

## **Fondements et principes de la reproduction humaine**

M. Étienne-Émile BAULIEU, membre de l'Institut,  
(Académie des Sciences), professeur

### **I. COURS AU COLLÈGE DE FRANCE**

L'enseignement a porté sur les neurostéroïdes : synthèse et fonction.

En 1981, nous avons découvert dans le cerveau de rat, une quantité appréciable de sulfate de déhydroépiandrostérone (S DHEA). Ce composé, dont nous avons montré la sécrétion surrénalienne chez l'homme, est un dérivé du cholestérol, intermédiaire, dans les glandes endocrines surrénales, testicules et ovaires, au cours de la production des hormones classiques telles que la testostérone et les œstrogènes, hormones sexuelles très actives. Au contraire, le composé sous sa forme sulfate (S DHEA) comme sous sa forme non conjuguée (DHEA) n'avait pas de fonction connue autre que d'être ce produit de passage dans la biosynthèse des hormones.

Sa présence au niveau du cerveau chez le rat, et également chez la souris, le lapin, le cobaye, etc., était particulièrement intrigante dans la mesure où chez ces animaux il n'y a pas de production de DHEA (ou de son sulfate) par les glandes endocrines qui entraînerait une concentration significative du stéroïde dans le sang. La présence dans le cerveau ne pouvait a priori pas s'expliquer par une simple captation par le tissu cérébral à partir du sang : d'où l'hypothèse de « neurostéroïdes », pour suggérer qu'il y avait production (inattendue) de stéroïdes dans le système nerveux. Les recherches ont évolué difficilement au début, car les qualités de neurostéroïdes sont relativement faibles et les expériences très difficiles sur le plan analytique, en particulier quantitatif. Elles ont abouti à la connaissance de tout un réseau de stéroïdes synthétisés et métabolisés dans le cerveau, reproduisant en partie le système endocrinien périphérique. Nous avons recherché la signification physiologique de ce métabolisme, dont les modifications pathologiques pouvaient être partie prenante d'un contexte pathologique chez l'homme. Incidemment, mais d'importance, indiquons que les quelques études que nous avons pu faire dans l'espèce humaine, particulièrement délicates au niveau du cerveau, indique qu'un système neurostéroïdien est également présent

et très probablement actif chez l'homme, justifiant un certain nombre d'hypothèses extrapolant nos explorations animales à des questions physiopathologiques chez l'homme, aussi importantes que plusieurs maladies neurodégénératives, la sclérose en plaque, la réparation de lésions nerveuses traumatiques, et la compréhension de processus mentaux et de comportement, y compris les modifications de l'aptitude de mémoire chez les sujets vieillissant.

### **I.1. Biosynthèse et métabolisme**

Le point important, parce que le plus fondamental, est la transformation de cholestérol en prégnénolone, un composé stéroïde à 21 atomes de carbone qui est le premier stéroïde dans la voie des biosynthèses hormonales. De nombreuses études ont été faites pour prouver la production de prégnénolone à partir de cholestérol, en utilisant des explants, des coupes de tissus cérébraux, des cellules isolées, des homogénats et même des fractions subcellulaires, en utilisant des traceurs radioactifs, cholestérol lui-même ou précurseurs du cholestérol. Toutes les recherches ont été vaines, et nous avons changé la stratégie de notre recherche. L'enzyme, ou plutôt le groupe d'enzymes affectées à la coupure de la chaîne latérale du cholestérol au cours de la formation de prégnénolone ont été purifiées dans plusieurs espèces animales. Le principal facteur est un cytochrome P450 appelé scc (side chain cleavage) dont nous avons obtenu des anticorps. A l'aide de ceux-ci, nous avons pu marquer la substance blanche cérébrale et ainsi soupçonner la participation des cellules oligodendrocytes en charge de la synthèse de la myéline dans le système nerveux central d'être aussi le lieu de formation du stéroïde. Les autres enzymes nécessaires à la transformation cholestérol → prégnénolone ont également été détectées.

Nous avons alors isolé des oligodendrocytes, et montré en culture la possibilité de synthèse de prégnénolone à partir de cholestérol par ces cellules. Nous avons également isolé les mitochondries de ces oligodendrocytes et indiqué qu'ils présentaient l'activité P450<sub>scc</sub>. Ainsi la démonstration primordiale de la formation d'un stéroïde à partir du cholestérol était-elle faite. Bien que faible, elle est significative, et des recherches ultérieures ont prouvé qu'elle donne effectivement lieu à la formation de suffisamment de stéroïdes pour qu'ils soient fonctionnels.

Au contraire, la synthèse de DHEA, pourtant le premier composé isolé comme neurostéroïde, n'a pas été démontré, malgré de nombreux efforts, y compris la recherche des enzymes théoriquement nécessaires, tels que 17-hydroxylase (un autre cytochrome : « P450<sub>C17</sub> »), ou même en utilisant des substrats tout à fait singuliers à la recherche d'une réaction chimique inhabituelle parmi celles proposées par S. Lieberman. Les difficultés expérimentales relèvent du milieu très lipidique des extraits rendant difficiles l'isolement et la purification certaine des stéroïdes, et probablement du turn-over réduit du système de synthèse.

La prégnénolone et la déhydroépiandrostérone sont elles-mêmes métabolisées. Tout particulièrement, nous avons décrit l'enzyme impliquée dans la 7 $\alpha$ -hydroxy-

lation de la prégnénolone et la déhydroépiandrostérone. Les composés formés sont d'activités encore inconnues, mais le processus enzymatique qui les forme est très vigoureux. Les recherches en cours veulent évaluer qu'elle est la signification de cette importante  $7\alpha$ -hydroxylation, quel type d'enzyme est impliqué compte tenu de la  $7\alpha$ -hydroxylation des stéroïdes, dont la plus connue, dans le foie, est opérationnelle dans la synthèse des acides biliaires.

D'autres travaux ont porté sur l'oxydation de la prégnénolone en progestérone, par déshydrogénation catalysée par la  $3\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase ( $3\beta$ -HSD). Nous avons étudié cette enzyme, et compte tenu des travaux de clonage, proposé que c'est l'isoenzyme 1 qui est principalement en cause. Une étude par hybridation in situ a démontré que la  $3\beta$ -HSD est très distribuée dans le cerveau, non seulement dans les cellules gliales, mais aussi dans des neurones, obligeant à l'hypothèse d'un véritable circuit des stéroïdes d'un type cellulaire à l'autre dans certaines circonstances, les modifications chimiques des molécules prenant place successivement sur ces trajets. Une autre enzyme est intéressante, dénommée  $5\alpha$ -réductase, qui entraîne la formation de dérivés réduits telle que, par exemple, la  $5\alpha$ -pregnane-3,20-dione ou  $5\alpha$ -dihydroprogestérone ( $5\alpha$ -DH PROG) à partir de progestérone. Cette enzyme est également très distribuée dans le système nerveux, son isotype 1 étant particulièrement abondant dans la myéline et donc vraisemblablement dans les oligodendrocytes. Une autre étape métabolique des neurostéroïdes implique la  $3\alpha$ -hydrostéroïde oxidoréductase, et en particulier transforme la  $5\alpha$ -DH PROG en tetrahydrodérivé ou allopregnanolone ( $3\alpha$ ,  $5\alpha$ -DH PROG,  $3\alpha$ -hydroxy- $5\alpha$ -pregnane-20-one). La distribution de l'enzyme n'est pas complètement établie, mais il est certain qu'il s'en trouve dans les neurones. La formation de ce dernier composé, et par conséquent la fonction de l'enzyme correspondante, est très importante car il est doué d'activités biologiques sur lesquelles nous revenons ci-dessous.

Si nous commençons à avoir un grand nombre de données sur le métabolisme des stéroïdes dans le cerveau, l'étude est loin d'être complète. Nous n'avons pas encore évalué de façon certaine la production d'œstrogènes, certainement possible à partir de la testostérone importée dans le cerveau, dans la mesure où la formation de testostérone n'a jamais été mise en évidence dans le système nerveux central. D'autre part, la formation de corticostéroïdes (gluco et minéralocorticostéroïdes) n'est pas démontrée de façon formelle, bien que la  $11\beta$ -hydroxylase, enzyme clef dans leur synthèse, pourrait être exprimée, puisque de l'ARN messenger a été mis en évidence récemment dans le tissu cérébral. L'ontogénèse du développement de la stéroïdogénèse cérébrale n'est pas connue, et l'on ne sait que très partiellement ce qui se passe dans le système nerveux périphérique, bien que nous ayons établi la production de prégnénolone dans les cellules de Schwann, et de progestérone par ces mêmes cellules, et également au niveau des neurones. La régulation de la biosynthèse, en particulier à des périodes critiques de la vie, aussi bien qu'au fur et à mesure de l'évolution en âge, n'a pas été étudiée, et si on a montré que l'AMP cyclique peut favoriser la transformation en prégnénolone

dans les cultures gliales, le phénomène n'a pas été étudié *in vivo*, et son ampleur est inconnue. Aucun facteur de croissance ou de stimulation n'a été jusqu'à présent mis en évidence pour influencer la synthèse ou le métabolisme des neurostéroïdes. Parmi les problèmes apparemment accessoires mais en fait très importants du fait de l'activité des stéroïdes conjugués différente de celles des stéroïdes non conjuguées, signalons que l'étude de la sulfotransférase ne donne jusqu'à présent que des résultats peu satisfaisants, car l'importance de l'activité enzymatique n'explique pas la présence relativement importante de sulfate de stéroïde dans le cerveau, et par conséquent le problème très important de transfert de stéroïde sulfate circulant du sang jusque dans les formations cérébrales n'est pas résolu, car les sulfates de stéroïde, relativement hydrosolubles et ionisés, passent mal la barrière hémato-encéphalique, et pour comprendre les quantités assez importantes de sulfates de stéroïde dans le cerveau, la resynthèse de stéroïdes libérés par une sulfatase et reconjugués dans les tissus cérébraux n'est actuellement pas expliquée sur le plan enzymatique, pas plus que la synthèse directe des sulfates.

A propos de stéroïdes conjugués, une autre série de dérivés de la prégnénolone et de la déhydroépiandrostérone doit être envisagée, celle de leurs esters d'acides gras, formant ce qu'on appelle des composés lipoïdiques. La présence de ceux-ci est connue, dans le sang et dans différents tissus ; elle est importante dans le système nerveux. Les mécanismes de formation peuvent être expliqués par l'activité d'enzymes de conjugaison (acyl-tranferase) que nous avons étudiés, mais leur rôle physiologique reste indéterminé. Incidemment, le passage à travers la barrière hémato-méningée de ces dérivés n'est pas connue non plus.

Parmi les questions générales qui restent encore en suspens, il reste à apprécier l'importance quantitative de la stéroïdogénèse nerveuse, et, partant, le destin ultérieur des stéroïdes formés. Il est vraisemblable qu'ils rejoignent la circulation générale, en général sans la modifier de façon importante car les qualités relativement faibles trouvées dans le système nerveux sont minimales par rapport aux sécrétions des glandes classiques. Il n'empêche que les questions de *turn-over* des stéroïdes cérébraux restent inconnues. Il serait pourtant très intéressant de connaître les modifications, par exemple au cours du vieillissement ou pendant certaines affections pathologiques.

## **I.2. Récepteurs des neurostéroïdes**

La question est difficile d'autant qu'elle est encore très incomplètement résolue.

En ce qui concerne les stéroïdes « intermédiaires », tels que la déhydroépiandrostérone, la prégnénolone et leurs sulfates, il n'y a pas jusqu'à présent d'observations qui permettent de décrire un récepteur intracellulaire (« récepteur nucléaire » analogue à ceux des hormones stéroïdes classiques). D'ailleurs, la structure même des stéroïdes en question est très différente de celles des hor-

mones. Quand le neurostéroïde est de la progestérone, ou de la prégnanedione (5 $\alpha$ -DH PROG), la question se pose différemment car on est ramené à des récepteurs « classiques ». C'est ce qui se passe au niveau des cellules de Schwann et des oligodendrocytes où nous avons mis en évidence, par les méthodes de radio-marquage, d'analyse biochimique et d'activité fonctionnelle, l'existence de récepteur de la progestérone semblable au récepteur de la progestérone des organes sexuels classiques. Cependant, et de façon non seulement intéressante, mais éventuellement très importante sur le plan pharmacologique, le récepteur de la progestérone mis en évidence dans les cellules gliales sus-nommées, s'avère après clonage quelque peu différent de celui retrouvé, dans la même espèce, au niveau des organes sexuels et même de certains neurones cérébraux. Le clonage indique en effet des modifications au niveau des acides aminés du domaine de liaison hormonal (ligand binding domain : LBD), posant la question d'une isoforme propre aux cellules gliales. Le clonage n'est pas terminé et l'on ne peut encore se prononcer sur la structure des autres segments du récepteur, tels que le « DNA binding » et la région N-terminal. Au niveau des oligodendrocytes, des expériences sur des cellules *in vitro* ont montré l'induction du récepteur de la progestérone par les oestrogènes, comme dans les tissus sexuels. Au niveau des cellules de Schwann, les études rapportées plus loin confirment l'existence d'un mécanisme de transduction du message de la progestérone tout à fait analogue à celui observé à la périphérie.

Ainsi, dans l'état actuel des recherches, en ce qui concerne la progestérone, on peut décrire un système autocrine, la progestérone étant synthétisée par les cellules gliales où se trouve aussi un récepteur intracellulaire. Le fonctionnement et la régulation d'un tel système reste du domaine de la conjecture.

Nous nous étions initialement intéressés à l'action des stéroïdes dans le système nerveux du fait d'une logique qui voulait que les effets rapides des stéroïdes au niveau de plusieurs fonctions cérébrales soient le résultat d'une interaction avec un récepteur membranaire. Cependant celle-ci est en quelque sorte en compétition avec le passage facile de la membranaire plasmique lipidoprotéique par des molécules stéroïdiennes qui sont très liposolubles. Une série d'observations de pharmacologie a permis de soupçonner, puis a démontré l'existence d'une réponse du récepteur A du GABA à des neurostéroïdes. Il s'agit d'un fonctionnement modifié allostériquement. En effet, la 5 $\alpha$ -TH PROG (5 $\alpha$ -tetrahydroprogestérone, métabolite de la progestérone) agit comme un potentiateur des ligands agonistes du récepteur A du GABA, ainsi d'ailleurs qu'un dérivé 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -réduit de la déoxycorticostérone. Différemment, les sulfates de prégnénolone et de déhydroépiandrostérone sont des antagonistes. Une étude détaillée de l'interaction entre les stéroïdes et le récepteur A du GABA est en cours, rendue difficile par la multiplicité des isoformes du récepteur du GABA<sub>A</sub> en fonction des différentes sous-unités, qu'il est cependant possible d'étudier par des méthodes de transfection. Ce qui est intéressant avec le récepteur A du GABA, c'est que parti d'observations pharmacologiques sommaires anciennes, le concept d'interaction

avec les stéroïdes aboutit à de nouvelles possibilités pharmacologiques et thérapeutiques. On peut par exemple montrer *in vivo* l'effet de simulation et donc d'éveil du sulfate de prégénolone chez des animaux endormis par un anesthésique de type barbiturique (potentiateur du récepteur A du GABA).

Ces observations très remarquées ont entraîné des études au niveau des autres récepteurs des neurotransmetteurs, et les premiers résultats sont très nets. Le récepteur de la glycine, en quelque sorte similaire au récepteur A du GABA dans le système nerveux périphérique, est aussi influencé par des neurostéroïdes. Le récepteur glutamaergique de type NMDA (N-méthyl-D-aspartate) a des interactions avec certains neurostéroïdes dont la fonctionnalité est exactement opposée à celle observée avec le R-GABA<sub>A</sub>. Par exemple le sulfate de prégénolone entraîne la potentiation de l'effet des aminoacides activateurs du récepteur NMDA. Le récepteur de l'acétyl-choline répond à la progestérone de façon négative. Les récepteurs sigma, mal définis moléculairement et par conséquent uniquement étudiés sur le plan fonctionnel, sont fortement influencés par les neurostéroïdes, en particulier le sulfate de DHEA est un activateur, au contraire du sulfate de prégénolone qui est un inhibiteur, alors que la progestérone elle-même se conduit comme un agoniste inverse : ces études ont été faites principalement sur un système hippocampique dans des études *in vitro*, et demandent pour être interprétées que la définition moléculaire des récepteurs sigma ait progressé, ainsi que la connaissance de leur distribution dans le système nerveux.

De nombreuses autres études ont été faites en particulier pour tenter de mettre en évidence des récepteurs de membrane, y compris pour des stéroïdes tels que la progestérone. Dans ce cas, les méthodes utilisent des dérivés macromoléculaires de stéroïdes qui ne peuvent pas entrer dans les cellules et qui par conséquent, s'ils sont actifs, ne peuvent qu'agir au niveau membranaire. Toute une série de résultats est à rapporter, mais aucun pas décisif n'a encore été accompli, que ce soit pour la progestérone ou d'autres stéroïdes « classiques ». Par conséquent, jusqu'à présent, il n'est pas sûr qu'une même cellule nerveuse dans le système nerveux, puisse répondre directement au même stéroïde au niveau membranaire et au niveau d'un récepteur intracellulaire à la fois. Schématiquement, des produits comme la progestérone agissent par un récepteur intracellulaire et des métabolites tels que la 3 $\alpha$ -TH PROG ou le sulfate de prégénolone agissent au niveau de récepteurs de membranes des neurotransmetteurs (dont ils sont des ligands allostériques). Existe-t-il des récepteurs de membrane propres aux stéroïdes, indépendamment d'un autre effet biologique ? La question n'est pas encore résolue. Ceci n'empêche que les études sur les récepteurs sont en conformité avec les résultats obtenus fonctionnellement, qui indiquent que les neurostéroïdes ont des activités au niveau du système nerveux central qui s'ajoutent au système autocrine/paracrine déjà évoqué.

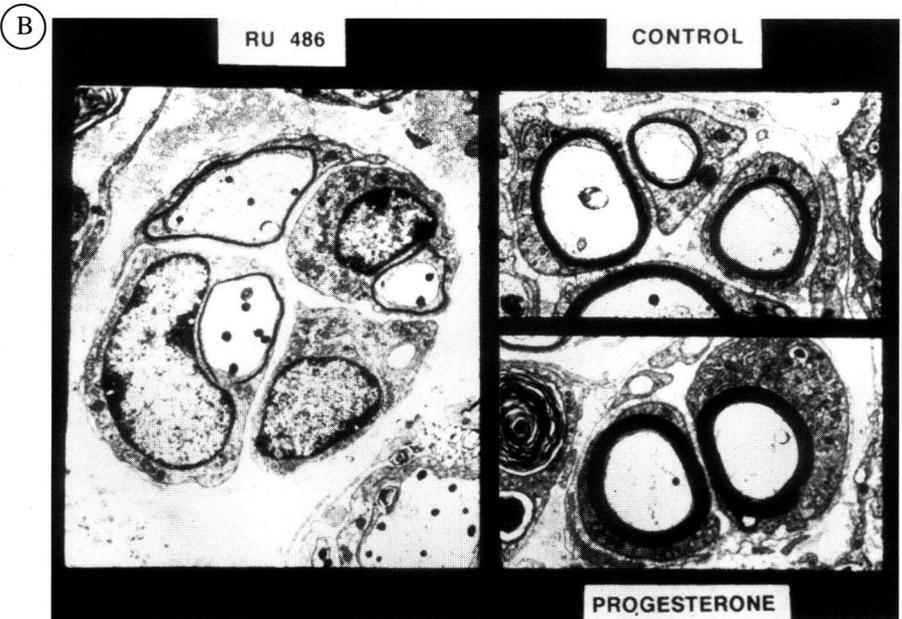
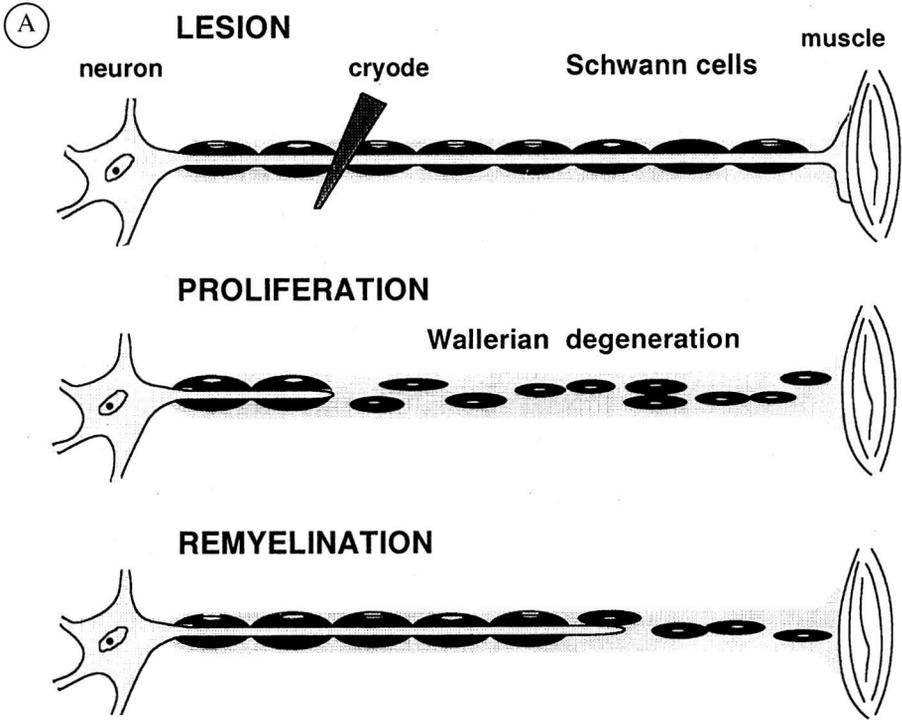
### I.3. Effets trophiques

Compte tenu de l'existence de stéroïdes tels que la progestérone, dont le mécanisme d'action implique la modification de l'expression des gènes de différentes protéines dans leur activité au niveau des organes sexuels périphériques, nous avons été tentés de chercher un effet impliquant un effet « génomique » de certains neurostéroïdes. Afin de simplifier la question, nous nous sommes adressés à la production des protéines de la myéline par les cellules gliales spécialisées, oligodendrocytes et cellules de Schwann. Nous avons commencé par les cellules de Schwann dans la mesure où il nous semblait que le système nerveux périphérique était plus accessible, en particulier un nerf important comme le sciatique, et que nous avons pu démontrer la présence de très importantes quantités de prégnénolone inexplicables par les teneurs sanguines dans le nerf sciatique chez l'homme. C'est pourquoi les études ont été entreprises en utilisant d'abord un modèle *in vivo* d'altération du nerf sciatique, coupé à l'aide d'une cryode à  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et dont la réparation neuronale et myélinique est bien quantifiée chez l'animal. La démonstration a été faite que l'on pouvait *in vivo* accélérer la réparation de la myélinisation du nerf sciatique après sa blessure dans les circonstances indiquées. Nous avons pu démontrer que la progestérone en accélérât le processus de myélinisation, ainsi que l'ajout de son précurseur, la prégnénolone, mais que quand nous avons supprimé la formation de progestérone par le Trilostane ou empêché l'action de la progestérone par le RU486, on avait au contraire un ralentissement de cette myélinisation (figure et photo). Ce résultat *in vivo* a été quantifié de façon précise indiquant que dans ces conditions, c'était bien la myélinogénèse qui était impliquée : il n'y avait pas d'indication de modification au niveau des axones sous l'influence des stéroïdes. Les études *in vivo* ont confirmé les résultats *in vivo*. La myélinisation est accélérée en culture de neurite issue du ganglion des racines postérieures. Ici aussi une étude détaillée montre l'effet sur la myélinisation de concentrations de progestérone très faibles (20nM).

### I.4. Aspects comportementaux des neurostéroïdes

Bien entendu les connaissances ici sont parcellaires, et ne peuvent justifier une théorie d'ensemble. Cependant la participation des neurostéroïdes à plusieurs types de comportement animal est maintenant tout à fait évidente.

Par exemple quand deux rats de sexes différents sont séparés par un grillage qui ne permet pas qu'ils rentrent en contact physiquement, même s'ils peuvent respirer l'odeur de l'autre et par conséquent être influencés par une phéromone, le taux de prégnénolone dans le bulbe olfactif du rat mâle diminue de moitié en présence d'une femelle, si on le compare à ce qui se passe en présence d'un autre mâle. Ce phénomène de reconnaissance sexuelle attestée par la baisse de prégnénolone est indépendant de toute réaction des glandes endocrines chez l'animal, cependant que la castration en empêche l'accomplissement permis à nouveau par l'administration de testostérone. De la même façon le signal phéromonale de la



Légende de la figure et des microphotographies

- ← Après une lésion du nerf sciatique de souris, à l'aide d'une cryode réfrigérée, l'axone du neurone dégénère, et les cellules de Schwann prolifèrent : elles vont aider à la régénération de l'axone, et produisent plusieurs facteurs trophiques à cet effet. Se faisant, elles remyélinisent le nerf, ainsi qu'il est indiqué sur la partie A de la figure. Après environ 15 jours, la myéline, indiquée par le trait noir qui entoure les axones sur la partie B, atteint spontanément une certaine épaisseur. Cependant si l'on a introduit dans la lésion, soit un inhibiteur de la synthèse de la progestérone, soit l'antiprogestérone RU486 qui agit au niveau du récepteur que nous avons mis en évidence dans les cellules de Schwann, on voit que la couche de myéline est très réduite. La vérification de cet effet antiprogestérone est démontré par l'action opposée de la progestérone elle-même, ajoutée pour éliminer l'effet antagoniste du RU486. Les expériences qui se rapportent à ce sujet (Koenig et coll., *Science*, 268, 1500-1503, 1995) ont indiqué une nouvelle voie de recherche thérapeutique pour des maladies démyélinisantes, y compris la sclérose en plaque dans le système nerveux central au niveau duquel les travaux se poursuivent.

femelle est dépendant des hormones féminines, puisque la castration de la rate femelle signal en supprime apparemment l'émission, ou en tout cas l'efficacité.

Une autre série d'exemples est à relever au niveau de l'agressivité manifestée par des souris mâles castrées quand une souris allaitante est introduite dans leur cage (modèle de Haug). La DHEA à petite dose supprime ce comportement d'agressivité. Nous avons vérifié qu'il ne s'agissait pas d'un effet de testostérone formée comme métabolite de la DHEA (bien que la testostérone elle-même soit active) en mesurant la présence de testostérone dans le cerveau. Nous avons également utilisé un analogue de la DHEA qui ne peut pas se transformer en testostérone et qui reste cependant actif. Nous avons mis en évidence les modifications de la biosynthèse et/ou du métabolisme des neurostéroïdes dans le cerveau à l'occasion de cette réponse agressive et de l'effet de la DHEA : en particulier il y a baisse du sulfate de prégnénolone, stéroïde antagoniste du récepteur A du GABA, ce qui par conséquent peut jouer un rôle « calmant ». Toute une série de modifications du métabolisme étudiée par les mesures de stéroïdes comme par l'administration de différents composés a été opérée, montre la grande plasticité du système, et l'intérêt des conclusions que l'on peut en tirer pour modifier le comportement animal.

Dans plusieurs autres domaines, l'intérêt comportemental des neurostéroïdes a été testé : c'est par exemple le cas de dérivés analogues de la  $3\alpha$ -TH PROG, calmant, anxiolytiques, au contraire de l'excitation provoqué par le sulfate de prégnénolone et de ses analogues susceptibles de hâter le réveil d'animaux endormis par un dérivé barbiturique. Les deux types de stéroïdes sont susceptibles d'entraîner des modifications corrélatives du sommeil, qui ont même été analysées

chez l'homme en étudiant les encéphalogrammes dans des conditions expérimentales, arbitraires, mais néanmoins prometteuses de progrès ultérieurs.

Les plus récents travaux portent sur les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation. Les tests utilisés sont des manœuvres assez classiques d'apprentissage et de reconnaissance du milieu, ou la mesure du chemin dans des labyrinthes en Y (test de Le Moal et Simon) ou aqueux (test de la piscine de Moriss). Par exemple des recherches ont démontré que le sulfate de prégénolone pouvait s'opposer à l'effet inhibiteur sur la mémoire de la scopolamine. Par ailleurs, il a été mis en évidence que, au cours du vieillissement, la concentration du sulfate de prégénolone diminue dans l'hippocampe des rats, mais que cette baisse était très inégale selon les animaux. Remarquablement, il y a corrélation entre l'aptitude révélée par les tests de mémoire et la concentration de sulfate de prégénolone dans l'hippocampe chez les rats âgés. Une correction par l'administration de sulfate de prégénolone permet de donner une indication pharmacologique complémentaire à ce résultat physiologique tout à fait intéressant, non seulement d'un point de vue théorique mais aussi parce qu'il ouvre la porte à des corrections thérapeutiques de l'affaiblissement de la mémorisation chez les sujets âgés.

En conclusion, depuis les premières observations de Selye indiquant la propriété anesthésiante de certains métabolites stéroïdes (ce qui déjà donna lieu à une méthode d'assistance anesthésique il y a plus de 20 ans) à la découverte de la synthèse du métabolisme de stéroïdes dans le cerveau, il y a continuité et véritable changement qualitatif et quantitatif. L'intégration des données sur les neurostéroïdes dans le complexe physiopathologie cérébrale est évidemment encore hors de portée dans l'immédiat, mais de très nombreux laboratoires considèrent maintenant l'importance des problèmes posés et sans doute doit-on s'attendre à des explications et des applications importantes dans nombre d'affections neurologiques.

## II. SÉMINAIRES AU COLLÈGE DE FRANCE

### II.1. Neurostéroïdes : Synthèse et fonctions

— 9 Janvier : Pr Constantino SOTELO, Directeur de Recherche au CNRS, Directeur de l'Institut Fédératif de Recherches des Neurosciences, « Transplantation neurale pour l'étude de la migration neuronale ».

— 16 Janvier : Pr Yves AGID, Professeur de Neurologie, « Vie et mort de neurone ».

— 23 Janvier : Dr Bernard ZALC, Directeur de Recherche à l'INSERM, et Dr Catherine LUBETZKI, Praticien Hospitalier de Neurologie, « Signaux axonaux de myélinisation dans le système nerveux central ».

— 30 Janvier : Dr Michel HAMON, Directeur de Recherche à l'INSERM, « Récepteur de la sérotonine et stress ».

— 6 Février : Pr Olivier LYON-CAEN, Professeur de Neurologie, « Sclérose en plaques : de la biologie au traitement ».

## **II.2. Recherches nouvelles sur la reproduction humaine**

— 16 Février : Pr Alfred SPIRA, Directeur de Recherche à l'INSERM, Nathalie BAJOS et Béatrice DUCOT (INSERM), « Évolution du recours aux différentes méthodes contraceptives et protection contre les MST ».

— 23 Février : Henri LERIDON, Directeur de Recherche à l'INED, « Pratique de la contraception et évolution de la fécondité en France et dans le monde ».

## **III. COURS DU COLLÈGE DE FRANCE DISPENSÉS A L'EXTÉRIEUR**

— Munich, 29 Novembre-1<sup>er</sup> Décembre 1995 : Étienne Baulieu a dirigé un Symposium Spécial de l'Institut Max-Planck pour la Psychiatrie et du Collège de France : « Neurostéroïdes und Hirnfunktion ». Y participait aussi ses collaborateurs, les Drs Paul Robel, Michael Schumacher et François Monnet.

## **IV. ACTIVITÉS DE RECHERCHE**

E.-E. Baulieu impulse et coordonne les recherches de plusieurs domaines, tous originellement en rapport avec la production, le métabolisme et les effets physiologiques, pathologiques et thérapeutiques des stéroïdes hormonaux. Les recherches principales ont porté sur les études analytiques et fonctionnelles des récepteurs des cinq principales hormones stéroïdiennes (œstrogènes, progestines, androgènes, glucocorticostéroïdes et minéralocorticostéroïdes). Elles se sont développées avec la découverte de protéines associées à ces récepteurs et par là même susceptibles d'en modifier le fonctionnement. Deux catégories de protéines ont été mises en évidence, à la suite d'études biochimiques et de biologie moléculaire : d'une part des protéines de choc thermique et en particulier celle de poids moléculaire ~ 90 000 daltons (hsp90), et d'autre part des immunophilines, et en particulier celles liant l'immunosuppresseur FK506 et dont le poids moléculaire apparent est de ~ 59 000 daltons (FKBP59).

Les travaux ont porté également sur les neurostéroïdes, composés dont la synthèse et le métabolisme ont lieu dans le système nerveux, et dont les fonctions commencent à être révélées après que aient été, pendant plusieurs années, essen-

tiellement étudiés leur production et leur métabolisme au plan strictement biochimique.

Par ailleurs, des travaux de recherches biocliniques sont coordonnés par Étienne Baulieu, en dehors de l'unité de recherche INSERM : ils portent essentiellement sur les applications médicales de la mifépristone (RU486) et sur l'étude de la déhydroépiandrostérone (DHEA) et de son sulfate (S DHEA) au cours du vieillissement.

#### **IV.1. Récepteurs des hormones stéroïdes, protéines de choc thermique et immunophilines**

Les travaux portent en premier lieu sur les protéines de choc thermique. Nous avons décrit la protéine aviaire hsp90 $\beta$  et son promoteur. L'intérêt est d'avoir découvert dans l'espèce poulet cette deuxième protéine de choc thermique (hsp90 $\alpha$  a été clonée précédemment dans notre laboratoire), la présence de deux isoprotéines étant d'ailleurs commune à toutes les espèces animales jusque-là étudiées. Cette hsp90 $\beta$  ne présente pas les mêmes caractéristiques de régulation que l' $\alpha$ , étant moins sensible au stress. Son rôle physiologique est en cours d'étude.

Un autre travail a consisté en l'étude *in vivo* de protéines et segments nucléique purifiés, analysant l'interaction d'un récepteur (celui des œstrogènes) avec l'ADN d'un « hormone response element » (HRE) d'une protéine régulée par l'œstradiol, en fonction de la présence et de la quantité de la protéine de choc thermique hsp90. Des résultats très clairs ont indiqué une compétition pour la liaison au récepteur entre l'ADN et l'hsp90. La réversibilité des réactions en indique le potentiel pour une régulation physiologique hsp90-récepteur, et en particulier la possibilité de diminuer le signal stimulant la transcription en fonction de l'augmentation de la concentration de la protéine de choc thermique. Les études approfondies de l'interaction entre l'hsp90 et les récepteurs des œstrogènes et d'autres récepteurs en particulier celui du minéralocorticostéroïde ont montré les analogies et les différences selon les cas, en particulier en utilisant des mutants de délétion de la protéine de choc thermique, faisant suite aux travaux de l'année précédente.

En ce qui concerne les immunophilines, et en particulier la FK506-binding protein de poids moléculaire 59 000 (FKBP59), nos travaux ont porté sur leur distribution subcellulaire, découvrant des associations au niveau nucléaire, avec l'appareil de la mitose, et avec le cytosquelette. D'autre part, des études structurales par résonance magnétique nucléaire ont indiqué la structure secondaire du domaine de la FKBP59 liant l'immunosuppresseur FR506.

Sur le plan fonctionnel, un des chercheurs du laboratoire (M. Renoir) a contribué, avec un groupe américain, à suggérer que la FKBP59 était impliquée dans le transfert des récepteurs des glucocorticostéroïdes du cytoplasme au noyau, en

utilisant un anticorps spécifique, contre la région intermédiaire entre les premier et deuxième domaines de la FKBP59. Des études de fonctionnalité utilisant des immunosuppresseurs ligand des immunophilines, ont envisagé l'effet de ces composés sur la transcription de gènes spécifiques induits ou réprimés par les hormones stéroïdes. Les résultats sont complexes, dans la mesure où les mêmes effets ne sont pas obtenus dans des cellules différentes, même si les immunosuppresseurs, les stéroïdes et les gènes à transcrire sont identiques dans tous les cas. Le rôle possible de la protéine de choc thermique et les immunophilines a été discuté au cours d'essais où on a utilisé la cyclosporine A et la réponse aux glucocorticostéroïdes du gène du virus murin des tumeurs mammaires.

Autre résultat très remarquable parce que spectaculaire bien qu'également sans signification physiologique ou pharmacologique encore bien établie, celui qui a indiqué le transfert spécifique d'un récepteur cytoplasmique de la progestérone vers le noyau par la cyclosporine A.

Enfin, des recherches en cours (non publiées) indiquent l'existence d'une nouvelle protéine, cible commune pour FKBP12 et FKBP59, ce qui confirmerait l'importance potentielle de la FKBP59 dans les voies de signalisation intracellulaires auxquelles participe, le cas est bien établi à présent, la FKBP12. Par là-même on recoupe les hypothèses premières évoquées lors de la découverte de la FKBP59 dans notre laboratoire, à savoir la possible interaction entre le système de réponse aux hormones stéroïdes et ceux impliqués par l'utilisation des drogues immunostimulantes. Les applications médicales sont potentiellement importantes, et cela justifie la continuation de ces travaux.

## IV.2. Neurostéroïdes

Les travaux sont en expansion continue, dans notre laboratoire et ailleurs. Nous avons, avec le Pr Sjövall de l'Institut Karolinska, continué à étudier la  $7\alpha$  hydroxylation des dérivés du cholestérol : l'importance probable de ces études sur le plan physiologique est d'approfondir la destinée du cholestérol lui-même à la source de la synthèse des neurostéroïdes dans les cellules du système nerveux. Une étude par hybridation in situ des ARN messagers a été entreprise pour étudier les isotypes de la  $3\beta$ -hydroxystéroïde déhydrogénase/ $\Delta 5$ - $\Delta 4$ -isomérase ( $3\beta$ -HSD) dans le cerveau de rat, en charge de la formation de prégénolone à partir de la progestérone.

L'étude des neurostéroïdes pour moduler les récepteurs des neurotransmetteurs s'est poursuivie. En particulier, nous avons montré la modulation du récepteur A du GABA dans sa variété  $\alpha 6\beta 2\gamma 2$  qui donne des résultats différents de ceux obtenus avec des récepteurs ayant des sous-unités différentes. La multiplicité des isotypes du récepteur GABA<sub>A</sub> laissait prévoir ce type de résultats très importants sur le plan physiologique et peut être pharmacologique. D'autre part, via le récepteur du GABA<sub>A</sub>, nous avons montré qu'un métabolite de la progestérone

synthétisé dans le cerveau, stimule directement la sécrétion de GnRH, le peptide stimulant la libération d'hormones de l'ovulation LH. Ce résultat a été obtenu au niveau de neurones hypothalamiques en culture, et confirme la complexité et la régulation très fine du système neuroendocrinien sexuel. Un travail très systématique a permis de montrer l'effet des neurostéroïdes sur ce qu'on appelle les récepteurs sigma, à l'aide d'un système impliquant l'effet du récepteur du N-méthyl-D-aspartate (NMDA) dans le métabolisme de la norépinéphrine au niveau de l'hippocampe de rat. Les résultats sont extrêmement intéressants car ils montrent la différence de régulation selon qu'il s'agit de composés pourtant voisins tels que le sulfate de DHEA (régulateur positif) et le sulfate de prégnénolone (régulateur négatif) sans compter l'activité agoniste inverse de la progestérone (qui peut être d'origine périphérique ou nerveuse).

Une série d'études menées en collaboration avec le Pr Koenig et ses collègues de Bordeaux a permis de révéler une fonction nouvelle de la progestérone, qui ne se comporte pas en tant qu'hormone sexuelle puisque son action a été mise en évidence chez l'animal de sexe masculin. Il s'agit de l'effet de la progestérone pour accélérer la formation de myéline au niveau du nerf sciatique chez des animaux qui ont subi une lésion due à un refroidissement intensif local. Ce travail a montré la synthèse de progestérone par les cellules de Schwann, cellules gliales propres au système nerveux périphérique, et l'effet de celle-ci in vivo et in vitro, sur la myélinisation des axones. Les recherches ont mis en œuvre des méthodes de microchirurgie, de microscopie électronique, de culture de cellules, et l'utilisation de précurseurs stéroïdiens, d'antagonistes de la biosynthèse et d'antihormones. L'importance de ce résultat est qu'il ouvre une voie nouvelle dans la maîtrise de la myélinisation. Le but est de transférer ces observations à un système humain et au niveau des oligodendrocytes, cellules myélinisantes du système nerveux central dont nous avons montré préalablement qu'il contenait également du récepteur de la progestérone (d'ailleurs en cours d'étude après clonage). Ces recherches sur la myélinisation évoquent la possibilité d'ouvrir de nouvelles voies thérapeutiques dans les nombreuses maladies neurodégénératives. Il peut également s'agir des problèmes posés par la sclérose en plaques ou de lésions traumatiques.

Ces résultats très nets sont de très grande importance, mais ils doivent être considérés comme seulement inauguraux, en ce sens qu'il faut les faire évoluer vers une meilleure compréhension de l'effet éventuel, probable, des neurostéroïdes et particulièrement de la progestérone au niveau des oligodendrocytes, et d'examiner si les résultats obtenus chez les petits rongeurs sont applicables à l'homme. Au niveau des oligodendrocytes, ainsi qu'il a été indiqué plus haut, on trouve un récepteur de la progestérone, mise en évidence par des méthodes de liaison et immunocytochimiques. Sa spécificité hormonale n'est pas encore établie, non plus que les conditions de la régulation de sa concentration in vivo. Des résultats préliminaires ont été obtenus en culture, et par exemple des cellules marquées par un anticorps révélant la protéine basique de la myéline deviennent plus

nombreuses en cas de stimulation pour la progestérone. Il en est de même pour l'activité de la CNPase. Il n'y a cependant pas d'effet de la progestérone sur la croissance cellulaire que nous ayons jusqu'à présent mis en évidence, alors qu'on peut modifier celle-ci par des facteurs de croissance (PGDF, NGF), en particulier en présence d'œstrogènes. Les recherches actuelles comprennent également une étude plus détaillée des interactions entre neurones et cellules gliales dans le contrôle de la myélinogénèse, en particulier celui qui dépend des hormones stéroïdes. Les protéines spécifiques de la myéline périphérique et de la myéline centrale ont été clonées et on rapporte déjà les résultats obtenus sur la transcription sous l'influence de la progestérone dans les cellules transfectées. Un certain nombre de progestines est testé pour examiner s'il y a une spécificité pharmacologique potentielle, qui serait de grand intérêt thérapeutique.

Dans un ordre d'idées différent, sur le plan comportemental, des études très poussées ont indiqué l'effet de différents neurostéroïdes chez les rats et les souris, en particulier sur leur agressivité dans le modèle de Haug que nous étudions depuis plusieurs années. Ce sont la combinaison des mesures de stéroïdes dans le cerveau et l'utilisation de différents inhibiteurs de la synthèse de ces stéroïdes qui permettent des déductions ensuite corroborées ou infirmées par des expériences d'administration par voie générale ou in situ dans le cerveau. D'autre part, des études en cours, en collaboration avec le laboratoire du Pr Le Moal à Bordeaux, indiquent l'intervention de certains neurostéroïdes dans le mécanisme de la mémoire (en particulier spatiale), et précisément sur la perte de ce type de mémoire au cours du vieillissement de l'animal, et, ici également, la transposition à l'homme est tentante, mais nécessite encore des études très poussées.

### **IV.3. Études cliniques avec le RU486 et la DHEA**

Différents travaux ont été menés en collaboration avec des services d'obstétrique et gynécologie en France et à l'étranger. Citons tout particulièrement les recherches pour mettre au point une méthode de contraception nouvelle en utilisant de très faibles doses du produit. Les premières étapes de ces travaux sont très avancées par la collaboration établie avec le Pr Bygdeman, de l'Institut Karolinska à Stockholm. Les études pour l'amélioration, c'est-à-dire un moindre risque physique, de l'interruption de grossesse à différentes périodes après l'arrêt des règles, se sont poursuivies : la dose de RU486 et l'étude de prostaglandine ont été étudiées en détail. En gynécologie également, une recherche en collaboration avec le Pr Yen, à l'Université de Californie à San Diego, a montré l'intérêt du produit dans l'endométriose. Enfin, et très différemment l'utilisation du RU486 dans le traitement de tumeurs métastasées de type myosarcomateux au niveau de l'os, a donné des résultats remarquables chez un patient suivi par le Dr Lioté à l'hôpital Lariboisière, permettant l'arrêt de la diffusion de la maladie et la régression des métastases.

Enfin, les recherches sur la DHEA sont poursuivies selon deux modalités. D'une part avec le Pr J.C. Dartigues (Université de Bordeaux), le Dr C. Berr (INSERM) et le Pr Debuire (hôpital Paul Brousse), une grande étude épidémiologique greffée sur les recherches « PAQUID » est en cours de rédaction, après que les observations aient porté sur l'évolution de sujets de 65 ans et plus depuis 8 ans, en fonction de leurs taux sanguins de sulfate de déhydroépiandrostérone (S DHEA). Les résultats sont extrêmement intéressants, des corrélations positives ayant été enregistrées en ce qui concerne les aptitudes à une vie moins difficile, et, chez les hommes seulement, avec la longévité. Le document devrait paraître en fin d'année 1996. Une étude préliminaire portant sur un petit groupe de patients hospitalisés, a été publiée.

D'autre part, un protocole très précis permettant l'étude de doses adéquates d'administration orale de DHEA chez des sujets de 60 ans et plus, a été mis au point avec le Pr F. Forette, le Pr J. Ménard, et nos collaborateurs. Il doit être opérationnel mi-1996 et constituer une étude de pharmacologie indiquant les effets immédiats du produit sur plusieurs composés endocriniens. Un protocole de longue durée (1 an) et portant sur 300 personnes est en cours d'établissement pour étudier l'effet de la DHEA sur de nombreux paramètres du vieillissement, y compris les fonctions cérébrales, cardio-vasculaire, les muscles, la peau, le système osseux et plusieurs paramètres hormonaux et immunologiques. La mise en route du protocole est prévue à la fin de l'année 1996.

## V. PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

### V.1. Publications scientifiques par Étienne Baulieu et collaborateurs

MENG X., BAULIEU E.E. et CATELLI M.G. Isolation of chicken hsp90 $\beta$  gene promoter. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **206**, 644-651, 1995.

ZHANG J., AKWA Y., BAULIEU E.E., et SJOVALL, J. 7 $\alpha$ -hydroxylation of 27-hydroxycholesterol in rat brain microsomes. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, **318**, 345-349, 1995.

PERROT-APPLANAT M., CIBERT C., GERAUD G., RENOIR J.M., et BAULIEU E.E. The 59 kDa FK506-binding protein, a 90 kDa heat shock protein binding immunophilin (FKBP59-HBI), is associated with the nucleus, the cytoskeleton and mitotic apparatus. *Journal of Cell Science*, **108**, 2037-2051, 1995.

EL-ETR M., AKWA Y., FIDDES R.J., ROBEL P. et BAULIEU E.E. A progesterone metabolite stimulates the release of gonadotropin-releasing hormone from GT1-1 hypothalamic neurons via the  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **92**, 3769-3773, 1995.

LE GOASCOGNE C., SANANES N., EYCHENNE B., GOUEZOU M., BAULIEU E.E. et ROBEL P. Androgen biosynthesis in the stomach : expression of cytochrome P450 17 $\alpha$ -hydroxylase/17,20-lyase messenger ribonucleic acid and protein, and metabolism of pregnenolone and progesterone by parietal cells of the rat gastric mucosa. *Endocrinology*, **136**, 1744-1752, 1995.

HAUSER C.A.E., CHESNOY-MARCHAIS D., ROBEL P. et BAULIEU E.E. Modulation of recombinant  $\alpha_6\beta_2\gamma_2$  GABA<sub>A</sub> receptors by neuroactive steroids. *European Journal of Pharmacology*, **289**, 249-257, 1995.

MONNET F.P., MAHE V., ROBEL P. et BAULIEU E.E. Neurosteroids via  $\sigma$  receptors, modulate the [<sup>3</sup>H]norepinephrine release evoked by *N*-methyl-D-aspartate in the rat hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **92**, 3774-3778, 1995.

KOENIG H.L., SCHUMACHER M., FERZAZ B., DO THI A.N., RESSOUCHES A., GUENNOUN R., JUNG-TESTAS I., ROBEL P., AKWA Y. et BAULIEU E.E. Progesterone synthesis and myelin formation by Schwann cells. *Science*, **268**, 1500-1503, 1995.

RENOIR J.M., MERCIER-BODARD C., HOFFMANN K., LE BIHAN S., NING Y.M., SANCHEZ E.R., HANDSCHUMACHER R.E. et BAULIEU E.E. Cyclosporin A potentiates the dexamethasone-induced mouse mammary tumor virus-chloramphenicol acetyltransferase activity in LMCAT cells : A possible role for different heat shock protein-binding immunophilins in glucocorticosteroid receptor-mediated gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **92**, 4977-4981, 1995.

GUENNOUN R., FIDDES R.J., GOUEZOU M., LOMBES M. et BAULIEU E.E. A key enzyme in the biosynthesis of neurosteroids, 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase/ $\Delta^5$ - $\Delta^4$ -isomerase (3 $\beta$ -HSD), is expressed in rat brain. *Molecular Brain Research*, **30**, 287-300, 1995.

ROBEL P., YOUNG J., CORPECHOT C., MAYO W., PERCHE F., HAUG M., SIMON H. et BAULIEU E.E. Biosynthesis and assay of neurosteroids in rats and mice : functional correlates. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **53**, 355-360, 1995.

JUNG-TESTAS I., LEBEAU M.C., CATELLI M.G. et BAULIEU E.E. Cyclosporin A promotes nuclear transfer of a cytoplasmic progesterone receptor mutant. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, **318**, 873-878, 1995.

ROUVIÈRE-FOURMY N., CRAESCU C.T., MISPELTER J., LEBEAU M.C. et BAULIEU E.E. <sup>1</sup>H and <sup>15</sup>N assignment of NMR spectrum, secondary structure and global folding of the immunophilin-like domain of the 59 kDa FK506-binding protein. *European Journal of Biochemistry*, **231**, 761-772, 1995.

BINART N., LOMBES M. et BAULIEU E.E. Distinct functions of the 90 kDa heat-shock protein (hsp90) in oestrogen and mineralocorticosteroid receptor activity : effects of hsp90 deletion mutants. *Biochemical Journal*, **311**, 797-804, 1995.

AUBENY E., PEYRON R., LARQUIER TURPIN C., RENAULT M., TARGOSZ V., SILVESTRE L., ULMANN A. et BAULIEU E.E. Termination of early pregnancy (up to and after 63 days of amenorrhea) with mifepristone (RU486) and increasing doses of misoprostol. *International Journal of Fertility*, **40**, 85-91, 1995.

LEGRAIN S., BERR C., FRENOY N., GOURLET V., DEBUIRE B. et BAULIEU E.E. Dehydroepiandrosterone sulfate in a long-term care aged population. *Gerontology*, **41**, 343-351, 1995.

KETTEL L.M., MURPHY A.A., MORALES A.J., ULMANN A., BAULIEU E.E. et YEN S.C. Treatment of endometriosis with the antiprogestone mifepristone (RU486). *Fertility and Sterility*, **65**, 23-28, 1996.

YOUNG J., CORPECHOT C., PERCHE F., EYCHENNE B., HAUG M., BAULIEU E.E. et ROBEL P. Neurosteroids in the mouse brain : behavioral and pharmacological effects of a  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor. *Steroids*, **61**, 144-149, 1996.

SABBAH M., RADANYI C., REDEUILH G. et BAULIEU E.E. The 90 kDa heat-shock protein (hsp90) modulates the binding of the oestrogen receptor to its cognate DNA. *Biochemical Journal*, **314**, 205-213, 1996.

## V.2. Articles de revue par Étienne Baulieu et collaborateurs

MESTER J. et BAULIEU E.E. Nuclear receptor superfamily. In « *Endocrinology* ». (DeGroot, L.J., ed), Vol. 1, 3<sup>e</sup> édition, pp. 93-118, 1995, W.B. Saunders Company, Philadelphia.

PEYRON R., ULMANN A. et BAULIEU E.E. La mifépristone (RU486) : actualités, perspectives. *La Presse Médicale*, **24**, 295-298, 1995.

BAULIEU E.E. Studies on dehydroepiandrosterone (DHEA) and its sulphate during aging. *Comptes Rendus des Séances de l'Académie des Sciences de Paris*, **318**, 7-11, 1995

BAULIEU E.E. The combined use of prostaglandin and antiprogestin in human fertility control. In « *Advances in Prostaglandin, Thromboxane, and Leukotriene Research* ». Proceedings of the Ninth International Conference on Prostaglandins and related Compounds, Florence, Italy. (B. Samuelsson, P.W. Ramwell, R. Paoletti, G. Folco, E. Granström, S. Nicosia, eds), pp. 55-62, vol. 23, 1995, Raven Press, New York.

BAULIEU E.E. Chairman's introduction. In « *Non-Reproductive Action of Sex Steroids* ». Proceedings of the Ciba Foundation Symposium 191, pp. 1-6, 1995, John Wiley & Sons, Chichester.

BAULIEU E.E. et ROBEL P. Non-genomic mechanisms of action of steroid hormones. In « *Non-Reproductive Actions of Sex Steroids* ». Proceedings of the Ciba Foundation Symposium 191, pp. 24-42, 1995, John Wiley & Sons, Chichester.

BAULIEU E.E. Foundations and principles of human reproduction. Perspectives in Biology and Medicine, **38**, 640-658, 1995.

SCHUMACHER M. et BAULIEU E.E. Neurosteroids : synthesis and functions in the central and peripheral nervous systems. In « Non-Reproductive Actions of Sex Steroids ». Proceedings of the Ciba Foundation Symposium, held at London, 30 Août-1<sup>er</sup> septembre 1994, pp. 90-121, 1995, John Wiley & Sons, Chichester.

ROBEL P. et BAULIEU E.E. Neurosteroids : biosynthesis and function. Critical Reviews in Neurobiology, **9**, 383-394, 1995.

BAULIEU E.E. Is the hsp90 connection between steroid receptors and immunosuppressant binding immunophilins involved in the control of gene transcription and cell growth ? In « Hormonal Carcinogenesis II ». (J.J. Li, S.A. Li, J-A. Gustafsson, S. Nandi, L.I. Sekely, eds), pp. 150-155, 1996, Springer-Verlag, New York.

BAULIEU E.E. The combined use of prostaglandin and antiprogestin in human fertility control. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, **65**, 115-119, 1996.

BAULIEU E.E. et SCHUMACHER M. Synthesis and functions of neurosteroids. In « The Brain : Source and Target for Sex Steroid Hormones ». Proceedings of the 1st Tuscania Conference on Reproductive Medicine, Pise, Italie, 13-14 Mai 1996. (A.R. Genazzani, F. Petraglia, R.H. Purdy, eds), pp. 5-24, 1996, The Parthenon Publishing Group, New York.

BAULIEU E.E. Aspects hormonaux du vieillissement : études de la DHEA. In « Une femme sous influence. Les androgènes chez la femme de la naissance au IV<sup>e</sup> âge », pp. 105-115, 1996, Schering.

### **V.3. Travaux scientifiques publiés par des collaborateurs du laboratoire**

ROBEL P., GIULIANO F. et RAMPIN O. Risques potentiels des inhibiteurs de la 5 $\alpha$ -réductase pour le comportement sexuel masculin. Andrologie, **5**, 230-235, 1995.

JOULIN V. et RICHARD-FOY H. A new approach to isolate genomic control regions. Application to the GATA transcription factor family. European Journal of Biochemistry, **232**, 620-626, 1995.

DOUCET-BRUTIN S., RENOIR M., LE GALLIC L., VINCENT S., MARTY L. et FORT P. Growth-regulated expression of FKBP-59 immunophilin in normal and transformed fibroblastic cell. Experimental Cell Research, **220**, 152-160, 1995.

MAKRIGIANNAKIS A., MARGIORIS A.N., LE GOASCOGNE C., ZOUMAKIS E., NIKAS G., STOURNARAS C., PSYCHOYOS A. et GRAVANIS A. Corticotropin-releasing hormone (CRH) is expressed at the implantation sites of early pregnant rat uterus. Life Sciences, **57**, 1869-1875, 1995.

THOREUX-MANLAY A., LE GOASCOGNE C., SEGRETAI D., JEGOU B. et PINON-LATAILLADE G. Lead affects steroidogenesis in rat Leydig cells in vivo and in vitro. *Toxicology*, **103**, 53-62, 1995.

CZAR M.J., LYONS R.H., WELSH M.J., RENOIR J.M. et PRATT W.B. Evidence that the FK506-binding immunophilin heat shock protein 56 is required for trafficking of the glucocorticoid receptor from the cytoplasm to the nucleus. *Molecular Endocrinology*, **9**, 1549-1560, 1995.

#### **V.4. Articles de revue publiés par des collaborateurs du laboratoire**

MENG X. et CATELLI M.G. Hsp90 et signalisation par les hormones stéroïdes. *Les cahiers Imabio*, **16**, 73-79, 1996.

LEBEAU M.C. In memoriam : a tribute to work of Alexander Psychoyos. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **81**, 1670-1671, 1996.

#### **V.5. Communications à des congrès scientifiques par Étienne Baulieu et ses collaborateurs**

Communications présentées au « 77th Annual Meeting of the Endocrine Society ». Washington, DC, 14-17 juin 1995.

YOUNG J., CORPECHOT C., COUZINET B., BAULIEU E.E., ROBEL P. et SCHAISON G. The neuroactive steroid allopregnanolone contributes to the hypnotic effect of progesterone, p. 317, abstract n° P2-108.

CADEPOND F., JIBARD N., SCHWEIZER-GROYER G., SEGARD-MAUREL I. et BAULIEU E.E. Transcriptional properties of mutated glucocorticosteroid receptor (GR) derivatives coexpressed with wild-type GR, p. 415, abstract n° P2-499.

JUNG-TESTAS I., LEBEAU M.C., CATELLI M.C. et BAULIEU E.E. Cyclosporin A promotes nuclear transfert of a NLS minus progesterone receptor mutant, p. 422, abstract n° P2-527.

YOUNG J., CORPECHOT C., EYCHENNE B., BAULIEU E.E. et ROBEL P. Pharmacological manipulation of TH DOC levels in rodent brain, p. 604, abstract n° P3-543.

Communication présentée au « Fifth International Congress on Hormones and Cancer ». Québec City, 16-20 septembre 1995.

CHAO T-S.O., SCHUMACHER M., PREMONT J., SHAZAND K., ROBEL P. et BAULIEU E.E. Rapid induction of the myelination-essential Krox-20 gene, calcium influx, and MAP kinase activity by progesterone in rat Schwann cells, p. 98, abstract n° 55.

Communications présentées au « 12th International Symposium of the Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology ». Berlin, 21-24 mai 1995.

JUNG-TESTAS I., SCHUMACHER M., ROBEL P. et BAULIEU E.E. Myelinating glial cells of the CNS and PNS express progesterone receptors. Abstract n° 49P.

LE BIHAN S., MERCIER-BODARD C., BAULIEU E.E. et RENOIR J.M. Rapamycin and FK506 inhibit the progestin-induced transcription of MMTV-CAT in T47D cell, contrary to the potentiation produced in LMCAT on dexamethasone-induced transcriptional activity of MMTV-CAT. Abstract n° 58P.

Communication présentée à l'« International Symposium on DHEA Transformation into Androgens and Estrogen in Target Tissues : Intracrinology ». Québec City, 13-15 septembre 1995.

BAULIEU E.E. Dehydroepiandrosterone (DHEA) is a neuroactive neurosteroid, p. 37, abstract n° S27.

Communication présentée aux « 4<sup>e</sup> Journées des Sciences de la Vie ». Paris, 5-6 juillet 1995.

SANANES N., BAULIEU E.E. et LE GOASCOGNE C., Expression de FKBP59 dans le testicule.

Communication présentée au « 11th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology ». Human Reproduction, 10, abstract book 2. Hamburg, 28 juin-1<sup>er</sup> juillet 1995.

BAULIEU E.E. Antigestagens : mechanism of action and clinical uses of RU486, p. 29, abstract n° 058.

Communication présentée à la « 5<sup>e</sup> Journée de la Recherche ». Faculté de Médecine Paris-Sud, 21 novembre 1995.

LE GOASCOGNE C., SANANES N., GOUZOU M., BAULIEU E.E., ROBEL P. Expression d'enzymes de la stéroïdogenèse : localisation par immunohistochimie et hybridation in situ, p. 10.

Communications présentées au « 25th Annual Meeting of the Society for Neuroscience ». San Diego, Californie, 11-16 novembre 1995.

SCHUMACHER M., AKWA Y., DO THI N.A., FERZAZ B., GUENNOUN R., KOENIG H. et BAULIEU E.E. Progesterone synthesized by Schwann cells promotes myelin formation. Abstract n° 135.8.

GUENNOUN R., SCHUMACHER M., GOUZOU M., ROBERT F., SHAZAND K., ROBEL P. et BAULIEU E.E.  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase/ $\Delta^5$ - $\Delta^4$  isomerase, a key enzyme in the biosynthesis of neurosteroids, is expressed in the rat nervous system. Abstract n° 423.17.

EL-ETR M., AKWA Y., FIDDES R.J., SHAZAND K., ROBEL P. et BAULIEU E.E. Progesterone (PROG) stimulates the release of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) from GT1-1 neurons, but not via the GABA<sub>A</sub> receptor as does its metabolite  $3\alpha$ -hydroxy- $5\alpha$ -pregnan-20-one (TH PROG). Abstract n° 547.10.

Communication présentée au « Deuxième Congrès Européen sur les Fonctions Gliales chez le Sujet Saint ou Pathologique ». Arcachon, 21-25 avril 1996.

JUNG-TESTAS I., SCHUMACHER M., ROBEL P. et BAULIEU E.E. Demonstration of progesterone receptors in rat Schwann cells and their non-inductibility by estrogen, p. 50, abstract n° A71.

PELLISIER P., ROBERT F., CORPECHOT C., RESSOUCHES A., BAULIEU E.E., SCHUMACHER M. et KOENIG H. Sexual dimorphism in progesterone-induced myelination of regenerating peripheral nerves, p. 70-71, abstract n° B36.

ROBEL P., YOUNG J., LE GOASCOGNE C., TONON M.C., LACHAPELLE F., VAUDRY H., BAUMANN N. et BAULIEU E.E. Increased progesterone levels in the brain of dysmyelinic mutant mice, p. 78, abstract n° B53.

ROBERT F., EYCHENNE B., DELESPIERRE B., SCHUMACHER M. et BAULIEU E.E. Adult rat Schwann cells convert pregnenolone to progesterone in the absence of neurone, p. 78, abstract n° B54.

Communication présentée au « 9th European Workshop on Molecular and Cellular Endocrinology of the Testis ». Higland Hotel, Geilo, Norway, 14-19 avril 1996.

LE GOASCOGNE C., SANANES N. et BAULIEU E.E. Stage-specific expression of the immunophilin FKBP59 mRNA and protein during differentiation of the male germ cells, p. D8.

Communications présentées au « 10th International Congress of Endocrinology » de l'Endocrine Society. San Francisco, 12-15 juin 1996.

YOUNG J., COUZINET B., NAHOUL K., BAULIEU E.E. et SCHAISON G. Dehydroepiandrosterone (DHEA) metabolism in patients with panhypopituitarism, p. 47, abstract n°OR3-1.

LE BIHAN C., MERCIER-BODARD C., BAULIEU E.E. et RENOIR J.M. Cross-talk between immunosuppressants, cyclophilin 40, FKBP59, P-glycoprotein, Ca<sup>++</sup>/calmodulin kinase(s), and glucocorticosteroid-induced gene transcription in mouse fibroblasts, p. 194, abstract n° P1-239.

Communications présentées au « 61th Symposium on Function & Dysfunction in the Nervous system ». Cold Spring Habor Laboratory, New York, 29 mai-5 juin 1996.

VALLEE M., MAYO W., CORPECHOT C., YOUNG J., LE MOAL M., BAULIEU E.E., ROBEL P. et SIMON H. Neurosteroids and cognitive deficits in aged rats : correlation with low pregnenolone sulfate in hippocampus.

SCHUMACHER M., DESARNAUD F., FERZAZ B., DO-THI N.A., GUENNON R., ROBERT F., SUTER U., PATEL P.I., GIULIANO F., KOENIG H. et BAULIEU E.E. Neurosteroids : progesterone synthesis in Schwann cells and effects on myelin repair.

Communication présentée au « IX World Congress on Human Reproduction and Vth World Conference on Fallopian Tube in Health and Disease ». Philadelphie, 28 mai-1<sup>er</sup> juin 1996.

LEBEAU M.C., JUNG-TESTAS I., CATELLI M.G., MASSOL N., ROUVIERE N., RADANYI C., CHAMBRAUD B. et BAULIEU E.E. Heat shock proteins and immunophilins in association with steroid hormone receptors. Abstract n° 193.

### V.6. Communications à des congrès scientifiques par des collaborateurs du laboratoire

Communications présentées au « 77th Annual Meeting of the Endocrine Society ». Washington, DC, 14-17 juin 1995.

CHANSON P., PANTEL J., YOUNG J., BIDART J.M. et SCHAISON G. Plasma hLH $\beta$  subunit in patients with pituitary adenoma, p. 121, abstract n° P1-36.

MAKRIGIANNAKIS A., MARGIORIS A., ZOUMAKIS E., LE GOASCOGNE C., NIKAS G., STOURNARAS C., PSYCHOYOS A. et GRAVANIS A., The corticotropin-releasing hormone (CRH) gene is expressed in the implantation sites of the early pregnant rat uterus, p. 131, abstract n° P1-74.

COUZINET B., YOUNG J., CHANSON P., BRAILLY S., THOMAS J.L. et SCHAISON G. The androgen receptor does not mediate the antigonadotropic activity of the progestin, norgestrel acetate in women, p. 559, abstract n° P3-364.

Communication présentée au « 14th Joint Meeting of the British Endocrine Societies ». Warwick, 27-30 mars 1995. J. Endocrinol., suppl. 144.

COLLINS B.E., CORPECHOT C., CAREY M.P., TSOUROS A., ROBEL P. et FRY J.P. Brain progesterone metabolism during the mouse estrus cycle. Abstract n° P277.

Communications présentées au « 12th international Symposium of the Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology ». Berlin, 21-24 mai 1995.

CZAR M.J., RENOIR M., PRATT W.B. Potential role for hsp56 in the nuclear trafficking of the glucocorticoid receptor. Abstract n° 81 Pbis.

## VI. THÈSE DE DOCTORAT DES SCIENCES

### ET HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES SOUTENUES EN 1995-1996

— Octobre 1995 : **Xia Meng**, « Clonage et régulation du gène hsp90 $\beta$  de poulet. Mutagenèse de l'hsp90 : dimérisation, localisation subcellulaire et interaction *in vivo* avec le récepteur des œstrogènes », Université Paris VI (thèse).

— Mai 1996 : **François Monnet**, « Aspects fonctionnels des récepteurs sigma dans le système nerveux central », Université de Paris XI (habilitation).

## VII. CONFÉRENCES ET PARTICIPATIONS A DES RÉUNIONS SCIENTIFIQUES

Étienne Baulieu a participé à :

— 26<sup>e</sup> Congrès de l'International Society of Psychoneuroendocrinologie, Munich, septembre 1995.

— Conférence à l'Université de Lubeck, septembre 1995.

— Colloque Interacadémique « Créer et Découvrir » à l'occasion du Bicentenaire de l'Institut de France, Paris, septembre 1995.

— Conférence Laudat « Démyélinisation et Remyélinisation », Aix-les-Bains, septembre 1995.

— Congrès International sur la transformation de la DHEA, Québec, septembre 1995.

— Conférence à l'Université de Chicago (Département de Médecine), septembre 1995.

— Colloque International de Biologie Cellulaire et Biologie du Développement, Institut Curie, Paris, octobre 1995.

— Symposium sur Reproductive Health, a Human Right and Pillar of Human Dignity, Szeged, octobre 1995.

— 4<sup>es</sup> Journées Niçoises de Formation Médicale Continue sur le Vieillissement, Nice, octobre 1995.

— Assises : SIDA Sociétés et Populations de l'Association Équilibres et Populations, Paris, octobre 1995.

— 7<sup>e</sup> Forum Le Monde Le Mans : « Jusqu'ou tolérer ? », Le Mans, octobre 1995.

— Symposium Schering « Une femme sous influence : les androgènes chez la femme de la naissance au quatrième âge », Paris, novembre 1995.

— Réunion de la Société d'Endocrinologie Autrichienne. Conférence Spéciale : « New therapeutic dimension of DHEA », Vienne, novembre 1995.

— Cours de Formation Professionnelle Continue : Séminaire : « Vieillissement », Paris, novembre 1995.

— Deuxième Congrès Pharmaceutique de Tunisie : « Récepteurs hormonaux, antihormones et maîtrise de la fertilité », Monastir, novembre 1995.

— XXIX<sup>es</sup> Journées de Gériatrie : « La DHEA faits et perspectives », Paris, novembre 1995.

— L'enseignement des régulations cellulaires de l'hôpital Universitaire Paul Brousse : « Des récepteurs des hormones stéroïdes, les protéines de choc thermique et les immunophilines communiquent-ils ? », Villejuif, novembre 1995.

— La Célébration du Centenaire du Testament d'Alfred Nobel, organisée par la Fondation Nobel, Paris, novembre 1995.

— Conseil Consultatif Scientifique de la Société pharmaceutique Ligand à La Jolla (Californie) et développement des collaborations avec l'Institut Salk, la Scripps Clinic et l'Université de Californie à San Diego, décembre 1995.

— Conférences du Centre de Recherches Biocliniques sur le vieillissement de l'hôpital Charles foix, Ivry-sur-Seine, janvier 1996.

— 7<sup>e</sup> réunion du « Myelin Project », Madonna, Di Campiglio, janvier 1996.

- Réunion de l'International Longevity Centre-France, janvier 1996.
- Séminaire thérapeutique et vieillissement, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Xavier Arnoz, Bordeaux, janvier 1996.
- Journées d'Étude et de Formation Pluridisciplinaire de skin and Body, Paris, janvier 1996.
- Journée Gynéco-Endocrinologique du Pr Netter : « Activités biologiques et utilisation de suppléance de la DHEA », Paris, février 1996.
- Fondation ERASME, « Les neurostéroïdes : rôle dans le fonctionnement cérébral et implications possibles dans le vieillissement », Bruxelles, mars 1996.
- Séminaire à l'Institut de Pharmacologie Schering, « Cell selectivity of steroid actions-genomic and nongenomic mechanisms », Berlin, mars 1996.
- Festival International de film de femmes du Val-de-Marne séance spéciale du mouvement Français pour le Planning familial, Créteil, mars 1996.
- Séance Annuelle du Lion's Club au profit de la recherche médical, Athis-Paray, mars 1996.
- Conférence à l'Institut Français et à l'Académie des Sciences de Sophia (Bulgarie), avril 1996.
- Congrès International d'Esthétique Appliquée, Paris, avril 1996.
- Symposium Neuroendocrine de la Société de Physiologie anglaise : « Non reproductive sex steroids », Londres, avril 1996.
- Étude en collaboration pour le projet Biomed de la Commission Européenne, Bruxelles, mai 1996.
- Symposium en hommage à Marcel Bessis : « La mort cellulaire », Paris, mai 1996.
- Première Conférence de Toscane sur la médecine de la reproduction : « The brain : source and target for sex steroid hormones », Pise, mai 1996.
- Forum National d'Évaluation Interdisciplinaire de Gynécologie, Biarritz, mai 1996.
- Symposium de Cold Spring Harbor Laboratory : « Function and dysfunction in the nervous system », New York, mai-juin 1996.
- Colloque International de l'Académie des Sciences et de l'Académie des Sciences Morales et Politiques : « Aspects du vieillissement : des effets socio-économiques à la biologie moléculaire ». Fondation Singer-Polignac, Conférence plénière sur les aspects physiologiques et pathologiques du vieillissement chez l'homme, Paris, juin 1996.
- Association Internationale des chercheurs sur le cortisol et les anticortisols (IARCA), Fillerval, juin 1996.
- Conférence de la Fondation Européenne Charcot sur la myélinisation et la démyélinisation au cours de la sclérose en plaques, « Les effets de la progestérone », Vienne, Juillet 1996.

Participation des membres du laboratoire :

**Dr Maria-Grazia Catelli**

— École Imabio (CNRS) « Chaperons moléculaires », Luminy, Marseille, octobre 1995.

— Vaccination antitumorale, Toulouse, février 1996.

— Cold Spring Harbor Symposium, « Chaperons moléculaires et hsp », USA, mai 1996.

**Dr Marie-Claire Lebeau**

— IXth World Congress on Human Reproduction : « Application of molecular biology to reproductive medicine-Basic and clinical », Philadelphie, mai-juin 1996.

**Stéphane le Bihan**

— 5<sup>e</sup> Congrès International Hormones et Cancer, Québec, septembre 1995.

**Dr Michel Renoir**

— American Association for Cancer Research Meeting, Stevenson, Washington, juin 1996.

— 10th International Congress of Endocrinology, San Francisco, juin 1996.

**Dr Paul Robel**

— Colloque INSERM « Interaction neurones cellules gliales », Chantilly, octobre 1995.

**Dr Nathalie Rouvière**

— Stage de formation organisé par l'EMBO sous la direction du Pr R. Kaptein : « Multidimensional NMR in structural biology », Turin, août 1995.

— International Meeting of Biochemical Society, Dublin, août 1995.

**Dr Michael Schumacher**

— Colloque INSERM « Interaction neurones cellules gliales », Chantilly, octobre 1995.

— Symposium de Cold Spring Harbor Laboratory : « Function and dysfunction in the nervous system » (New York), mai-juin 1996.

## VII. DISTINCTIONS

Étienne Baulieu a été nommé :

— First Kappelin Professor of Psychiatry, Max Planck Institute de Munich, 1995.

Maria-Grazia Catelli a reçu le Prix Louis Darracq 1996 de l'Académie des Sciences.

### VIII. ACTIVITÉS DIVERSES

Étienne Baulieu préside le Conseil Scientifique de l'Association Équilibre et Populations. Il est secrétaire adjoint de l'Association de Secours des Amis des Sciences. Il est membre du Conseil Scientifique de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP). Il est membre du Comité Scientifique Consultatif du Nouveau Marché. Il a été nommé membre du Comité Consultatif National d'Éthique pour les Sciences de la Vie et de la Santé.

Paul Robel (Directeur de Recherche au CNRS) préside l'ARTP (Association de Recherche sur les Tumeurs de la Prostate) et est membre du Conseil de la Faculté de Médecine Paris-Sud.