F :** Diminution du marquage vasculaire et neuronal.

## DISCUSSION

L'expression de la caveoline-1 chez le rat euhydraté et le changement de sa distribution chez le rat déshydraté dans le SHN plaide en faveur de son implication dans divers processus allant de l'organisation structurale et fonctionnelle des éléments du cytosquelette vers les mécanismes mis en jeu pour le rétablissement de l'équilibre hydrominéral.

### 1/ Dans la neurohypophyse

Par immunomarquage des coupes d'hypophyse de rat euhydraté nous avons montré que la cav-1 est essentiellement présente dans la neurohypophyse surtout dans l'espace péri vasculaire, les pituicytes et dans les TN et dilatations subterminales des NMCs.

La présence de la cav-1 dans les pituicytes, qui sont des cellules gliales de types astrocytes modifiés, est en accord avec les résultats rapportés dans la littérature. En effet, cette protéine a été mise en évidence dans les astrocytes du SNC, dans les oligodendrocytes (12) et dans les cellules de Schwann (13). Nous avons montré que la présence de la cav-1 dans les pituicytes serait essentiellement dans les prolongements pituicytaires, principalement entourant les capillaires sanguins qui en situation hydrique normale, font barrière aux terminaisons subterminales empêchant la sécrétion hormonale. Cette observation est en accord avec les résultats d'autres auteurs. En effet, le double marquage de cav-1 et de la GFAP a révélé que seuls les prolongements astrocytaires proches des micro vaisseaux sont immunopositifs à la cav-1 (14).

Par ailleurs, les résultats, obtenus par immunohistochimie, montrent un marquage des cellules endothéliales. Ce marquage nous semble très évident puisque la présence de la cav-1 dans ces cellules a été largement rapportée. La cav-1 dans les cellules endothéliales serait l'acteur principal dans la vasculogénèse (15-16).

Dans les conditions de stress hydrique, nous avons observé une diminution du marquage péri vasculaire et un regroupement du marquage dans les zones autres que péri vasculaires. Ces résultats renforcent la suggestion de la présence de la caveoline-1 au niveau de la membrane des pituicytes. De par les différents rôles des cellules gliales nous suggérons différentes significations à la présence des cavéolines dans les pituicytes.

Un rôle dans la plasticité cellulaire gliale. En effet, suite à un stress hydrique, les prolongements pituicytaires se rétractent pour libérer l'accès aux terminaisons nerveuses des NMCs à l'espace péri vasculaire (Pour revue: (17)). Ainsi, la distribution de la cav-1 va dans le même sens que le mouvement des pituicytes lors de la rétraction. Le faible marquage péri vasculaire persistant pourrait être celui de l'endothélium ou des terminaisons et/ou des dilatations subterminales. L'importante expression de la cav-1 dans le lobe nerveux, chez le rat normal et le changement de sa distribution qui suit les mouvements des pituicytes, chez le rat déshydraté, nous laisse supposer sa contribution dans la plasticité de ce lobe nerveux. En effet, des chercheurs ont constaté que la cav-1 peut interagir avec les molécules d'adhésion (16).

Les molécules d'adhésion, telle que la protéine F3, à l'instar d'autres tissus, au niveau du lobe nerveux, pourrait être l'une des principaux acteurs dans les processus de plasticité cellulaire (Pour revue (18)). En effet, des études ont indiqué que la protéine F3 et la NCAM120 forment la majorité des protéines d'adhésion exprimées dans le tissu nerveux. Certaines de ces protéines sont localisées dans des domaines résistants au détergeant appelés radeaux lipidiques, domaines préférentiels de localisation des cavéolines. Par ailleurs, ces domaines enrichis en gangliosides pourraient aussi contribuer directement au mécanisme d'adhésion des cellules (Pour revue: (19)).

Par ailleurs, Les processus de la rétraction des pituicytes est induite par les agonistes aux  $\beta$ -adrénergiques et essentiellement les  $\beta$ 2-adrénocepteurs (20). La cav-1, dans ces cellules, contribue à la formation des caveolae où ces récepteurs pourraient présenter une meilleure activité signalétique. En effet, dans d'autres cellules les  $\beta$ 2-adrénocepteurs sont localisés au repos dans les caveolae où plusieurs molécules de signalisation sont regroupées pour une réponse optimale à un signal extracellulaire. En se liant à leurs ligands, ces récepteurs quittent les caveolae après une activité signalétique efficace (21).

Un autre rôle est supposé pour la cavéoline-1 au niveau des pituicytes est celui de son implication dans la prolifération cellulaire induite par un stress hydrique. Chez le rat déshydraté de 6 jours, par contre coloration, on a remarqué que les pituicytes apparaissent légèrement plus nombreux par rapport aux témoins. Cette augmentation reste cependant faible par rapport à celle de 35%, rapportée chez l'animal déshydraté pendant 9 jours (22). Cette augmentation pourrait être due à un effet prolifératif induit par les IL-6 qui augmentent dans le SHN après déshydratation (1).

Par ailleurs, des auteurs indiquent que la caveoline s'exprime et co-localise avec les récepteurs de l'IL-6 dans les cellules du myélome. Dans ces cellules la caveoline phosphorylée, sous l'effet de IL-6, joue un rôle anti-mitogénique et anti apoptotique (23). De plus, la cav-1 peut être aussi phosphorylée en réponse à un stress osmotique (24).

Un rôle de la cavéoline-1 au niveau des pituicytes pourrait être celui de molécule intervenant dans le processus de capture, rôle essentiel des cellules gliales (25). Des travaux entrepris dans le cerveau ont montré que les cellules astrocytaires corticales capturent les neurotransmetteurs par un processus d'endocytose indépendant de la clathrine mais probablement dépendant de la cavéoline (26).

Au niveau des structures qui semblent être les terminaisons et les dilatations subterminales, la cav-1 est présente. De plus, suite à la déshydratation, l'augmentation de l'expression de la cav-1 au niveau du lobe nerveux serait en faveur de son implication dans les phénomènes post sécrétoires. En effet, la sécrétion des neurohormones se fait par exocytose.

Le retour vésiculaire nécessaire au renouvellement de la membrane synaptique et au recyclage des composants capturés se fait par endocytose. Aucune expression de la molécule de clathrine, reconnue pour être la principale intervenante dans le phénomène d'endocytose n'a été montrée au niveau du lobe nerveux (8). Ainsi, la cav-1 serait le candidat idéal. Cette protéine en relation avec la dynamine, qui joue le médiateur de l'internalisation des caveolae, serait impliquée dans le retour vésiculaire (27).

## 2/ Dans les noyaux hypothalamiques

### 2-1 Dans les astrocytes

L'expression de la cav-1 dans les astrocytes a été rapportée par plusieurs auteurs. Les caveolae sont localisées sur toute la surface membranaire de l'astrocyte et au niveau de multiples vésicules intracellulaires (11). Dans ces cellules, la caveoline peut jouer plusieurs rôles tels que dans le transport du cholestérol, probablement l'endocytose et la modulation du signal extracellulaire (28).

Chez le témoin, le marquage péri vasculaire dans le NSO ou le NPV correspondrait au marquage des cellules endothéliales et des pieds astrocytaires qui entourent la lame basale de ces capillaires. Ce résultat est en accord avec la contribution de la caveoline à la formation de la barrière hémato-encéphalique (14, 29-30).

Chez le rat déshydraté, on a observé une diminution du marquage dans le NPV et le NSO. Nous avons remarqué une diminution du marquage au niveau des prolongements astrocytaires qui s'insinuent entre les corps cellulaires des NMCs et au niveau de la VGL. Cette diminution serait due à la rétraction des prolongements astrocytaires, à la diminution de la taille de la limitante gliale ventrale observée dans ces conditions de stress ((31) et probablement à la diminution de l'expression de la cav-1 par les astrocytes. En effet, La caveoline subit un rétrocontrôle négatif par les  $\beta$ -adrénocepteurs dans le muscle cardiaque. L'expression de ces récepteurs augmente après 1 et 6 jours de déshydratation dans les astrocytes du NSO (20).

La persistance du marquage surtout au niveau des la VGL et la zone dendritique, chez le rat déshydraté nous fait penser que la caveoline aurait divers rôles à ces niveaux. En effet, dans ces conditions de stress hydrique les membranes dendritiques et astrocytaires représentent les éléments post synaptiques pour d'importantes afférences glutamatergiques, acétylcholinérgiques et catécholaminérgiques.

Par ailleurs, Les astrocytes et les NMCs à VP expriment des récepteurs métabotropiques du glutamate de type 1 (mGluR-1) (32-33). Les récepteurs mGluR-1 $\alpha$  sont localisés dans les mêmes domaines membranaires que la Cav-1 et la cav-2. Ces récepteurs peuvent avoir une association moléculaire et fonctionnelle avec ces deux protéines (34).

Notre hypothèse serait que les récepteurs mGluR-1 seraient donc localisés avec la cav-1 dans les caveolae sur la membrane astrocytaire ou dendritique, où ils pourraient présenter une activité signalétique optimale. Ceci rejoint les résultats obtenus pour les récepteurs NMDA au niveau du système nerveux central (35).

### 2-2-1/ Dans les corps cellulaires des NMCs

Nous avons mis en évidence, pour la première fois, la cav-1 dans les NMCs du NSO et du NPV chez les rats euhydraté et déshydraté.

La présence de la cav-1 dans les corps cellulaires conforte sa présence, montrée dans les terminaisons nerveuses neurohypophysaires. La présence des caveolines dans les neurones est controversée. Sa recherche dans le tissu nerveux par Northern blot, Western blot ou par étude ultrastructurale s'est révélée toujours négative. Galbiati et ses collaborateurs (1998) (36) sont les premiers qui ont mis en évidence la présence des cav-1 et -2 dans les cellules de la médullosurrénale en culture et dans les neurones de la racine ganglionnaire dorsale. La cav-1 a été par la suite mise en évidence dans la rétine au niveau du ruban synaptique, dans les neurones de l'hippocampe et dans le noyau prés optique hypothalamique. Dans le système nerveux périphérique, La cav-1 existe sous sa forme soluble et membranaire dans le nerf sciatique (13).

Dans le NPV du rat euhydraté, on a observé un marquage qui apparaît au début du trajet de l'axone, du côté du corps cellulaire. Le fait que ce marquage apparaisse juste à la sortie du corps cellulaire serait en faveur de l'association de la caveoline avec les vésicules soit lors du transport antérograde ou rétrograde. Considérons les processus du retour vésiculaire après exocytose des granules, le fait qu'aucune structure recouverte de clathrine n'a été mise en évidence dans les NMCs, ainsi le retour pourrait être assuré par la cav-1. Les vésicules d'endocytose en se formant, emportent une portion de la membrane synaptosomale et donc de ces composants, entre autre la caveoline. Ces vésicules devant contenir des peptides, elles réintègrent le corps cellulaire par transport axonal rétrograde (Pour revue: (37). En effet, des études par immunofluorescence, ont démontré que la cav-1 est localisée avec la SNAP25 dans les neurones de l'hippocampe en culture et essentiellement au niveau des varicosités axonales (38).

Chez le rat déshydraté, on a observé un changement de distribution de la cav-1. En effet, le marquage qui était cytoplasmique devient essentiellement péri nucléaire. En plus de la différence de distribution, on a observé une diminution de l'expression de la cav-1 dans les corps cellulaires des NMCs du NSO et du NPV chez le rat déshydraté. Cette diminution permettrait d'atténuer l'effet inhibiteur de la Cav-1 sur les Nitroxyde synthétase (NOS).

En effet, dans les NSO l'expression et l'activité de la nNOS augmentent lors d'un stress hydrique par ingestion de solutions salines hypertoniques (résultats non publiés). Ainsi, la diminution de la quantité de cav-1 va lever l'inhibition qu'elle exerçait sur la synthèse du NO qui joue le rôle d'un d'important messenger intercellulaire.

## CONCLUSION

Le SHN est physiologiquement très actif. Il est le siège d'importants processus sécrétoires et présente une grande plasticité. La mise en évidence et la distribution de la caveoline-1, protéine associée au complexe des  $\beta$ -dystroglycanes, a été étudiée aux différents niveaux structuraux du SHN.

Nos résultats montrent pour la première fois, la présence de la caveoline-1 dans le SHN du rat. La distribution de cette protéine est partagée entre les neurones magnocellulaires, les astrocytes, les pituicytes, les terminaisons nerveuses et les dilatations subterminales ainsi que les cellules endothéliales.

Par ailleurs, nous avons montré que, chez le rat déshydraté, son expression semble diminuer dans le NSO et le NPV jouant à ces niveaux, plusieurs rôles possibles allant de la modulation de la signalisation, à l'endocytose et probablement à la plasticité morphologique de ce système. Notre travail a permis d'ouvrir des perspectives très larges pour la démonstration des hypothèses émises.

**Remerciements:** Ce travail a été totalement entrepris au laboratoire de Neurochimie/LBPO/FSB/USTHB, Alger. Nous tenons à remercier vivement Mr Gérard CREMEL, Directeur de recherche INSERM, Centre de neurochimie, ULP, Strasbourg, France, pour le don d'anticorps anti-cavéolines.

## REFERENCES

- [1]- Ghorbel M.T., Sharman G., Leroux M., Barrett T., Donovan D.M., Becker K.G. and Murphy D., Microarray Analysis Reveals Interleukin-6 as a Novel Secretory Product of the Hypothalamo-neurohypophysial System. *Biol. Chem.*, 278(21): 19280-19285 2003.
- [2]- Wang Y.F. and Hatton G.I., Mechanisms underlying oxytocin-induced excitation of supraoptic neurons: prostaglandin mediation of actin polymerization, *J. Neurophysiol.*, 95(6):3933-47 2006.
- [3]- Tobin V.A. and Ludwig M., The role of the actin cytoskeleton in oxytocin and vasopressin release from rat supraoptic nucleus neurons, *J Physiol.*, 582(3) 1337-48 2007
- [4]- Ozawa E., Yoshida M., Suzuki A., Mizuno Y., Hagiwara Y. and Noguchi S., Dystrophin-associated proteins in muscular dystrophy. *Hum. Mol. Genet.*, 4:1711-1716 1995.
- [5]- Razani B., Woodman S.E. and Lisanti P., Caveolae: From Cell Biology to Animal Physiology. *Pharmacol. Rev.*, 54: 431-467 2002.
- [6]- Lidov H.G.W., Dystrophin in the nervous system, *Brain Pathol.*, 6: 63-77 1996
- [7]- Dorbani-Mamine L., M.-E. Stoeckel, V. Jancsik, Ayad G. and Rendon A., Dystrophins in neurohypophysial lobe of normal and dehydrated rats: Immunolocalization and biochemical characterization, *NeuroReport* 9: 3582-3587 1998
- [8]- Morris J.F. and Nordman J.J., Membrane recapture after hormone release from nerve endings in the neuronal lobe of the rat pituitary gland. *Neurosci.*, 5: 639-649 1980.
- [9]- Tagawa A., Mezzacasa A., Hayer A., Longatti A., Pelkmans L., Helenius A., Assembly and trafficking of caveolar domains in the cell: caveolae as stable, cargo-triggered, vesicular transporters. *J. Cell Biol.*, 170:769 – 779 2005
- [10]- Smart E.S., Graf G.A., Niven M.A., Sessa W.C., Engelman J.A., Scherer P.E., Okamoto T. and Lisanti P., Caveolin, liquid-ordered domain, and signal transduction. *Mol. Cell. Biol.*, 19(11): 7289-7304 1999.
- [11]- Allen J. A., Zu J.Z., R. H. Dave, A. Bhatnagar, B. L. Roth and M.M. Rasenick, Caveolin-1 and lipid microdomains regulate Gs trafficking and attenuate Gs/adenylyl cyclase signalling, *Mol. Pharmacol.*, 76:1082-1093, 2009.
- [12]- Cameron P.L., Ruffin J.W., Bollag, Rasmussen R. and Cameron R.S., Identification of caveolin and caveolin-related proteins in brain. *J. Neurosci.* 17(24): 9520-9535 1997.
- [13]- Mikol D.D., Hong H.L., Cheng H.L. and Feldman E.L., Caveolin-1 expression in Schwann cells. *Glia*, 27: 39-52 1999.
- [14]- Vergintino D., Robertson D., Errede M., Benagiano ., Tauer U., Roncali L. and Bertossi M., Expression of caveolin-1 in human brain microvessels. *Neurosci.*, 115(1): 145-152 2002.
- [15]- Ramirez M.I., Pollack L., Millien G., Cao Y.X., Hinds A. and Williams M.C., The  $\alpha$ -isoform of caveolin-1 is a marker of vasculogenesis in early lung development, *J. Histochem. Cytochem.*, 50(1) : 33-42 2002
- [16]- Woodman S.E., Ashton A.W., Schubert W., Lee H., Williams T.M., Medina F.A., Wyckoff J.B., Combs T.P., Lisanti M.P.. Caveolin-1 knockout mice show an impaired angiogenic response to exogenous stimuli. *Am. J. Pathol.*, 162:2059 –2068 2003.
- [17]- Hatton G.I., Function-related plasticity in hypothalamus. *Annu. Rev. Neurosci.*, 20:375-397, 1997.

- [18]- Fitsanakis V.A., Piccola G., Aschner J.L. and Aschner M., Manganese Transport by Rat Brain Endothelial (RBE4) Cell-Based Transwell Model in the Presence of Astrocyte Conditioned Media, *J. Neurosc. Res.*, 81:235–243 2005.
- [19]- Masserini M., Palestini P. and Pitto M., Glycolipide-enriched caveolae and caveolae-like domains in the nervous system. *J. Neurochem.*, 73: 1-11 1999.
- [20]- Lafarga M., Berciano M.T., Del Olmo E., Andres M.A., Pzos A., Osmotic stimulation induced changes in the expression of  $\beta$ -adrenergic receptors and nuclear volume of astrocytes in supraoptic nucleus of the rat. *Brain Res.*, 588:311-316 1992
- [21]- Piascik M.T., García-Cazarín M.L. and Post S.R., Regulation of the Cellular Localization and Trafficking of the Adrenergic Receptors, *The Adrenergic Receptors In the 21st Century Ed.*, Dianne M. Perez, 2006.
- [22]- Tweedle C.D. and Hatton G.I., Morphological adaptability at neurosecretory axonal endings of the neurovascular contact zone of the neurohypophyses. *Neuroscience.*, 20: 241-246 1987.
- [23]- Podar K., Tai Y.T., Cole C.E., Hideshima T., Sattler M., Hamblin A., Mitsiades N., Schlossman R.L., Davies F.E., Morgan G.J., Munshi N.C., Chauhan D. and Anderson K.C., Essential role of caveolae in interleukin-6- and insulin-like growth factor I-triggered Akt-1-mediated survival of multiple myeloma cells. *J. Biol.Chem.*, 278(8): 5794–5801 2003.
- [24]- Volonte' D., Galbiati F., Pestell R.G., and Lisanti M.P., Cellular stress induces the tyrosine phosphorylation of caveolin-1 (Y14) via activation of p38 mitogen-activated protein (MAP) kinase and c-Src kinase: Evidence for caveolae, the actin cytoskeleton, and focal adhesions as mechanical sensors of osmotic stress, *J. Biol. Chem.*, 276, 8094-8103 2001.
- [25]- Prat A., Biernacki K., Wosik K. and Antel J.P, Glial cell influence on the human blood-brain barrier, *Glia* 36:145–155 2001.
- [26]- Jiang M. and Cheng G., Ca<sup>2+</sup> Regulation of Dynamin-Independent Endocytosis in Cortical Astrocytes, *Journal of Neurosciences*, 2009 ; 29 (25) :8063– 8074
- [27]- Henley J.R., E.W.A. Krueger, B.J. Oswald and M.A. Mc Niven, Dynamin-mediated Internalization of Caveolae, *J. Cell Biol.*, 141( 1) : 85–99 1998.
- [28]- Ito J. I., Nagayasu Y., Kato K., Sato R. and Yokoyama S., Apolipoprotein A-I induces translocation of cholesterol, phospholipids, and caveolin-1 to cytosol in rat astrocytes. *J. Biol. Chem.*, 277(10): 7929-7935 2000.
- [29]- Jasmin J.F., S. Malhotra, M. S. Dhallu, I. Mercier, D. M. Rosenbaum and M. P. Lisanti, Caveolin-1 Deficiency Increases Cerebral Ischemic Injury , *Circ. Res.*, 100: 721-729 2007.
- [30]- Nag S., Venugopalan R. and Stewart D.J., Increased caveolin-1 expression precedes decreased expression of occludin and claudin-5 during blood-brain barrier breakdown, *Acta Neuropathologica*, 114, 459-469 2007
- [31]- Bobak J.B. and Salm A.K., Plasticité of the ventral glial limitans subjacent to the supraoptic nucleus. *J.Comp.Neurology.*, 376:188-197 1996.
- [32]- Porter J.T. and Mccarthy K. D., Astrocytic neurotransmitter receptors *in situ* and *in vivo*. *Progress in Neurobiology.*, 51: 439-455 1997.
- [33]- Kocsis K., Kiss J., Görcs T. and Halász B., Metabotropic glutamate receptor in vasopressin, CRF and VIP hypothalamic neurones, *Neuroreport*, 9 : 4029-4033 1998.
- [34]- Burgueño J., Enrich C., Canela E.I., Mallol J., Luis C., Franco R. and Ciruela F., Metabotropic glutamate type 1 $\alpha$  receptor localizes in low-density caveolin-rich plasma membrane fractions. *J.Neurochem.*, 86(4): 785-791 2003.
- [35]- Head B. P., Patel H. H., Tsutsumi Y. M., Hu Y., Mejia T., Mora R. C., Insel P. A., Roth D. M., Drummond J. C. and Patel P. M., Caveolin-1 expression is essential for *N*-methyl-Daspartate receptor-mediated Src and extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation and protection of primary neurons from ischemic cell death. *FASEB J.* 22, 828–840 2008
- [36]- Galbiati F., Volonte D., Gil O., Zanazzi G., Salzer J. L., Sargiacomo M., Scherer P.E., Engelman J.A., Parenti M., Okamoto T. and Lisanti M.P., Expression of caveolin-1 and -2 in differentiating PC12 cells and dorsal roots ganglion neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 96: 10257-10262 1998.
- [37]- Burbach J.P.H., Luckman S.M., Murphy D. and Gainer H., Gene regulation in magnocellular hypothalamo-neurohypophysial sytem. *Physiol.Rev.*, 81(3):1197-1267 2001
- [38]- Braun J.E, and Madison D.V., A novel SNAP25-caveolin complex correlates with the onset of persistent synaptic potentiation. *J. Neurosci.*, 20(16): 5997-6006 2000.