

## Chapitre I. Anatomie et structure du noyau supraoptique hypothalamique

### 1. Généralités sur les noyaux hypothalamiques

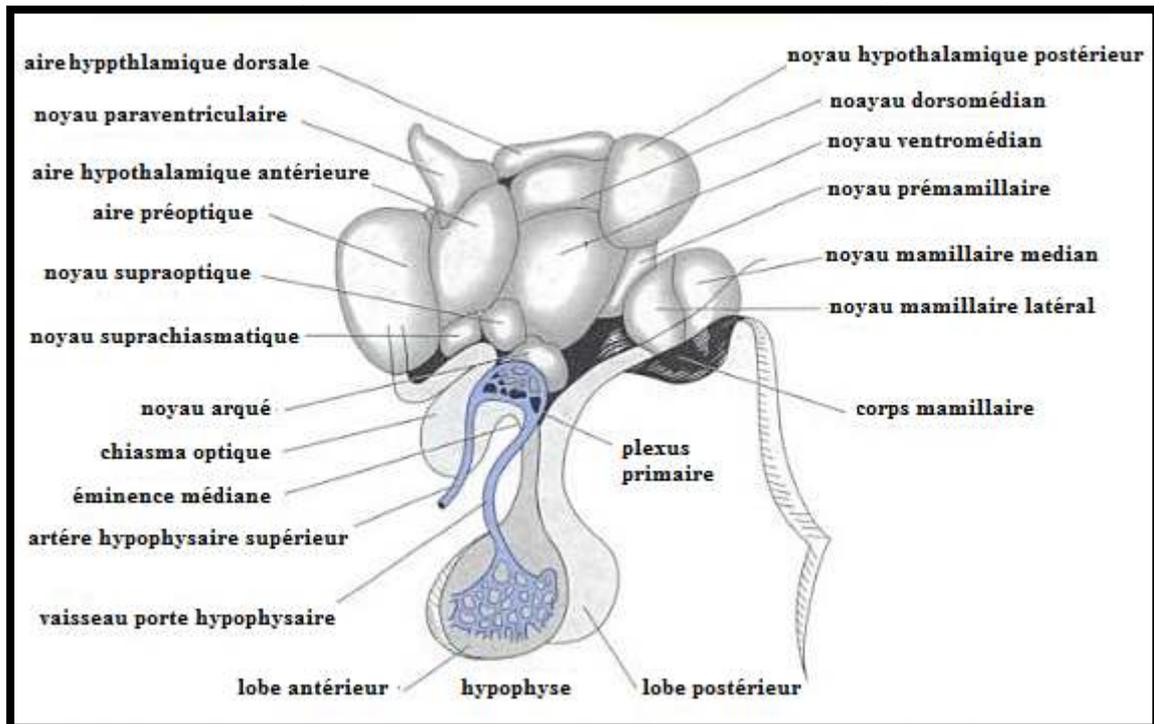
L'hypothalamus malgré qu'il est présent sous forme d'une structure de petite taille, il joue un rôle majeur dans les activités corporelles principales (Baroncini et al., 2010).

En effet, il contrôle les processus corporels vitaux, y compris la régulation cardiovasculaire, le sommeil, le métabolisme, le stress, thermorégulation les rythmes circadiens (Huchon,2003), l'équilibre hydrominéral l'appétit, le Comportement sexuel et l'activité du système endocrinien (Saper et al., 2002; Gaudichon, 2010; Makris et al.,2013) , dans l'homéostasie endocrinienne (Lecea et al., 1998) ainsi que l'immunité(Gordon, 2010) Cette variabilité de fonctions nécessite la présence de différents noyaux. L'hypothalamus est constitué d'un nombre paire de noyaux formant le plancher et les parois inférieure et latérales du 3eme ventricule.

### Il existe selon la position anatomique trois groupes de noyaux (Amy et Piolat, 2005)

Sur une vue sagittale de la région diencephalique ventrale, dans la zone médiane, de part et d'autre du troisième ventricule, de l'avant vers l'arrière, on rencontre :

- 1. le groupe antérieur** comprend le noyau préoptique, le noyau suprachiasmatique, le noyau supraoptique et paraventriculaire.
- 2. Le groupe moyen:** comprend le dorsomedian, le noyau ventromedian, et le noyau arqué (infundibulaire).
- 3. Le groupe postérieur:** comprend le noyau postérieur et le corps mamillaire



**Figure 1.** Les noyaux hypothalamiques (Ganong, 2005)

## 1.1. Cytologie de l'hypothalamus et types cellulaire

Les neurones hypothalamiques se divisent en deux types:

### 1.1.1. les neurones magnocellulaires

Se sont des neurones ayant des corps cellulaires, des axones et des terminaisons axoniques de grande taille. Ils sont situés dans les noyaux paraventriculaire et supraoptique et leurs projections forment le lobe nerveux de l'hypophyse (neurohypophyse) d'où les neuropeptides sont directement sécrétés dans la circulation périphérique. (Epelbaum, 2009).

### 1.1.2. Les neurones parvocellulaires

Se sont des neurones ayant des corps cellulaires, des axones et des terminaisons axoniques de petite taille. Ils sont situés soit dans la partie antérieure de l'hypothalamus (noyau paraventriculaire et périventriculaire, soit dans sa partie médiane (noyau tubéro-infundibulaire, ou ils se terminent tous et délivrent les neurohormones dans un système de veines portes de l'adénohypophyse. (Epelbaum, 2009).

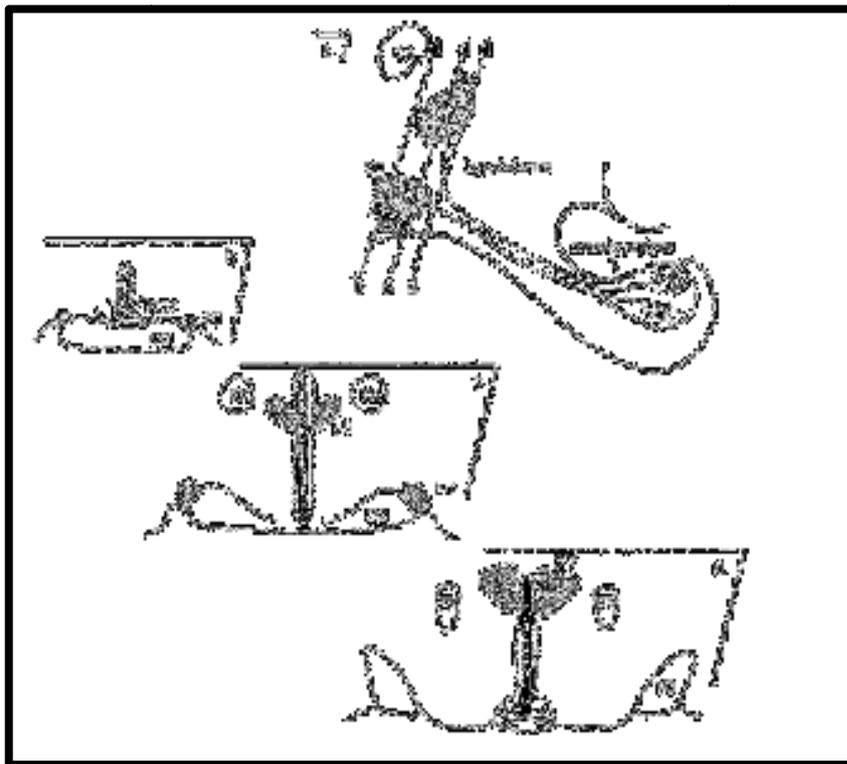
## 2. Le Noyau supraoptique

Les noyaux supraoptiques sont situés de part et d'autre du chiasma optique chevauchent le tractus optique latéralement (Mai et al., 1991).

Ce noyau contient des neurones magnocellulaires (Piet et Olié, 2003) dont les axones se projettent dans la neurohypophyse (Thibault et Levasseur, 2001).

Le noyau supraoptique produit deux neurohormones: la vasopressine responsable de la réabsorption d'eau au niveau du rein, et l'ocytocine responsable de contraction utérine (Epaulbaum, 2009), elle exerce également des effets stimulants sur la natriurèse ( Ozaki et al., 2004). Donc il est impliqué dans la parturition, la lactation (Anderson et al., 1990; Hailer et Wakerley, 1980) ,et le contrôle de l'homéostasie des liquides corporels (Bourque et al., 1994; Bourque, 2008).

Les NMC de ce noyau peuvent être directement stimulées par les solutions hypertoniques, conduisant à une augmentation de la synthèse de l'ocytocine et de vasopressine et provoquant leur libération dans la circulation systémique (Da silva et al., 2013; Summy-Long et al., 1993).



**Figure 2. Position anatomique du noyau supraoptique dans l'hypothalamus (Thibault et Levasseur, 2001)**

a. coupe sagittale; les flèches b,c,d:des coupe frontales sur la coupe a; CA: commissure antérieure; CO: chiasma optique; FX:fomis; NA:noyau arqué PV:noyau paraventriculaire ; SO:noyau supraoptique; SCH: noyau suprachiasmatique; TO: tractus optique; en noir: le 3ème ventricule.

## **2.1. Cytologie du noyau supraoptique**

Le type prédominant de cellule dans le noyau supraoptique est les neurones magnocellulaires bipolaires, avec des dendrites relativement courtes non ramifiées. Des neurones multipolaires représentent probablement un petit sous-ensemble de cellules neurosécrétrices (Armstrong, 1995).

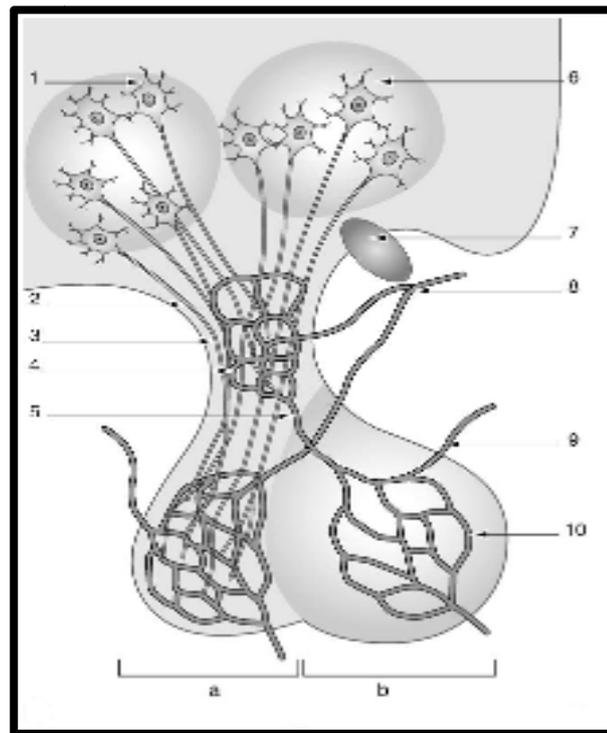
Les neurones magnocellulaires dans ce noyau sont habituellement séparés par le neuropile et éléments gliales (Theodosios et al., 1986).

Les NSO reçoivent de nombreuses afférences qui permettent de moduler son activité, et les afférences noradrénergiques constituent les afférences modulatrices majeures de ce noyau (Ginsberg et al., 1994).

## **2.2. Les neurones magnocellulaires**

Les axones des neurones magnocellulaires (NMC) hypothalamiques descendent le long de la tige pituitaire. Leurs terminaisons constituent la neurohypophyse où sont stockées puis sécrétées les neurohormones synthétisées dans leurs corps cellulaires (Ducornet et al., 2005). Les NMC sécrètent essentiellement deux neuropeptides: (i) la vasopressine ou ADH (anti diuretic hormone) qui a des propriétés antidiurétique et vasopressive (Fortaleza et al., 2012). (ii) L'ocytocine responsable de la contractilité des cellules myoépithéliales mammaires ou des myocytes utérins (Burbach et al., 2001).

Le fonctionnement des cellules neurosécrétrices magnocellulaire est aussi dépendante de l'osmolarité plasmatique et détermine la libération de l'ocytocine et vasopressine (Liu et al., 1997). L'osmolarité plasmatique élevée est un stimulant puissant qui augmente l'activité des cellules neurosécrétrices magnocellulaire (Brimble et Dyball, 1977; Ludwig et al., 1994 ; Voisin et al., 1999). Cette activité entraîne alors une augmentation de la sécrétion de vasopressine et l'ocytocine par la neurohypophyse ( Bourque, 1998).



**Figure 3. Le complexe hypothalamo-hypophysaire (Ducornet et al., 2005)**

noyau paraventriculaire; 2. éminence médiane; 3. premier réseau capillaire; 4.tige pituitaire; 5.systeme porte; 6.noyau supraoptique; 7.chiasma optique; 8. artère hypophysaire supérieur; 9. Artère hypophysaire inférieur;10. deuxième réseau capillaire; 11. hypophyse (a. Lobe postérieur; b. Lobe antérieur).

### 2.2.1. Le produit de sécrétion des neurones magnocellulaires

L'ocytocine (OT) et la vasopressine (VP) synthétisées par des neurones magnocellulaires des noyaux supraoptiques, sont sécrétées au niveau de la neurohypophyse (Lederis,1960), participent à la régulation de la balance hydrique par leur action antidiurétique et natriurétique (Deleuse et Moos,1999).

#### 2.2.1.1. La vasopressine

C'est une hormone antidiurétique nonapeptidique de 9 acides aminés très proche de l'ocytocine. Elle est synthétisée dans les neurones parvo et magnocellulaires des noyaux supraoptiques et paraventriculaires de l'hypothalamus (Paillard et al; 1995).

La VP est ainsi sécrétée dans la circulation périphérique pour y exercer ses actions antidiurétiques (récepteurs V2 rénaux couplés à un signal AMPc dépendant), vasopressives (récepteurs V1 vasculaires couplés à un signal calcique) et plaquettaires (récepteurs V2 plaquettaires). Elle est délivrée localement dans l'hypophyse antérieure, agit comme une

hormone hypophysiotrope en stimulant la sécrétion d'ACTH par ses récepteurs V3 (Blanchard et Paillard, 1998).

La sécrétion de la vasopressine est principalement régulée par les variations d'osmolalité plasmatique et de la volémie. Le stimulus physiologique de la sécrétion de la vasopressine et de la soif est l'augmentation de l'osmolarité plasmatique. Les osmorécepteurs régulant la sécrétion de VP sont situés à proximité du noyau supraoptique dans l'hypothalamus. Les osmorécepteurs contrôlant la soif sont distincts de ceux régulant la sécrétion de la vasopressine, bien que localisés à proximité, sur le versant vasculaire de la barrière hémato-encéphalique de l'hypothalamus (Nicolet-Barousse et al., 2001). Le stimulus volémique de la sécrétion de vasopressine est transmis par des voies neurologiques indépendantes de l'osmoréception (Grindstaff et al., 2000).

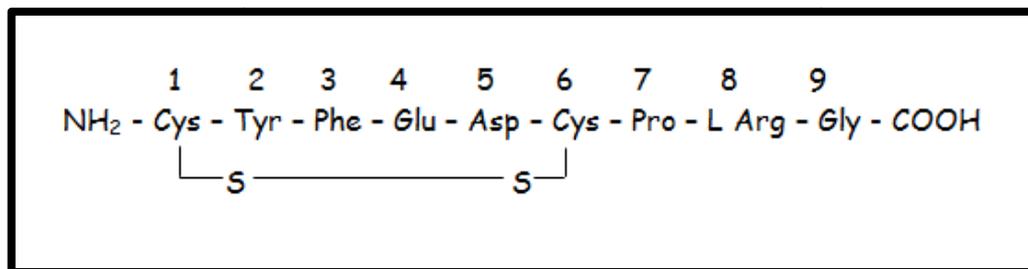


Figure 4. Structure biochimique de vasopressine (Perucca, 2008)

#### 2.2.1.2. L'ocytocine

C'est une neurohormone nonapeptidique, synthétisée par des neurones magnocellulaires situés dans les noyaux supraoptique et paraventriculaire de l'hypothalamus.

Ce peptide règle divers aspects physiologiques et comportementaux de la fonction de la reproduction, ainsi que le maintien de la parturition, l'initiation de la lactation et l'éjection du lait. Lors de la parturition, le myomètre utérin augmente très fortement son expression d'OTR et l'OT est libérée de façon importante par la neurohypophyse, et provoque des contractions puissantes et l'expulsion du nouveau-né (Burbach et al., 2001).

Lors de la lactation, l'implication de l'OT est double puisqu'elle permet d'une part l'éjection du lait en stimulant la contraction des cellules myoépithéliales des canaux galactophores entourant les alvéoles des glandes mammaires (Samson et al., 1986; Leng et al., 2005) et d'autre part elle agit sur la production du lait en stimulant la libération de la prolactine (Lipschitz et al., 2005).

En tant que neurohormone, elle dispose également d'une fonction de neurotransmetteur. La libération d'OT dans le système nerveux central et l'activation neuronale, ainsi que sa libération dans la circulation sanguine, peut être provoquée par des stimuli sexuels ou liés à la reproduction, des stimuli olfactifs, (Campbell, 2008; lane et al., 2013). Bien que l'OT soit impliquée majoritairement dans la reproduction, elle exerce également des effets stimulants sur la natriurèse (Ozaki et al., 2004). De plus, l'OT peut assurer d'autres fonctions telles que la stimulation de la sécrétion de la prolactine, de la LH, de l'ACTH; ainsi l'OT est impliqué dans le comportement maternel et social, les émotions, le stress, l'anxiété, l'apprentissage, la mémoire, et la dépression (Choleris et al., 2003 ; Swaab et al., 2005; Leng et al., 2005; Debiec, 2005 ).

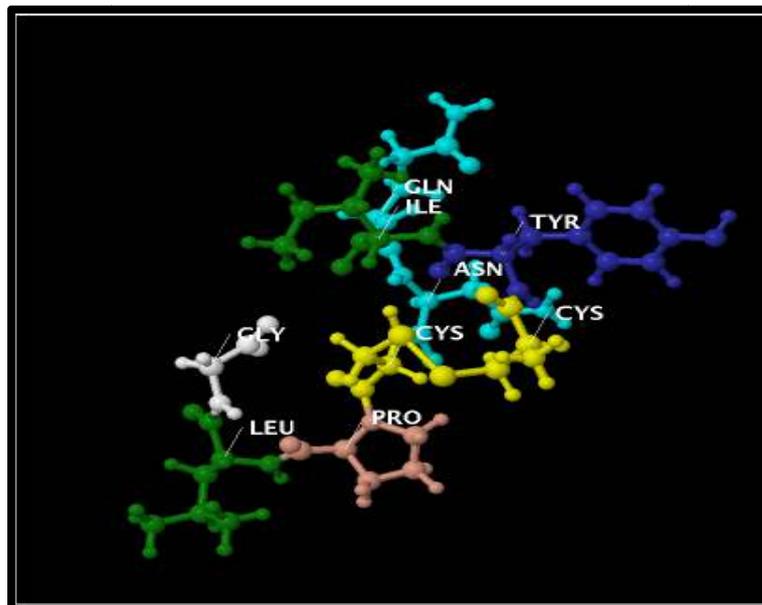


Figure 5. Structure moléculaire de l'ocytocine (Rose et al., 1996)

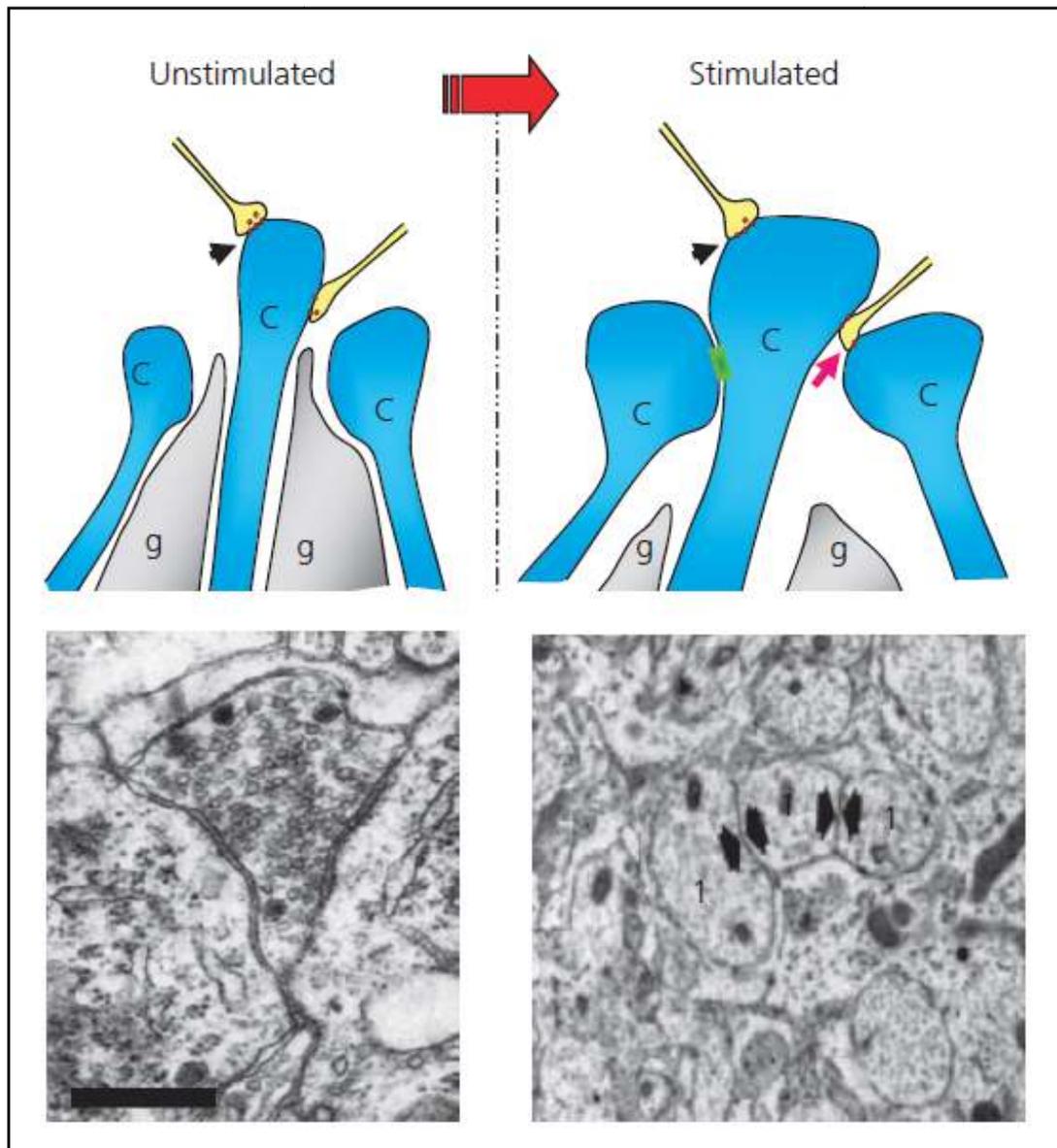
### 2.3. Noyau supraoptique et plasticité cellulaire

La plasticité neuronale ou neuroplasticité réfère au processus neurobiologiques à la base d'adaptations morphologiques et fonctionnelles du système nerveux, en réponse aux modifications de l'environnement et /ou consécutives aux atteintes de son intégrité (Spreux-Varoquaux, 2012). La plasticité est observée lors du développement (pré- et post-natale) à la base de l'organisation du SNC, la plasticité induite par des lésions (lors de traumatismes du tissu nerveux), et la plasticité adaptative, qui permet la réorganisation de

certains circuits neuronaux chez les jeunes ou les adultes lors d'un processus d'apprentissage, ou lors de modifications de l'environnement. Ainsi dans les changements fonctionnels liés à des processus moléculaires et pharmacologiques, comme la modification de la sensibilité de certains récepteurs aux neurotransmetteurs, ou l'apparition de nouveaux récepteurs au niveau des plaques synaptiques.

Les modifications morphologiques peuvent se traduire par la disparition de synapses existantes ou la création de nouvelles: synaptogenèse (Bonfanti, 2006).

Le noyau supraoptique montre un phénomène réversible de plasticité structurale neuro-gliale, dans diverses conditions physiologiques telles que la parturition, l'allaitement ou la déshydratation. Qui activent les NMC et stimulent la sécrétion des deux hormones par l'hypophyse postérieure, ces deux populations de neurones est potentialisée par une rétractation rapide et coordonnée des projections astrocytaires permettant ainsi une augmentation des appositions somatiques et axosomatiques, voir même la création de multiples synapses dans le SON (Theodosis et al., 1986). En cas de cessation des changements physiologiques ayant entraîné ces modifications, le réseau cellulaire revient à l'état initial.



**Figure 6. Illustration du retrait d'une projection astrocytaire permettant l'activation de la synapse chez le rat (Leng et al., 2010)**

(c) NMC vasopressinergiques et ocytocinergiques, (g) cellules gliales

Les cellules de la vasopressine et l'ocytocine (c) dans le noyau supraoptique sont normalement séparés par les prolongement des cellules gliales (g). Au cours de la déshydratation, ces cellules hypertrophient et les prolongements de cellules gliales se rétractent, laissant les corps cellulaires et les dendrites en apposition étroite, par l'intermédiaire de jonctions GAP (vert). Les cellules de l'ocytocine en particulier ont été plus en plus innervées par « doubles synapses » (flèche rouge),  
En bas à droite : L'augmenté d'apposition dendrite-dendrite (trois dendrites étiquetées " 1" sont directement apposées l'une à l'autre). (Leng et al., 2010)

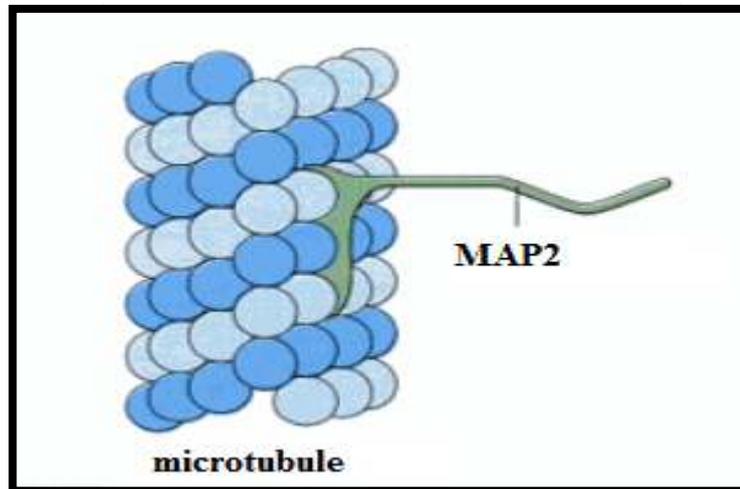
## 2.4. Les marqueurs moléculaires de plasticité cellulaire

### 2.4.1. Les MAP (microtubule associated proteins)

Les microtubules sont des structures dynamiques subissant un continuels assemblage suivi de démembrement dans la cellule, ils servent à modeler la forme de la cellule et à effectuer divers mouvement cellulaires, comme certains type de locomotion cellulaire, le transport intracellulaire d'organites et la séparation des chromosomes lors de la mitose (Cooper, 1999).

La dynamique des microtubules dépendent des MAPS, qui sont des protéines associées aux microtubules; ils organisent les microtubules et déterminent leur stabilité. Certaines MAP empêchent ou favorisent la dépolymérisation des microtubules, d'autres MAP organisent les microtubules en faisceaux et les connectent aux membranes et aux filaments intermédiaires ou aux deux (Lodish et al., 2005) , parmi lesquelles:

- **Les protéines MAP 1:** localisées au niveau des dendrites, des axones et les cellules non neuronales assurant l'assemblage et la stabilité des microtubules.
- **Les protéines Map2:** est une protéine somato-dendritique au niveau des neurones assurant la polarisation et le maintien de la structure des composants membranaires dans les neurones (Liazoghli,2006 ) par l'assemblage et la connexion des microtubules l'un à l'autre et aux filaments intermédiaires. Chaque molécule de MAP2 possède trois sites de fixation à la tubuline réunis par des courts segments de chaîne polypeptidique.Ces site de fixation sont suffisamment espacés pour permettre à la molécule de MAP2 de s'attacher à trois sous-unités de tubuline, Les queues des molécules de MAP2 s'échappent au dehors et peuvent interagir avec d'autres éléments cellulaires.
- **Les protéines Map4:** se trouvent dans la plupart des types cellulaires, elles assurent la stabilité des microtubules.
- **Les protéines Tau:** localisées au niveau des dendrites et les axones ils sont impliquées dans l'assemblage, la stabilité et la connexion des microtubules (Lodish et al., 2005).



**Figure 7. La molécule MAP2 fixée à la surface d'un microtubule (Karp, 2010)**

#### **2.4.2. PSA -N CAM (polysialic acid –neuronal- cell adhesion molecule)**

PSA est un polymère d'acide sialique, spécifiquement localisé sur la molécule NCAM (neural cell adhesion molécule) qui sont exprimées à la surface des cellules qui s'agrègent pour former une structure stable (Cremer et al., 1994; Purves et al., 2005). Lorsque le PSA est associé à NCAM, l'adhésion cellule-cellule est diminuée, permettant un remaniement des connections synaptiques (Cremer et al., 2000; Bonfanti, 2006).

PSA-NCAM intervient dans des phénomènes aussi différents que la migration cellulaire comme la plasticité synaptique fonctionnelle (Monlezun et al., 2005). Chez l'adulte la PSA-NCAM est particulièrement exprimée dans les structures qui sont le siège d'un dynamisme accrue.

PSA-NCAM est particulièrement abondant dans le SON (Theodosios et al., 1991; Bonfanti et al., 1992) permettant un remaniement des connections synaptiques (Cremer et al., 2000).

## Résumé

### **Cartographie des noyaux Supraoptiques Hypothalamiques du Dromadaire et la mise en évidence des marqueurs de plasticité cellulaire : MAP2 et PSA-NCAM par immuno-marquage**

Le dromadaire (*Camelus dromedarius*) est un animal déserticole, montrant une grande capacité de résistance au manque d'eau et à la déshydratation. Un des mécanismes que développe cet animal pour surmonter les conditions difficiles du désert, est la réduction de la diurèse par la sécrétion accrue de l'hormone antidiurétique: la vasopressine et en moindre partie de l'ocytocine. Les sites de la synthèse et de la sécrétion de ces deux neuropeptides, sont essentiellement les neurones magnocellulaires (NMC) des noyaux supraoptiques (NSO) et paraventriculaires hypothalamiques.

Notre étude s'est basée dans un premier temps sur l'étude morphologique du NSO de notre modèle expérimental afin de délimiter la distribution rostro-caudale des magnoneurones. En utilisant la coloration hématoxylin/éosine et histochimique de Nissl. D'autre part, la technique d'immunomarquage (immunoperoxydase/DAB) de l'ocytocine et deux marqueurs de plasticité cellulaire : microtubule associated proteins (MAP2) et polysialic acid –neuronal- cell adhesion molecule (PSA-NCAM), dans le but de définir respectivement le contenu peptidique et la mise en évidence des marqueurs de plasticité cellulaire dans le noyau.

Les résultats obtenus révèlent que le NSO du dromadaire s'étale rostro-caudalement et devient collé au trajet optique dans la zone médiane. Les NMC sont de grande taille avec un proéminent nucléole centralisé dans le noyau, leurs cytoplasmes sont riches en produit de biosynthèse. Ces aspects sont en faveur d'une haute activité de neurosécrétion, notamment de l'ocytocine que nous avons mise en évidence dans une population de NMC.

Les cellules gliales sont très abondantes au niveau du NSO et forment des relations structurales avec les NMC et les capillaires sanguins, ce qui pourrait expliquer leur forte implication dans l'entretien des NMC et le rôle dans la barrière hémato-encéphalique astrocytaire. L'immunoréaction positive au MAP2 et au PSA-NCAM révèlent la présence des marqueurs de plasticité cellulaire impliqués dans le remodelage dans le NSO, ce qui laisse penser sa forte sollicitation pour maintenir la balance hydrique en réponse aux conditions difficiles de son environnement.

**Mots clés:** dromadaire, noyau supraoptique, neurones magnocellulaires, ocytocine, plasticité cellulaire, adaptation, MAP2, PSA N-CAM.

## Summary

### **Mapping of the Supraoptics nuclei hypothalamic of the Dromedary and the highlight of the markers of cellular plasticity : MAP2 and PSA-NCAM by immuno-labeling**

The Dromedary (*Camelus dromedarius*) is a desertic animal, having a great capacity of resistance to water deprivation and dehydration. Between mechanisms that this animal develops to surmount the difficult conditions of its environment, is the reduction of diuresis by the increased secretion of antidiuretic hormone named vasopressin and in second position the oxytocin. The sites of Synthesis and secretion of these two neuropeptides, are essentially magnocell neurons (NMC) of supraoptic s (NSO) and paraventricular hypothalamic nuclei.

Initially, our study is interested to analyze the morphological study of dromedary NSO to understand the rostro-caudal distribution of the magnoneurones Using hematoxylin/eosin and Histochemical Nissl stains. On the other part, the technique of immunolabelling (immunoperoxidase/DAB) of oxytocin and two markers of cell plasticity: microtubule associated proteins (MAP2) and polysialic acid - neural - cell adhesion molecule (PSA-NCAM), was used in order to have some information s respectively the on the peptide content and highlighting markers of cellular plasticity in the nucleus.

The results obtained showed, that the NSO of the dromedary broaden rostro-caudally and becomes aligned on the superior bordg of optical tractuntil the midiane zone. The NMC are large with a prominent nucleolus centralized in the nucleus, their cytoplasm are full of biosynthesis product. These features reveal a high activity of neurosecretion, which was sustained by the presence of oxytocin that we have highlighted in a population of NMC.

Glial cells are very abundant in the NSO and form a structural relationship with the NMC and the blood capillaries, which could explain their strong involvement in supporting the NMC and their role in the astrocytic blood brain barrier. The positive immune response to the MAP2 and PSA-NCAM reveal the presence of markers of cellular plasticity involved in remodeling in the NSO, suggesting its high request to maintain the water balance in response to the hard conditions of its environment.

**Key words:** dromedary, supraoptic nucleus , magnocell neurone, oxytocin, cell plasticity, adaptation , MAP2 , PSA N-CAM.

## ملخص

### رسم خريطة نواة فوق البصري للابل والبحث عن علامات اللدونة الخلوية : MAP2 و PSA-NCAM بالوسم المناعي

الابل (Camelus dromedarius) حيوان صحراوي، يظهر قدرة كبيرة لمقاومة نقص المياه والجفاف. إحدى الآليات التي يتمتع بها هذا الحيوان للتغلب على الظروف الصعبة للصحراء، وهو الحد من إدرار البول بزيادة إفراز الهرمون: فاسوبريسين، وبكمية أقل اوسيتوسين. مواقع إفراز هذين الهرمونين العصبيين هو الخلايا العصبية الكبيرة (NMC) لنواة سوبراوتيك و بارافينتركولار.

دراستنا يستند في البداية على الدراسة المورفولوجية ل NSO لنموذجنا الحيواني لتحديد التوزيع الخلوي للخلايا العصبية الكبيرة من الناحية الرأسية الى الناحية الذيلية . باستخدام صبغة الهيماتوكسيلين/ايزونين ونيسل. من ناحية أخرى، تقنية الوسم المناعي (إيمونوبيروكسيداز/د ا ب ) للاوسيتوسين و علامات الليونة الخلوية: (MAP2) و (PSA-NCAM) ، من أجل التعرف على المحتوى الببتيدي و تسليط الضوء على علامات اللدونة الخلوية في النواة.

النتائج التي تم الحصول عليها تبين أن NSO للحمل العربي ينتشر من الناحية الرأسية إلى الناحية الذيلية ويصبح ملتصقاً بالمسار البصري في المنطقة الوسطى. NMC هي خلايا عصبية كبيرة مع نوية بارزة مركزية في النواة، سيتوبلازم غني بحويصلات الإفراز. هذه المميزات تدل على النشاط الإفرازي العالي ، بما في ذلك هرمون اوسيتوسين قد بينها في هذه الخلايا .

الخلايا الدبقية وفيرة جداً على مستوى NSO ، وتشكل علاقات تكوينية مع الخلايا العصبية الكبيرة والشعيرات الدموية، مما يمكن تفسير دورها في صيانة الخلايا العصبية الكبيرة وكذلك في الحاجز الدموي الدماغي الاستجابة الإيجابية للوسم المناعي ل MAP2 و PSA-NCAM تكشف عن وجود علامات اللدونة الخلوية لتشارك في اعادة البناء على مستوى NSO ، مما يوحي بدوره في الحفاظ على توازن الماء استجابة للظروف الصعبة لبيئتها.

الكلمات المفتاحية : الابل، نواة فوق البصري ، الخلايا العصبية الكبيرة ، الاوسيتوسين، اللدونة الخلوية، التكيف  
PSA-NCAM، MAP2،

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b> Les noyaux hypothalamiques.....	<b>03</b>
<b>Figure 2 :</b> Position anatomique du noyau supraoptique dans l'hypothalamus.....	<b>04</b>
<b>Figure 3 :</b> Le complexe hypothalamo-hypophysaire	<b>06</b>
<b>Figure 4 :</b> Structure biochimique de vasopressine	<b>07</b>
<b>Figure 5 :</b> Structure moléculaire de l'ocytocine	<b>08</b>
<b>Figure 6 :</b> Illustration du retrait d'une projection astrocytaire permettant l'activation de la synapse	<b>10</b>
<b>Figure 7 :</b> La molécule MAP2 fixée a la surface d'un microtubule	<b>12</b>
<b>Figure 8 :</b> Dromadaire race terghi en position (décubitus sternal) d'abattage	<b>14</b>
<b>Figure 9 :</b> Les régions hypothalamiques d'intérêt	<b>15</b>
<b>Figure 10 :</b> Le ruban des coupes réalisé en microtomie	<b>17</b>
<b>Figure 11 :</b> Principe de l'immuno-enzymologie	<b>20</b>
<b>Figure 12 :</b> Noyau supraoptique dans les zones rostrale et médiane hypothalamique	<b>25</b>
<b>Figure 13 :</b> micrographie démontrant des zones intermédiaires du noyau supraoptique entre la zone rostrale et la zone mediane	<b>26</b>
<b>Figure 14 :</b> cartographie du noyau supraoptique rostrocaudalement jusqu'à la zone médiane	<b>27</b>
<b>Figure 15 :</b> l'aspect et la distribution des neurones magnocellulaires du noyau supraoptique	<b>29</b>
<b>Figure 16 :</b> éléments cellulaire et vasculaires du noyau supraoptique du dromadaire	<b>30</b>
<b>Figure 17 :</b> neurones magnocellulaires du noyau supraoptique de nature hormonale ocytocinergique	<b>32</b>
<b>Figure 18 :</b> les neurones magnocellulaires du noyau supraoptique exprimant le marqueur de plasticité neuronale MAP2	<b>34</b>
<b>Figure 19 :</b> es neurones magnocellulaires du noyau supraoptique exprimant le marqueur de plasticité neuronalz PSA-NCAM	<b>35</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> Les anticorps, source, nature et dilutions .....	<b>22</b>
--	-----------

## SOMMAIRE

Introduction.....	01
-------------------	----

### CHAPITRE I : Données Bibliographiques

1. Généralités sur les noyaux hypothalamiques.....	02
1.1. Cytologie de l'hypothalamus et types cellulaire.....	03
1.1.1. Les neurones magnocellulaires.....	03
1.1.2. Les neurones parvocellulaires.....	03
2. Le Noyau supraoptique.....	04
2.1. Cytologie du noyau supraoptique.. . . . .	05
2.2. Les neurones magnocellulaires.....	05
2.2.1. Le produit de sécrétion des neurones magnocellulaires.....	06
2.2.1.1 La vasopressine.....	06
2.2.1.2 L'ocytocine.....	07
2.3 Noyau supraoptique et plasticité cellulaire.....	08
2.4 Les marqueurs moléculaires de plasticité cellulaire.....	11
2.4.1 Les MAP.....	11
2.4.2 PSA -N CAM.....	12

### CHAPITRE II: Matériel et méthodes

1. Matériel d'étude.....	13
1.1 Matériel Biologique .....	13
1.2 Matériel non biologique.....	14
2. Méthodes d'études .....	14
2.1 Prélèvement.....	14
2.2 Fixation.....	15
2.3 Préparation des blocs de paraffine....	15
2.4 Microtomie .....	16
2.4.1 Etalement des coupes.....	18
2.4.1.1 Préparation des lames gélatinées.....	18
2.4.1.2 Etalement .....	18
2.5 Coloration histochimique des coupes.....	18
2.5.1 Déparaffinage et hydratation.....	18

2.5.2	Coloration de Nissl.....	19
2.5.3	Coloration hématoxyline et l'éosine.....	19
2.6	Technique immunohistochimique.....	19
2.6.1	Prétraitement du tissu.....	21
2.6.1.1	Déparaffinage et hydratation.....	21
2.6.1.2	Démasquage enzymatique.....	21
2.6.1.3	Blocage de la peroxydase endogène.....	21
2.6.1.4	immunomarquage.....	21
2.7	Montage .....	23
2.7.1	Montage des coupes traitées par les colorations de Nissl et d'Hématoxyline/Eosine.....	23
2.7.2	Montage des coupes de l'immunomarquées .....	23
2.8	Observation et prise des photos .....	23

## CHAPITRE II : Résultats

I.	Etude morpho-histologique du noyau supraoptique.....	24
I.1	Aspect morphologique général.....	24
I.2	Cartographie.....	24
I.3	cytologie.....	28
I.4	composition chimique du noyau supraoptique.....	31
II.	Marqueurs de plasticité cellulaire au niveau de noyau supraoptique.....	33
II.1	Immunomarquage MAP 2.....	33
II.2	Immunomarquage PSA N-CAM .....	33

## CHAPITRE IV : Discussion

I.	structure et cytologie du noyau supraoptique	36
II.	Neurochimie du noyau supraoptique et plasticité cellulaire.....	37
	CONCLUSION.....	39

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## ANNEXES

# **SOMMAIRE**

# **ABRÉVIATIONS**

# **INTRODUCTION**

# **CHAPITRE I**

## **DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES**

## **CHAPITRE II**

# **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

# **CHAPITRE III**

## **RÉSULTATS**

# **CHAPITRE IV**

## **DISCUSSION**

**CONCLUSION**  
**Et**  
**PERSPECTIVES**

**RÉFÉRENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

# **ANNEXE**

## **Chapitre II: Matériels et méthodes**

**Notre travail nécessite l'implication et la collaboration de plusieurs laboratoires :** les étapes de circulation/ inclusion, ont été réalisées au niveau du laboratoire privé d'anatomo-pathologie et de cyto-pathologie du Dr Khemsi. La préparation des lames gélatinées, et la coloration de NISSL se sont déroulées au laboratoire de phytopharmacie du département de biotechnologies, faculté des sciences de la nature et de la vie. La microtomie a été réalisé au sein de laboratoire de cytophathologie : centre hospitalo-universitaire naffissa HAMOMUD ex-parnet

Les immunomarquages se sont déroulées au niveau du laboratoire d'anatomo-pathologie: pierre et marie CURIE (hôpital Mustapha PACHA).

Au niveau de la faculté de Médecine laboratoire d'histologie et de cytologie, université Blida1 ont été réalisé l'observation et la prise des photos.

### **1. Matériel d'étude**

#### **1.1. Matériel Biologique**

Le dromadaire est un mammifère désertique .le non dromadaire vient du grec dromas, qui signifie coureur (Beard, 1995). Le dromadaire comparant par d'autres mammifères, présente une grande capacité d'adaptation à la déshydratation ; essentiellement par la réduction de la diurèse ; qui est due à l'action de la vasopressine sur rein (Djazouli et al., 2010), car il est capable de rester plusieurs semaines sans boire, et jusqu'à un mois sans manger ,sous des climats très chauds (ou très froids) (Faye,1997). Le dromadaire est capable de faire varier sa température corporelle jusqu'à 6°C en été chez l'animal déshydraté, ce qui lui permet une diminution de l'évaporation (Faye et Bengoumi, 2002).

Le dromadaire (*Camelus dromedarius*) Fig.8, est également appelé chameau d'Arabie. sa classification selon Mukasa-Mugerwa (1985) est la suivante: Règne: Animal, classe des Mammifères, Ordredes Artiodactyles, groupe des: Tylopodes, famille des Camélidés, genre: Camelus et espèce: *Camelus dromedarius*.

Notre matériel biologique comprend trois l'hypothalamus des males adultes, prélevée rapidement après l'abattage de l'animale qui est dans notre étude le dromadaire.



**Figure 8.** Dromadaire race terghi en position (décubitus sternal) d'abattage (originale)

## **1.2 Matériel non biologique**

Le matériel utilisé dans la présente étude est comme suit (pour détaille voir annexe): Automate ou se déroule la déshydratation et imprégnation, un microtome de type Leica pour la confection des coupes des échantillons, un distributeur de paraffine de type Leica EG1160. Un microscope photonique chargé d'une appareil photos de type Leica. Des réactifs de colorations, des anticorps spécifiques et des kits de révélation pour l'immunomarquage.

## **2. Méthodes d'études**

### **2.1. Prélèvement**

Le prélèvement a été effectué au niveau de l'abattoir de la wilaya d'El oued au mois de janvier 2011: (cette partie a été réalisée par Dr. Djazouli-Alim). Juste après l'abattage, et l'extraction du cerveau, l'hypothalamus est coupé à des tranches de 1cm puis immergé dans le liquide fixateur.

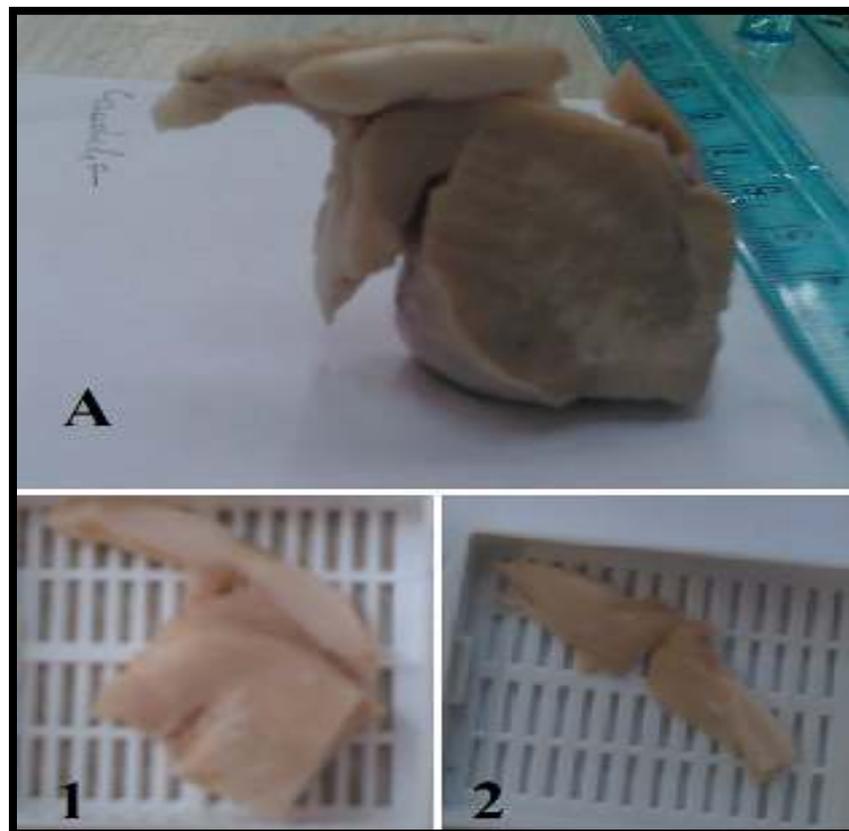
## 2.2. Fixation

Réalisée grâce à un agent fixateur: le formaldéhyde, qui préserve les tissus en immobilisant leurs structures, et en le gardant à un état aussi proche que possible de l'état vivant, il inhibe l'altération tissulaire et entraîne un durcissement des tissus permettant la confection des coupes.

La fixation est effectuée par immersion des échantillons, dans le formaldéhyde à 10% dans le tampon phosphate, pH 7

## 2.3. Préparation des blocs de paraffine

Deux régions hypothalamiques d'intérêt (rostral et caudal) (Fig.9) sont coupées au niveau du chiasma optique.



**Figure 9.** Les régions hypothalamiques d'intérêt

A. la région hypothalamique coupée en parties **1** et **2**, partie **1** rostrale, partie **2** caudale

La paraffine liquide n'est pas miscible à l'eau, par conséquent les pièces fixées doivent passer dans des liquides intermédiaires miscibles entre eux; à l'eau et à la

paraffine. Le passage dans ces liquides constitue 3 phases: la déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation.

Toutes ces étapes sont réalisées grâce à un circulateur automatique qui comporte un seul bain avec un système de vidange/remplissage automatique des réactifs.

Les échantillons sélectionnés sont mis dans des cassettes d'inclusion dans le formol durant 03 heures pour une fixation supplémentaire, puis une déshydratation dans l'éthanol de concentration croissante 70°, 90°, 95° et l'éthanol absolu.

Respectivement, les échantillons sont trempés dans l'éthanol durant (1) heure pour chaque concentration sauf pour l'éthanol absolu la durée est (2) heures. L'éthanol miscible à l'eau pénètre dans les tissus tout en chassant l'eau tissulaire.

Les tissus sont ensuite immergés dans le xylène (agent éclaircissant) durant 3 heures. Le xylène miscible dans l'éthanol, mais également dans la paraffine, va remplacer dans un premier temps l'éthanol dans le tissu, le rendant transparent et dans un second temps, attirer la paraffine.

Enfin, les prélèvements sont imprégnés par de la paraffine liquide durant 3 heures.

L'imprégnation est suivie par l'inclusion dans des blocs de paraffine: l'étape de l'enrobage est réalisée grâce à un distributeur qui verse la paraffine liquide dans des moules en acier inoxydable.

La pièce à inclure est saisie à l'aide d'une pincette et déposée sur sa surface de coupe dans le moule, puis une petite quantité de paraffine est versée au fond du moule. La cassette servant de support au bloc, est ajustée au dos du moule puis la paraffine liquide est reversée sur la cassette afin qu'elle adhère à la pièce.

Enfin le moule est remis sur la plaque froide pour que la paraffine durcisse. Le bloc obtenu est démoulé puis congelé pour accélérer le durcissement de la paraffine.

#### **2.4. Microtomie**

Elle consiste en la confection à partir d'un bloc en coupes mince à l'aide d'un microtome. Le bloc est introduit par son support, dans la pince à objet du microtome (LEICA) et immobilisé.

La surface du bloc doit être verticale, parallèle et ajustée au rasoir (jetable), la roue motrice est tournée à l'aide d'une manivelle, ce qui entraîne un déplacement vertical du bloc pour le mettre en contact avec le rasoir. Cela permet d'enlever l'excès de paraffine qui recouvre le tissu. Cette opération appelée rabotage. Une fois le rabotage terminé, la coupe débute, après avoir réajusté l'échelle à 10 $\mu$ m.

La paraffine fond légèrement sous l'action de la chaleur produite par le frottement avec le rasoir, ce qui permet aux coupes d'adhérer les unes aux autres pour former un ruban.

Notre région hypothalamique est répartie en 2 blocs, chaque bloc est coupé en séries continue de 10 $\mu$ m (coupes sériées).



**Figure 10.** Le ruban des coupes réalisé en microtomie

## **2.4.1. Etalement des coupes**

### **2.4.1.1. Préparation des lames gélatinées**

Les lames gélatinées permettent une meilleure adhésion des coupes sur les lames et évitent le décollement des coupes pendant les séries de lavage au cours de l'immunomarquage.

Les lames gélatinées sont dégraissées pendant deux jours dans un mélange de l'alcool et l'acide chlorhydrique puis lavées et rincées à l'eau distillée.

Par la suite les lames sont trempées dans un mélange de gélatine /alun de chrome puis séchées à la température ambiante pendant 24 heures. (Voir annexe).

### **2.4.1.2. Etalement**

Pendant la coupe, les tissus inclus dans la paraffine sont très comprimés, afin d'atténuer cette compression et d'enlever les plis du tissu, les coupes sont étalées dans un bain marie réglé à 40°C et les plis sont enlevés grâce à une aiguille. Les coupes sont «repêchées» à l'aide d'une lame gravée avec un diamant et comportant le numéro de la pièce.

Les lames sont par la suite placées dans un panier pour lames et séchées à 120°C dans l'étuve pendant 20 mn.

## **2.5. Coloration histochimique des coupes**

### **2.5.1. Déparaffinage et hydratation**

Le déparaffinage a pour but de retirer la paraffine des tissus, pour cela le xylène dissout le mieux la paraffine. L'hydratation a pour objectif de retirer l'éthanol du tissu et de le remplacer par l'eau.

Dans l'étuve, la paraffine fond complètement, ce qui facilite le déparaffinage. Une fois la paraffine fondue, les lames sont immédiatement plongées dans un bain de xylène pendant 10 minutes.

Elles sont ensuite immergées dans 4 bains d'éthanol (5 minutes chacun) de concentration décroissantes (100°, 100°, 95°, 70°). Après le dernier bain d'éthanol, les lames sont rincées dans un bain d'eau du robinet.

### **2.5.2. Coloration de Nissl**

La coloration de Nissl est une coloration histochimique particulièrement utilisée pour le tissu nerveux, elle révèle les corps de Nissl qui sont des agrégats de réticulum endoplasmique granuleux. Ils se situent dans le corps cellulaire du neurone. De même, ils sont présents dans les dendrites, les corps de Nissl sont par contre totalement absents de l'axone. Ils sont fortement basophile détectables après coloration au violet de crésyl.

Ce dernier se lie à des substances basophiles comme l'ARN ou l'ADN. Le noyau et les ribosomes sont donc colorés en violet.

Les lames sont immergées pendant 8 à 10 minutes dans la solution du violet de crésyl 0,5% puis à l'eau distillée pendant 3 à 5 minutes.

### **2.5.3. Coloration hématoxyline et l'éosine**

La coloration à l'hématoxyline et à l'éosine est une méthode de coloration de tissus très utilisée en histologie, notamment dans le cadre de diagnostics médicaux. Cette méthode colore le noyau en bleu-noir (hématoxyline) alors que le cytoplasme et la matrice extracellulaire sont colorés en rose (éosine). Après déparaffinage et hydratation des coupes, les lames sont émergées dans un bain de hématoxyline pendant 5 minutes, ensuite les lames sont rincées dans un bain d'eau du robinet.

Elles sont ensuite immergées dans un bain de HCL (acide chlorhydrique) pendant 1 minute, puis les rincées dans un bain d'eau, ensuite faire passer les lames dans un bain d'eau ammoniacale pendant 1 minute puis dans un bain d'éosine pendant 2 minutes.

## **2.6. Technique immunohistochimique**

Un anticorps se lie spécifiquement à des antigènes dans les tissus biologiques, dans notre étude, nous avons utilisé 3 type d'anticorps: ANTI-OT, ANTI-MAP2, ANTI-PSA. Les étapes de l'immunomarquage sont réalisées dans une chambre humide .

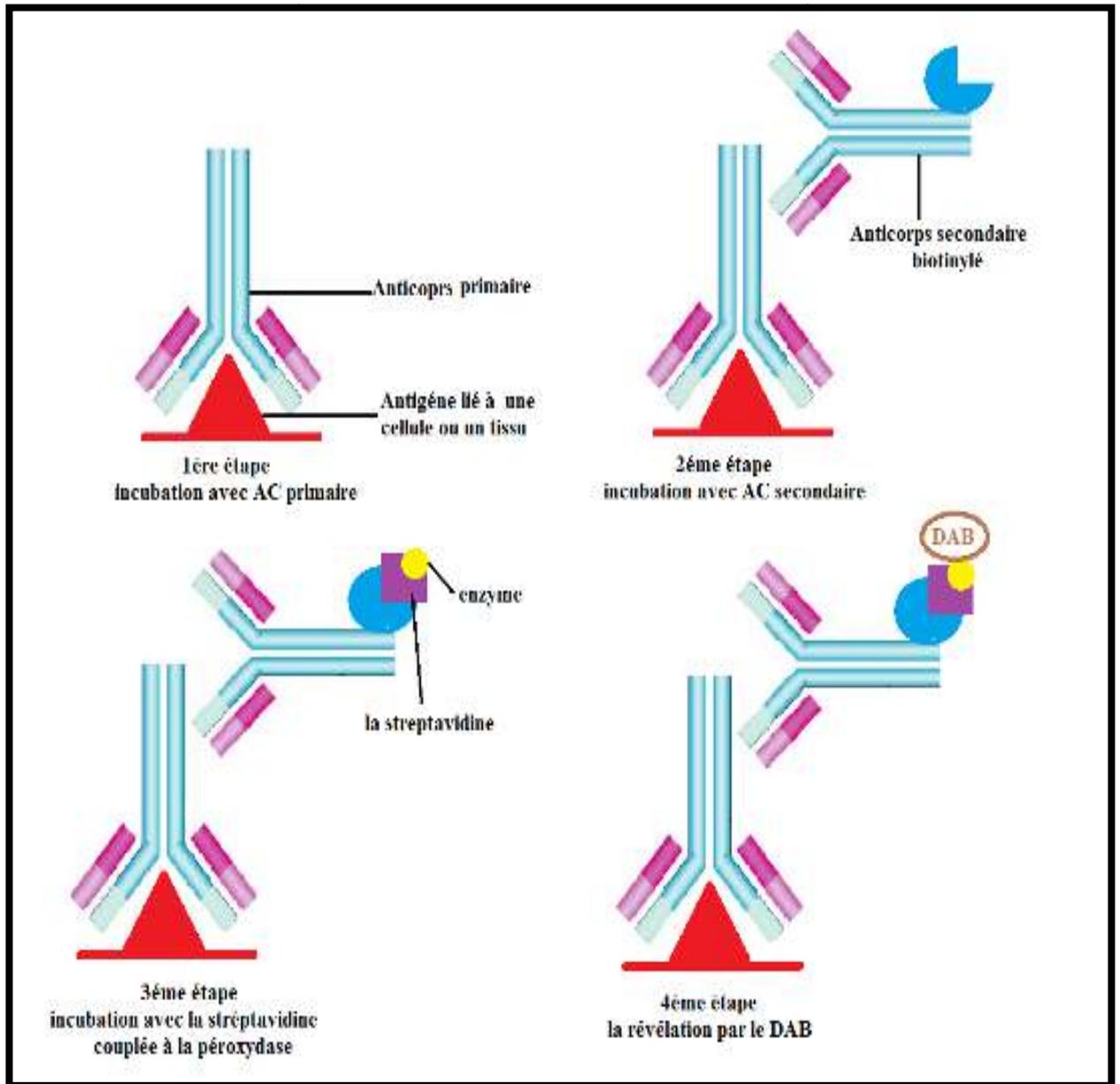


Figure11.Principe de l'immuno-enzymologie

## **2.6.1. Prétraitement du tissu**

### **2.6.1.1. Déparaffinage et hydratation**

Les coupes étalées sur des lames gélatinées sont placées dans l'étuve pendant 24 heures à 60°C pour l'élimination de l'excès de la paraffine.

Elles sont ensuite plongées dans 2 bains de xylène puis 4 bains d'éthanol de concentration décroissantes (100°, 100°, 95°, 70°) 5 minutes chacun. Puis dans l'eau distillée.

### **2.6.1.2. Démasquage enzymatique**

Les lames sont immergées dans une solution TRS (Target Retrieval Solution) pH 9 pendant 40 minutes à 97°C (au bain marie), puis refroidies pendant 20 minutes, à la fin rincés à l'eau distillée.

### **2.6.1.3. Blocage de la peroxydase endogène**

Les coupes sont encerclées par une matière hydrophobe à l'aide de DAKOpen pour éviter la dispersion et la perte des réactifs.

Les lames sont incubées dans l'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (3%) pendant 5 minutes pour inhiber la peroxydase endogène, puis rincées à l'eau distillée.

### **2.6.1.4. immunomarquage**

Les caractéristiques des anticorps primaires utilisées dans notre étude sont résumées selon leur antigène, clone, type, origine, et dilution dans le tableau suivant:

**Tableau 1: Les anticorps, source, nature et dilutions**

Antigène	anticorps	Clone	type	Origine	dilution
La MAP 2 est une protéine somato-dendritique au niveau des neurones	Anti –MAP2	/	Monoclonal	A titre gracieux (Dr Djazouli ,univ.Barcelone )	1/300
PSA N-CAM exprimées à la surface des cellules qui sont le siège d'une plasticité accrue.	Anti- PSA N-CAM	2-2B	Monoclonal	CHEMICON (Dr Djazouli ,univ.Barcelone )	1 :200-1 :400
Ocytocine, une neurohormone synthétisée par des neurones magnocellulaires	Anti- Ocytocine	/	Polyclonal	CHEMICON (Dr Djazouli ,univ.Barcelone )	1 :500-1 :3000

Après rinçage au tampon PBS pendant 5 minutes, les lames sont incubées séparément avec les anticorps primaire pendant 1 à deux heures à la température ambiante. Les coupes sont rincées 2 fois avec le tampon PBS (5 minutes chacun). Ensuite, elles sont incubées avec l'anticorps secondaires biotinylés anti-souris si il s'agit de anticorps primaire monoclonal ou anticorps secondaire (biotinylé) anti-lapin avec les anticorps primaire polyclonaux pendant 1 à deux heures, puis les rincées pour les incubés avec la streptavidine couplée à la peroxydase.

Après rinçage 2 fois (5 minutes) avec le tampon PBS.

La révélation se fait par le DAB (1ml de substrat + 20µl de chromogène) pendant 5 à 10 minutes jusqu'à l'obtention de la couleur marron. La réaction est stoppée par le rinçage avec l'eau distillée.

## **2.7. Montage**

### **2.7.1. Montage des coupes traitées par les colorations de Nissl et d'Hématoxyline/Eosine**

Les coupes sont passées dans 4 bains d'alcool 70°,96°,100°,100° puis dans 2 bains de xylène pendant 5 minutes chacun. la lamelle est fixée sur la coupe histologique en appliquant une goutte de milieu de montage l'eukitt.

### **2.7.2. Montage des coupes de l'immunomarquées**

Le montage entre lame et lamelle se fait avec un milieu aqueux spéciale :DAKO, Faramont.

## **2.8. Observation et prise des photos**

La lecture des lames et la prise des photos est effectuée aux différents grossissements de microscope chargé d'une camera numérique de type Leica, qui permet l'acquisition d'images numériques.

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACTH	hormone corticotrope, ou adénocorticotrophine
CA	commissure antérieure
CO	chiasma optique
FX	Ornix
LH	hormone lutéinisante
MAP	microtubule associated proteins
NA	noyau arqué
NMC	neurone Magnocellulaire
NSO	noyau supraoptique
OT	Ocytocine
OTR	récepteur de l'ocytocine
PBS	phosphate Buffered Saline
PSA -N CAM	polysialic acid –neuronal- cell adhesion molecule
NPV	noyau paraventriculaire
SCH	noyau suprachiasmatique
SNC	système Nerveux Central
T.OP	trajet Optique
VP	vasopressine

## **Chapitre IV: Discussion**

La régulation homéostasique de la teneur en eau corporel ainsi que le processus de la parturition, et la lactation sont en grand partie sous la dépendance de la de la vasopressine (VP) et de l'ocytocine (OT) (Theodosis et al, 1998; Swaab et al., 1975).

Le site principal de la synthèse de la VP et de l'OT est les neurones magnocellulaires (NMC) du système hypothalamo-neurohypophysaire. Les pericaryons de ces neurones se rassemblent au niveau des noyaux hypothalamiques supraoptiques (NSO) et paraventriculaires (NPV). Leurs axones traversent l'éminence médiane et en majorité, se projettent dans le lobe nerveux de l'hypophyse.

Notre étude a été effectuée sur le NSO d'un mammifère déserticole: le dromadaire qui est capable de s'adapter à la déshydratation grâce à des particularités anatomiques et physiologiques remarquables pour une espèce de sa taille. Nous nous sommes limités dans l'exploration morphologique et neurochimique de quelques molécules pouvant exister dans ce noyau et qui pourraient évoquer certaines particularités propres à cet animale.

### **I. Structure et cytologie du noyau supraoptique**

La coloration histochimique de Nissl a permis de démontrer l'aspect de la distribution des NMC du NSO du dromadaire dans le sens rostro-caudale, ainsi que leur regroupement et leur particularités cellulaires. Le noyau est situé juste au dessus du trajet optique rostralement, en effet il apparait comme un amas dense de cellules situées à la face ventrale de l'hypothalamus, au niveau du bord externe du chiasma optique. De façon générale et particulièrement chez le rat, l'extrémité antérieure est située au devant du chiasma optique (Legait,1955).

Les corps cellulaires des NMC sont de grande taille avec des prolongements bipolaires ou tripolaires. Les dendrites sont relativement courtes sans ramification . Le cytoplasme renferme une grande plage formée à partir de granules neurosécrétoires qui pourraient renfermer les nonapeptides : la vasopressine et l'ocytocine. En effet, des observations similaires ont été décrites par Armstrong (1995). Les dendrites des

NMC du NSO peuvent également contenir des granules sécréteurs semblables à celles observées dans les corps cellulaires (Theodosios, 1986).

Les corps cellulaires neurosécréteurs sont facilement reconnaissables par leur taille relativement importante, et les substances de Nissl ainsi que par l'existence d'un grand nucléole central. Ces neurones sont habituellement séparés par des neuropiles et des éléments gliaux (Theodosios et al., 1986) comme nous avons observé dans notre étude. Des neurones multipolaires représentent un petit sous-ensemble de cellules neurosécréteurs (Tweedle et Hatton, 1976; Armstrong, 1995), cependant ceci n'a pas été noté dans nos observations.

En outre, de plus la coloration de Nissl, la coloration hématoxyline/éosine a permis de déceler une population de cellules gliales dans le NSO et qui accordent des relations structurales avec les NMC et d'autre qui se trouve à la limite ventrale de l'hypothalamus : la limitante gliale ventrale (LGV). Ces cellules sont des astrocytes qui ont une morphologie proche de celle de la glie radiaire que l'on trouve dans le cerveau en développement (Gouazé, 2012).

En effet, chez le rat Les cellules gliales prédominantes au niveau du NSO, leurs corps cellulaires se localisent au niveau de la LGV et leurs expansions se prolongent plus de 500 µm vers la partie dorsale du noyau et forment de fines séparations entre les NMC (Hatton, 1990).

## **II. Neurochimie du noyau supraoptique et plasticité cellulaire**

Dans le NSO du dromadaire nous avons mis en évidence une population ocytocinergique, d'autres travaux ont mis en évidence l'existence d'une population vasopressinergique (Djazouli Alim, 2012). Des études sur la nature chimique des NMC ont rapporté l'existence de ces deux populations de NMC chez le rat (El. may et al., 1987).

En tant que neurohormone, OT intervient principalement dans les processus de la parturition, la lactation et la régulation osmotique. En outre, il est libéré dans de nombreuses régions centrales du système nerveux central il a un rôle dans la régulation de plusieurs fonctions neurovégétatif, limbiques et comportementales (Richard, 1991).

Les neurones magnocellulaires hypothalamiques de part cet particularité de neurosecretion possèdent des caractéristiques communes aux cellules sécrétrices (Theodosis,2002; Lane et al.,2013).

Dans la deuxième partie de notre étude, nous avons recherché au niveau du NSO du dromadaire, une éventuelle existence de molécules impliquées dans plasticité cellulaire. En effet Les protéines impliquées dans la plasticité, peut être divisé en deux groupes principaux: protéines du cytosquelette et les molécules d'adhésion cellulaire (Djazouli et al., 2010). Dans l'hypothalamus, cette plasticité structurelle est représentée par des modifications de la taille et la forme des corps cellulaires et les dendrites; exprimant des molécules d'adhésion de surface cellulaire comme la PSA N-CAM et des protéines du cytosquelette associées aux microtubules comme la MAPs (Theodosis ,2002).

L'immunomarquage de la protéine associée aux microtubules la MAP2, présente une immunoréaction positive dans les neurones du NSO, plus précisément au niveau du péricaryon et les prolongements dendritiques et axoniques. En effet la MAP2 assure la polarisation et le maintien de la structure des composants membranaires dans les neurones (Liazoghli, 2006), et organise les microtubules et détermine leur stabilité (Lodish et al., 2005). L'existence importante de MAP2 dans les NMG, pourrait expliquer un fort transport de matériel granulaire au site de libération peptidique (la neurohypophyse) pour probablement le maintient d'eau au niveau rénale du au manque d'eau du milieu.

Les résultats de l'immunomarquage de la PSA N-CAM indiquent une immunoréaction positive dans le NSO. En effet, le marquage PSA est observé dans les astrocytes, et au niveau des somas neuronaux, et est également présent sur les dendrites et les axones qui projettent vers la neurohypophyse (Theodosis et Poulain, 1999; Bonfanti, 2006). De plus l'immunoréactivité de PSA a été détectée chez plusieurs modèles animaux notamment dans le système de GnRH du singe (Perera et al., 1992) et dans plusieurs noyaux de l'hypothalamus de brebis (Theodosis et al.,1994).

D'après Theodosis et ses collaborateurs (1994), généralement le PSA peut affecter la durée de contact entre la membrane des cellules et la matrice extracellulaire, donc

limiter l'adhésion et optimiser les conditions de remodelage des cellules et le tissu. La PSA-N-CAM est exprimée dans d'autres structures centraux possédant une plasticité morphologique (Bonfanti et al., 1992). La polysialylation est une caractéristique permanente de certains neurones et des astrocytes qui est conservée tout au long de la vie de l'animal et qui permet ensuite aux cellules de subir un remodelage morphologique lorsque les conditions se manifestent (Theodosis et al., 1994).

## CHAPITRE III: Résultats

### I. Etude morpho-histologique du noyau supraoptique

La coloration de Nissl est particulièrement utilisée dans l'exploration topographique du tissu nerveux révélant les corps de Nissl situés dans les corps cellulaires des neurones et les dendrites. Dans notre étude cette dernière a été utilisée pour colorer les neurones magnocellulaires hypothalamiques (NMC) des noyaux supraoptiques (NSO). La coloration d'hématoxyline et éosine pour identifier les noyaux et le cytoplasme a été aussi utilisé dans le but d'observer en générale tous les autres composants cellulaires du NSO.

#### I.1. Aspect morphologique général

Sur une coupe craniale et par l'utilisation de la coloration de Nissl, **la figure 12** nous présente une vue générale du NSO, dans sa partie rostrale (**fig.12 A, B**). Le NSO est formé par un amas de corps magnocellulaires, distribués au dessus de trajet optique.

Dans la zone médiane du NSO, Les NMC se regroupent en amas et forment environ un angle de 25° (**fig.12 C**). Les NMC du NSO sont limités ventralement par le trajet optique. Les cellules gliales forment la limitante gliale latéralement (**fig.12 C**).

Les NMC se distribuent uniformément tout au long de l'extension rostro-médiane du NSO (**fig.13 A, B, C**).

#### I.2. Cartographie

Des logiciels spécialisés de traitement d'images numérisées, ont permis de retracer rostro-caudalement les coupes sériées du NSO (**fig 14**). , commençant par le bord antérieur (rostral) (**fig 14. 1, 2**) jusqu'à la zone médiane du NSO (**fig 14. 3, 4**).

Le NSO, est situé juste au dessus du trajet optique rostralement. L'extension du NSO, n'est pas homogène dans la partie antérieure, en effet le NSO est étendue à droite et rétréci à gauche (**fig.14. 1**). La superficie du NSO augmente progressivement dans le côté gauche (**fig.14. 2 et 14.3**) au fur et à mesure qu'on avance caudalement dans la zone hypothalamique d'intérêt. Au niveau de la zone médiane, l'extension du NSO est homogène de part et d'autre, avec un aspect allongé ou en bâtonnet (**fig14.4**).







### **I.3.Cytologie**

La coloration de Nissl a permis de bien délimiter les NMC avec leurs extensions (**fig. 15**). Ils sont caractérisés par des pericaryons de grande taille. De nombreuses cellules gliales sont présentes à proximité des NMC (**fig. 15, A, B**). Il semble que ces cellules forment des relations structurales membranaires avec eux (**fig. 15B**).

Au fort grossissement (**fig. 15C**), l'aspect cellulaire des NMC est bien observé et montre des NMC avec des péricaryons volumineux qui donnent naissance à plusieurs prolongements ramifiés de deux types: de fines et courtes dendrites .

Dans le cytoplasme des NMC, une plage contenant le produit de sécrétion occupe la quasi-totalité du cytoplasme, le nucléole est très volumineux et occupe souvent le centre nucléaire. Dans cette même figure, la relation structurale membranaire entre NMC et cellules gliales est bien évidente.

De plus la relation structurale membranaire que forment les prolongements des cellules gliales avec les NMC (**fig. 16, A**), ce même aspect est retrouvé avec la composante vasculaire assurant une barrière hémato-encéphalique astrocytaire, bien évidente dans la figure **16, B, C et D**. Il semble que le NSO est fortement infiltré par les vaisseaux sanguins.

La lumière d'un capillaire sanguin dont la membrane est tapissée par des cellules endothéliales sont jointives essentiellement pour assurer la barrière hémato-encéphalique endothéliale, la présence des cellules gliales autour du capillaire sanguin forme la barrière hémato-encéphalique astrocytaire. Il est aussi remarquable que les globules rouges ont une forme ovale (**fig. 16, D**).





#### **I.4. Composition chimique du noyau supraoptique**

L'immunomarquage de l'ocytocine est positif au niveau du NSO (**fig. 17**), L'immunoréaction est retrouvée essentiellement au niveau des NMC (**fig. 17, A, B**) et leurs prolongements cellulaires (**fig. 17, C, D**). Il n'existe pas seulement une population de NMC ocytocinergique au niveau du NSO une autre vasopressinergique a été identifiée par immunomarquage (Djazouli,2012).



## **II. Marqueurs de plasticité cellulaire au niveau de noyau supraoptique**

Dans cette partie on a essayé de démontrer la présence de MAP2 et PSA N-CAM dans le noyau supraoptique du dromadaire, molécules impliquées dans neuroplasticité.

### **II.1.Immunomarquage de la MAP2**

L'immunomarquage de la MAP2 est positif au niveau du NSO (**fig. 18**), l'immunoréaction est retrouvée dans la composante neuronale : les NMC (**fig. 18 A, B**). Au fort grossissement, de plus le marquage se trouve dans le cytoplasme des NMC mais aussi dans leurs prolongements cellulaires (**fig. 18 C, D**). Il est remarquable dans la **figure 18. E** que au milieu du corps cellulaire des NMC immunopositifs, des noyaux, volumineux, sphériques, clair, avec un gros nucléole, arrondi, dense, bien visible sont présent. Il est noté bien clairement l'immunoposivité de l'axone et de son cône d'implantation.

### **II.2.Immunomarquage de la PSA N-CAM**

La présence du marqueur de plasticité cellulaire la PSA N-CAM dans le noyau supraoptique est nettement visible par son immuno-positivité (**fig. 19**). L'intensité du marquage est importante dans les péricaryons des NMC ainsi que leurs prolongements cellulaires (**fig. 19 B, C**). De plus le marquage présente un aspect granulaire surtout à la périphérie nucléaire (**fig. 19 D**).

L'étude morphologique du noyau supraoptique du dromadaire, et l'immunomarquage de certaines molécules l'ocytocine, la MAP2 et la PSA-NCAM nous ont permis de caractériser ce noyau ainsi que mettre en évidence l'existence des marqueurs de plasticité cellulaire.

Les résultats obtenus par la coloration histochimique de Nissl révèlent que le noyau supraoptique du dromadaire est situé juste au dessus du trajet optique. Par la même coloration on a pu réaliser la cartographie de ce noyau dans les deux zones: rostrale, médiane.

De plus, on a démontré les différents éléments cellulaires qui prédominent dans le NSO qui sont les neurones magnocellulaires, les cellules gliales et les capillaires sanguins. Les cellules gliales établissent de fortes relations structurales avec les NMC et les capillaires

Les NMC sont caractérisés par leur taille volumineuse. Leurs corps cellulaires présentent deux types de prolongements: de fines et courtes dendrites et un long axone; la présence de substances de Nissl, et les vésicules de sécrétion, ainsi un noyau, volumineux, sphérique, clair, contenant un gros nucléole.

En outre, nos résultats ont présenté l'aspect de la barrière hémato-encéphalique endothéliale et gliale (astrocytaire).

En fin, les résultats obtenus par immunomarquage de l'ocytocine, MAP2, PSA N-CAM nous ont permis de comprendre une partie de la composition neurochimique du NSO du dromadaire, et de mettre en évidence l'existence des marqueurs de plasticité cellulaire.

La présence de l'ocytocine confirme le rôle primordial de NSO dans divers aspects physiologiques et comportementaux de la fonction de la reproduction chez ce modèle animal. La présence de MAP2 et de PSA N-CAM a permis de mettre en évidence ces deux marqueurs de plasticité dans le NSO et suggérer leur rôle dans le remodelage cellulaire lors d'un stimulus en réponse aux changements environnementaux.

En perspective, pour mieux comprendre l'organisation du noyau supraoptique et la relation entre ses éléments cellulaires, il serait intéressant d'aborder des analyses ultrastructurales ainsi que des immunomarquages des marqueurs de plasticité

cellulaire dans les différentes conditions de stimulation telles que: la gestation, la parturition, la lactation et les changements saisonniers.

### 1. Composition de mélange de gélatine /alun de chrome

- 1,25 g gélatine
- 0,125 g alun de chrome
- 250 ml eau distillée

La méthode:

- Préparer le mélange chauffé a une température inferieur à 45°C.
- Filtrer le mélange.
- Laisser refroidir
- Tremper les lames dans la solution
- Faire sécher à la température ambiante pendant 24 heures.

### 2. Table pour la dilution de l'alcool

		Concentration initiale													
		100	99	98	97	96	95	90	85	80	75	70	65	60	50
Concentration finale	95	6,5	5,15	3,83	2,53	1,25									
	90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,73	6,41								
	85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	6,56							
	80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	13,79	6,83						
	75	37,58	35,9	34,28	32,67	31,08	29,52	21,89	14,48	7,2					
	70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	31,05	23,14	15,35	7,64				
	65	59,37	57,49	55,63	53,81	52	50,22	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15			
	60	72,82	70,80	68,8	65,85	64,92	63	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76		
	55	88,6	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	67,87	57,9	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47	
	50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	
	45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	11,41
	40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	130,8	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	25,55
	35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	43,59
	30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	206,22	188,57	171,05	153,61	136,04	118,94	101,71	67,45
	25	308,9	304,52	300,18	295,86	291,56	287,28	266,12	245,15	224,3	203,61	182,83	162,21	141,65	100,73
	20	408,5	403,13	397,79	392,47	387,17	381,9	355,8	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	150,55
15	574,75	567,43	560,53	553,55	546,59	539,66	505,27	471	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	233,64	
10	907,09	896,73	886,4	876,1	865,15	855,15	804,5	753,65	702,89	652,21	601,6	551,06	500,50	399,85	

nb. La table indique qu'il faut ajouter 105,34 ml d'eau à 100 mL d'alcool à 90° pour obtenir de l'alcool à 45°.

### 3. Composition de solution de violet de crésyl

- 2,5 g violet de crésyl
- 300 ml eau distillée
- 13,9 g sodium d'acétate
- 92 ml eau distillée
- 29 ml acide acétique glacial
- 471 ml eau distillée

Méthode :

Mélanger 300 ml de violet de crésyl et 30 ml solution d'acétate de sodium et 170 ml solution acide acétique glacial.

#### **4. préparation de réactifs de coloration à l'hématoxyline et à l'éosine**

- Colorant hematoxyline de Harris (Solution prête à l'emploi)
- Solution de HCL : 5 ml d'acide chlorhydrique concentré dans 1000 ml d'eau distillée
- L'eau ammoniacale : 2ml d'ammoniaque dans 1000 ml d'eau distillée
- Eosine: 100 ml de solution aqueuse à 3% d'éosine +125 ml d'éthanol à 95 % et 2 gouttes d'acide acétique glacial dans 375 ml d'eau distillée

#### **5. Préparation de la solution de démasquage enzymatique (Target Retrieval**

**Solution/ pH 9)**

- 1 volume de Tampon citrate
- 9 volumes d'eau

#### **6. Tampan PBS (Phosphate Buffered Saline/ pH 7)**

**Composition:**

- phosphate de sodium dibasique
- phosphate de sodium monobasique et
- chlorure de sodium.

Dilution 1:20

## **Appareillage**

Un circulateur automatique: (EXCELSIOR ES) appelé « Thermo electron » qui comporte un seul bain avec un système de vidange/remplissage automatique des réactifs; ou se déroule la déshydratation et imprégnation des échantillons.



**Figure 20.** Circulateur automatique

Un distributeur de paraffine: de type LeicaEG1160 constitué d'un circuit chauffé (à 60°C) se termine par un distributeur où s'écoule la paraffine liquide, et une plaque froide.

**Amy G., Piolat M.,** 2005. Introduction biologique à la psychologie. Cedex: Bréal, 550 p.

**Anderson w. A, Bruni j. E and kaufmann A .,**1990 . Afferent connections of the Rat's Supraoptic Nucleus. Brain Research Bullerin, Vol. 24, PP. 191-200.

**Armstrong William E.,** 1995. Morphological and electrophysiological classification of hypothalamic supraoptic neurons. Progress in Neurobiology. 47, 291- 339.

**Baroncini, M., Jissendi, P., Catteau-Jonard, S., Dewailly, D., Pruvo, J.P., Francke, J.P., Prevot, V.,** 2010. Sex steroid hormones-related structural plasticity in the human hypothalamus. Neuroimage 50, 428–433.

**Beard.,** 1995.Mouvement of feral camels in central australia détermined by satelliteT élémentry. Revue of arid environnement .31, 459-469.

**Bengoumi, M., Faye, B.,**2002,Adaptation du dromadaire à la déshydratation,John libbey eurotext.13,121-129.

**Blanchard A and Paillard M.** Aquaporines.,1998. du gène à la maladie. Médecine Thérapeutique;4:165-172.

**Bonfanti L, Olive S, Poulain D, Theodosis D .,** 1992. Mapping of the distribution of polysialylated neural cell adhesion molecule throughout the central nervous system of the adult rat: an immunohistochemical study. Neuroscience 49:419-436

**Bonfanti L.,** 2006. PSA-NCAM in mammalian structural plasticity and neurogenesis. Progress in neurobiology 80,129–164.

**Bourque CW, Oliet SH, Richard D .,**1994. Osmoreceptors, osmoreception, and osmoregulation. Front Neuroendocrinol 15:231–274.

**Bourque CW.,** 1998. Osmoregulation of vasopressin neurons: a synergy of intrinsic and synaptic processes. Prog Brain Res 119:59–76.

**Bourque CW.,** 2008. Central mechanisms of osmosensation and systemic osmoregulation. Nat Rev Neurosci 9:519–531.

**Brimble MJ, Dyball RE.,** 1977. Characterization of the responses of oxytocin- and vasopressin-secreting neurones in the supraoptic nucleus to osmotic stimulation. J Physiol 271:253–271.

**Burbach, JP., Luckman, SM., Murphy, D., Gainer, H.,** 2001.Gene regulation in the magnocellular hypothalamo-neurohypophysial system. Physiol Rev. 81(3):1197-267.

**Campbell, A.** (2008). Attachement, agression, and affiliation: The role of oxytocin in female social behavior. Biological, Psychology. 77, 1-10.

**Choleris, E., Gustafsson, J.A., Korach, K.S., Muglia, L.J., Pfaff, D.W.,** 2003. An estrogen-dependent four-gene micronet regulating social recognition: a study with oxytocin and estrogen receptor-alpha and -beta knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100 (10):6192-7.

**Cooper, G.M.,** 1999. *La cellule une approche moléculaire*. Boeck université, paris. 674

**Coujard, R., Poirier, J., Racadot, J.** Précis d'histologie humaine. paris: Masson, 1980 : 725.

**Cremer, H., Lange, R., Christoph, A., Plomann, M., Vopper, G., Roes, J., Brown, R., Baldwin, S., Kraemer, P., Scheff, S., Barthels, D., Rajewsky, K., Wille, W.,** 1994. Inactivation of the N-CAM gene in mice results in size reduction of the olfactory bulb and deficits in spatial learning. *Nature* 367, 455–459.

**Cremer H, Chazal G, Lledo PM, Rougon G, Montaron MF, Mayo W, Le Moal M, Abrous DN** ., 2000. PSA-NCAM: an important regulator of hippocampal plasticity. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience* 18, 213–220.

**Da Silva M. P, Ventura r. R, Varanda w. A.,** 2013. Hypertonicity increases no production to modulate the firing rate of magnocellular neurons of the supraoptic nucleus of rats. *Neuroscience*: 250 70–79.

**Debiec J.,** 2005. Peptides of love and fear: vasopressin and oxytocin modulate the integration of information in the amygdala. *Bioessays*. 27(9):869-73.

**Delouze Charlotte et Moos Françoise.** 1999. nouveau rôle de la taurine gliale, un médiateur de la régulation osmotique des neurones magnocellulaires des noyaux supraoptiques chez le rat. thèse doctorat, université de Montpellier, France.

**Djazouli Alim, F.Z., Lebaili, N., Mahy N.,** 2010. Dromedary vimentin hypothalamo-neurohypophysal system expression may help adapt to severe arid environment. *Advances in Environmental Biology*, 4 (2): 277-283

**Djazouli Alim, F.Z.,** 2012. Exploration du système hypothalamo-neurohypophysaire et recherche des particularités adaptatives au milieu aride chez le dromadaire (*Camelus dromedarius*). Analyses immunohistochimiques et ultrastructurales en microscopie électronique en transmission. Thèse de Doctorat, École Normale Supérieure (ENS) de Kouba, Alger. pp. 170.

**Ducornet B, Abiven G, M.-L. Raffin-Sanson** ., 2005. Hypothalamic control of antehypophysial hormone secretion. *EMC-Endocrinologie* 2, 209–230.

**El may, M., El may, A., Bouzakoura, C., Dubois, P. M.,** 1987. Immunocytochemical Evidence for Vasopressin and Oxytocin Pathways in the Hypothalamo-Hypophysial Axis of the Camel (*Camelus dromedarius*). *Général and comparative endocrinology*. 66, 266-273.

**Epelbaum J.**, 2009. Le vieillissement: Rythmes biologiques et hormonaux. Paris : Lavoisier, 284 p.

**Faye,B.** , 1997. Guide de l'élevage du dromadaire. Ed. Sanofi, Libourne, France, 126p.

**Fortaleza E. A. T, Scopinho A. A and. Corre a f. M. A.**2012. paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus mediate cardiovascular responses evoked by the microinjection of noradrenaline into the medial amygdaloid nucleus of the rat brain. *Neuroscience* 219: 157–165.

**Hailer E.W., Wakerley J.B.**1980 .Electrophysiological studies of paraventricular and supraoptic neurones recorded in vitro from slices of rat hypothalamus. *J. Physiol. Lond.* 302, 347.

**Hatton G.I.** 1990, Emerging concepts of structure function dynamics in adult brain: The hypothalamo-neurohypophysal system. *Pog. Neurobiol* 34: 437-504.

**Huchon J-P** .L'être vivant. Paris : L'harmattan , 2003 :284.

**Isacu D.** 2013. Rôle du récepteur EphA4 dans la plasticité structurale neuro-gliale du noyau supraoptique à la suite d'un régime à l'eau salée. Thèse de Doctorat spécialité Pathologie et biologie cellulaires, université de Montréal.

**Ganong,W.**, 2005.Physiologie médicale. Boeck, Bruxelles. 835.

**Gaudichon M.**2010., L'homme au miroir de la science .Paris :L'harmattan. 179.

**Ginsberg SD, Hof PR, Young WG, Morrison JH.**, 1994.Noradrenergic innervation of vasopressin- and oxytocin-containing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of the macaque monkey: quantitative analysis using double-label immunohistochemistry and confocal laser microscopy. *Comp Neurol* (4):476-91.

**Gordon, C.M.**, 2010. Clinical practice. Functional hypothalamic amenorrhea. *N. Engl. J. Med.* 363, 365–371.

**Gouazé, A.**, 2012. Implication de la plasticité cérébrale hypothalamique dans la régulation de l'homéostasie énergétique chez la souris : effet d'un régime gras. Thèse doctorat, Université de Bourgogne, Dijon. 289.

**Grindstaff R., Grindstaff R., Sullivan M., Cunningham J.** 2000. Role of the locus cereleus in baroreceptorregulation of supraopticvasopressinneurons in the rat. *Am J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol* 1 : R306-319.

**Karp.** , 2010.Biologie cellulaire et moléculaire. De Boeck, Bruxelles.816.

**Lane Anthony, Luminet Olivier, et Mikolajczak Moïra.** 2013. Psychoendocrinologie sociale de l'oocytocine. *Cognitive Psychology* 113, 255-285.

**Lecea . De L, Kilduff t. S, Peyron c , Gao x.-b, Foye p. E , Danielson p. E, Fukuhara c, e. L. F. Battenberg , Gautvik v. T, Bartlett ii f. S , Frankel w. N, Van den pol a. N, Bloom f. E, Gautvik k. M, and Sutcliffe j. G., 1998 .The hypocretins: Hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. Neurobiology; Vol. 95, pp. 322–327.**

**Lederis. K.,1960. Vasopressin and SOxytocin in the Mammalian Hypothalamus. General And Comparative Endocrinology 1, 80-89.**

**Legait, H., 1955. Etude histophysiologique et expérimentale du système hypothalamo-neurohypophysaire de la Poule Rhode-Island. Arch. Anat. microsc. 44,823.**

**Leng , G., Caquineau, C., Sabatier, N., 2005.Regulation of oxytocin secretion. Vitam Horm.71:27-58.**

**Leng ,G., Moos .,F. C., Armstrong ,W. E., 2010.The Adaptive Brain: Glenn Hatton and the Supraoptic Nucleus. Journal of Neuroendocrinology. 22,318–329.**

**Liazoghli , D., 2006. Caractérisation de l'interaction des protéines associées aux microtubules,MAP2 et Tau avec les organelle membranaire et le rôle de ces protéines dans le maintien de la structure de ces organelles. Thèse doctorat. Université de Montréal, Canada. 258.**

**Lipschitz, DL., Crowley, WR., Armstrong, WE., Bealer, SL., 2005.Neurochemical bases of plasticity in the magnocellular oxytocin system during gestation. Exp Neurol.196 (2):210-23.**

**Liu QS, Jia YS, Ju G .,1997. Nitric oxide inhibits neuronal activity in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamic slices. Brain Res Bull 43:121–125.**

**Lodish.,Berk., Matsudaira., kaiser., krieger., Scott.,Zipursky., Darnell., 2005.Biologie moléculaire de la cellule .De Boeck, Bruxelles.972.**

**Ludwig M, Callahan MF, Neumann I, Landgraf R, Morris M .,1994. Systemic osmotic stimulation increases vasopressin and oxytocin release within the supraoptic nucleus. J Neuroendocrinol 6:369–373.**

**Mai, J.K., Kedziora, O., Teckhaus, L., Sofroniew, M.V., 1991. Evidence for subdivisions in the human suprachiasmatic nucleus. J. Comp. Neurol. 305, 508–525.**

**Makris Nikos, Swaab. Dick F, van der Kouwe Andre, Brandon Abbs , Boriel Denise, Handa Robert J, Tobet Stuart, Goldstein Jill M ., 2013 . Volumetric parcellation methodology of the human hypothalamus in neuroimaging: Normative data and sex differences. NeuroImage 69, 1–10.**

**Monlezun S , Ouali S, A. Poulain D , Theodosis D T. , 2005. Polysialic acid is required for active phases of morphological plasticity of neurosecretory axons and their glia. Mol. Cell. Neurosci. 29, 516 – 524.**

**Mukassa-mugerwa, E.**, 1985. le chameau: étude bibliographique. CIPEA, Addis-  
abeba.

**Nicolet-Barousse L., Sharshar T., Paillard M., Blanchard A.** 2001. La  
vasopressine : une hormone aux multiples fonctions. Médecine thérapeutique.  
Volume 7, Numéro 10, 757-64.

**Ozaki ,Y., Nomura, M., Saito, J., Luedke, CE., Muglia, LJ., Matsumoto, T.,  
Ogawa, S., Ueta, Y., Pfaff, DW.,** 2004. Expression of the arginine vasopressin gene  
in response to salt loading in oxytocin gene knockout mice. *J Neuroendocrinol.*16  
(1):39-44.

**Paillard M, Froissart M, Blanchard A and Houillier P.** 1995, Bilan de l'eau et de  
l'osmolarité extracellulaire. In: *Encycl Med Chir*, edited by techniques E. Paris  
(France); 10-352-A310.

**Perera ,AD., Lagenaur, CF., Plant, TM.,** 1992. Polysialic acid neural cell adhesion  
molecule (PSA-NCAM or embryonic NCAM) is expressed in the region of the GnRH  
pulse generator of the pubertal rhesus monkey. *Soc Neurosci Abstr* 18:191.

**Perucca Julie,** 2008. Rein,Vasopressine et pression artérielle :importance de la  
concentration de l'urine et du rythme nyctéméral d'excrétion d'eau et de sodium.  
Thèse de doctorat option physiologie et physiopathologie ,université paris VI-Pierre  
Marie Curie-

**Piet Richard; Oliet Stéphane .**2003. Conséquences fonctionnelles de la plasticité  
anatomique sur la transmission synaptique dans le noyau supraoptique chez la rate  
allaitante. Thèse Doctorat option Sciences Biologiques et Médicales; Université de  
Bordeaux II.

**Purves. , Augustine., Fitzpatrick., Hall., Lamantia ., McNamara., Williams. ,**  
2005. *Neurosciences. De Boeck, bruxelles.*810.

**Richard, P., Moos, F., Freund-Mercier, MJ.,** 1991. Central effects of oxytocin.  
*Physiol Rev.*71,331–370.

**Rose J.P, Wu.Ck, Hsiaoc.D, Breslow.E, Wang B.C .** 1996, Crystal structure of the  
neurophysin-oxytocin complex –in *Nat struct.Biol.* 163-169.

**Samson, WK., Lumpkin, MD., McCann, SM.,** 1986. Evidence for a physiological  
role for oxytocin in the control of prolactin secretion. *Endocrinology.*119 (2):554-60.

**Saper, C.B., Chou, T.C., Elmquist, J.K.,** 2002. The need to feed: homeostatic and  
hedonic control of eating. *Neuron* 36, 199–211.

**Spreux-Varoquaux,O .,** 2012. Serotonine aspect biologiques et cliniques.  
*Lavoisier,paris.*516 .

**Summy-Long JY, Bui V, Mantz S, Koehler E, Weisz J, Kadekaro M.**, 1993. Central inhibition of nitric oxide synthase preferentially augments release of oxytocin during dehydration. *Neurosci Lett* 152:190–193.

**Swaab D. F., Nijveld F., Pool C. W.**, 1975. Distribution of oxytocin and vasopressin within the rat hypothalamus. *Acta endocr.*199, 131.

**Swaab ,DF., Bao, AM., Lucassen, PJ.**, 2005. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Res Rev.*;4(2):141-94.

**Theodosis D. T, Chapman d. B, Montagnese c , Poulain d. A, Morris j. F.**,1986. Structural plasticity in the hypothalamic supraoptic nucleus at lactation affects oxytocin-, but not vasopressin-secreting neurones. *Neuroscience* Vol. 17, No. 3. pp. 661-678.

**Theodosis D, Rougon G, Poulain D.**, 1991. Retention of embryonic features by an adult neuronal system capable of plasticity: polysialylated neural cell adhesion molecule in the hypothalamo-neurohypophysial. *Proceedings of the ...* 88,54 4–5498.

**Theodosis, D T., Bonfanti, L., Olive ,S., Rougon, G., Poulain, D A.**, 1994. Adhesion molecules and structural plasticity of the adult hypothalamo-neurohypophysial system. *Psychoneuroendocrinology* 19,455-462.

**Théodosis D.T., El Majdoubi M., PierreK., Poulin D.A.**,1998. Factors governing activity-dependent structural plasticity of the hypothalamoneurohypophysial system. *cell mol. neurobiol.* 18 (2) : 285-298.

**Theodosis, D., Poulain, D.**, 1999. Contribution of astrocytes to activity-dependent structural plasticity in the adult brain. *Adv Exp Med Biol* 468,175–182.

**Theodosis D T.**, 2002. Oxytocin-Secreting Neurons: A Physiological Model of Morphological Neuronal and Glial Plasticity in the Adult Hypothalamus. *Frontiers in Neuroendocrinology.* 23, 101–135.

**Thibault C., Levasseur M.C.**, 2001. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris: Ellipses édition, 917p.

**Tweedle, C D., Hatton , G.**, 1976 .All rights of reproduction in any form reserved. Printed in the U.S.A.Ultrastructural Comparisons of Neurons of Supraoptic and Circularis Nuclei in Normal and Dehydrated Rats. *Brain Research Bulletin.* 1,103-121.

**Voisin DL, Chakfe Y, Bourque C.W.**, 1999. Coincident detection of CSF Na<sup>+</sup> and osmotic pressure in osmoregulatory neurons of the supraoptic nucleus. *Neuron* 24:453–460.