

La GnRH à travers le règne animal

par Olivier Kah, Christèle Lethimonier & Jean-Jacques Lareyre*

Endocrinologie Moléculaire de la Reproduction, UMR CNRS 6026, Campus de Beaulieu, Rennes, France ;

** INRA SCRIBE, Campus de Beaulieu, Rennes, France.*

Correspondance : olivier.kah@univ-rennes1.fr

Reçu le 8 décembre 2003

RÉSUMÉ

En tant qu'acteur clef de l'axe cérébro-hypophyso-gonadique, la GnRH (Gonadotropin-Releasing Hormone) a fait l'objet, essentiellement chez les Vertébrés, d'un nombre considérable de recherches. Des études biochimiques, moléculaires, neuroanatomiques, pharmacologiques et physiologiques, principalement chez les Mammifères, mais aussi chez les Poissons, ont conduit à une connaissance détaillée des systèmes à GnRH hypophysiotropes et de la GnRH en tant que facteur de libération des gonadotrophines hypophysaires. Il est à présent admis que les neurones à GnRH se développent à partir de l'épithélium olfactif et migrent, au cours de l'organogenèse, dans le cerveau antérieur pour établir des connexions avec l'éminence médiane chez les Tétrapodes ou l'hypophyse chez les Poissons Téléostéens. Cependant, tous les Vertébrés possèdent un second système à GnRH, exprimant dans des neurones du synencéphale un variant connu sous le nom de chicken GnRH-II dont les fonctions sont méconnues. De plus, de nombreuses espèces de Poissons Téléostéens présentent une troisième forme, le salmon GnRH, dont l'expression est limitée à des neurones des systèmes olfactifs et du télencéphale ventral projetant largement dans l'ensemble du cerveau et à un degré moindre vers l'hypophyse. Chez les Vertébrés, des peptides de type GnRH sont également exprimés dans les gonades où ils agissent sur la prolifération cellulaire ainsi que la

stéroïdogenèse chez les mâles et sur la réinitiation de la méiose et l'apoptose de la granulosa chez les femelles. Il est possible que de telles fonctions représentent l'un des rôles ancestraux de la GnRH puisqu'un nombre croissant d'études chez les Invertébrés met en évidence des connexions plus ou moins directes entre des neurones sensoriels et les gonades. D'après ces études, la GnRH serait un peptide très ancien qui aurait émergé au plus tard chez les Cnidaires, considérés comme les premiers animaux possédant un système nerveux. Outre les Cnidaires, des peptides de type GnRH ont été caractérisés partiellement chez quelques classes d'Invertébrés tels que les Mollusques, les Echinodermes et les Prochordés chez lesquels des effets de la GnRH sur la reproduction, notamment la libération des gamètes ou la stéroïdogenèse, ont été décrits. Il est possible qu'avec la complexité croissante des Métazoaires, les neurones à GnRH aient perdu leurs connexions directes avec la gonade et se soient spécialisés dans le contrôle de nouveaux centres de régulation, tels que l'hypophyse chez les Vertébrés ou la glande optique chez les Céphalopodes. Néanmoins, les fonctions de la GnRH au niveau gonadique auraient été conservées grâce à une production locale de peptides. L'ensemble de ces données suggère que la GnRH était impliquée dans le contrôle de la reproduction avant l'appropriation des cellules gonadotropes hypophysaires.

SUMMARY Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) in metazoa

As a major actor of the brain-pituitary-gonad axis, GnRH has received considerable attention, mainly in vertebrates. Biochemical, molecular, neuroanatomical, pharmacological and physiological studies have mainly focused on the role of GnRH as a gonadotrophin-releasing factor and have led to a detailed knowledge of the hypophysiotrophic GnRH system, primarily in mammals, but also in fish. It is now admitted that the corresponding neurons develop

from the olfactory epithelium and migrate into the forebrain during embryogenesis to establish connections with the median eminence in tetrapods or the pituitary in teleost fish. However, all vertebrates possess a second GnRH system, expressing a variant known as chicken GnRH-II in neurons of the synencephalon, whose functions are still under debate. In addition, many fish species express a third form, salmon GnRH, whose expression is restricted to neurons of the olfac-

tory systems and the ventral telencephalon, with extensive projections in the brain and a minor contribution to the pituitary. In vertebrates, GnRHs are also expressed in the gonads where they act on cell proliferation and steroidogenesis in males, and apoptosis of granulosa cells and reinitiation of meiosis in females. These functions could possibly represent the primitive roles of GnRH-like peptides, as an increasing number of studies in invertebrate classes point to a more or less direct connection between GnRH-producing sensory neurons and the gonads. According to recent studies, GnRHs appear as very ancient peptides that emerged at least in the cnidarians, the first animals with a nervous system. GnRH-like peptides have been partially characterized in several classes of

invertebrates notably in molluscs, echinoderms and prochordates in which effects on the reproductive functions, notably gamete release and steroidogenesis, have been evidenced. It is possible that, with the increasing complexity of metazoa, GnRH neurons have lost their direct connection with the gonad to specialize in the control of additional regulatory centers such as the hypophysis in vertebrates or the optic gland in cephalopods. However, reminiscent effects of GnRH functions at the gonadal level would have persisted due to local production of GnRHs in the gonad itself. Altogether, these data indicate that GnRHs were involved in the control of reproduction long before the appearance of pituitary gonadotrophs.

Depuis la découverte de la GnRH au début des années 70, plus de 25 000 articles ont été consacrés à divers aspects de la biologie de ce peptide. Cet intérêt constant est motivé par les nombreuses applications cliniques et agro-industrielles de la GnRH, mais aussi par le fait que les circuits à GnRH centraux constituent un système particulièrement étonnant de contrôle de la fonction gonadique. En effet, il est à présent bien démontré, tout au moins chez les Vertébrés, que sans libération de GnRH, il n'y a pas de reproduction. C'est en 1856 qu'Aureliano Maestre de San Juan, titulaire de la première chaire d'histologie en Espagne, décrit pour la première fois la relation entre une absence de structures olfactives et une atrophie des organes génitaux (Maestre de San Juan, 1856), menant la voie à la description du syndrome de Kallmann (Kallmann *et al.*, 1944) qui illustre la forte dépendance de la fonction gonadique vis-à-vis du développement d'une structure sensorielle périphérique. On sait en effet que cet hypogonadisme est lié à un défaut de migration des neurones à GnRH qui, normalement, se développent à partir de la partie médiane de l'épithélium olfactif pour ensuite migrer le long du nerf olfactif durant l'embryogenèse. À la puberté, la libération finement contrôlée de la GnRH au voisinage des cellules gonadotropes de l'hypophyse permet le développement normal de la fonction gonadique.

Pour le biologiste, ceci pose le problème de comprendre comment un mécanisme aussi complexe de contrôle de la fonction gonadotrope a pu se mettre en place au cours de l'évolution et l'un des moyens dont nous disposons est de nous intéresser à l'évolution de ces systèmes à GnRH chez les métazoaires.

LA GnRH CHEZ LES VERTÉBRÉS : DEUX OU TROIS VARIANTS SONT EXPRIMÉS DANS LE CERVEAU

Il existe chez les Vertébrés 14 variants de la GnRH (Tableau I) dont huit sont retrouvés chez les Poissons Téléostéens lesquels ont largement contribué à la connais-

sance des circuits à GnRH, puisque c'est dans ce groupe qu'a été montrée pour la première fois l'existence de deux formes de GnRH chez la même espèce (Yu *et al.*, 1988). Tous ces peptides sont issus d'un long précurseur, le préproGnRH, qui comporte un peptide signal, le décapeptide GnRH, un tripeptide de clivage (GKR) et un GAP (GnRH-Associated Peptide). L'analyse des séquences disponibles des ADNc de ces préproGnRHs montrent que ces différents variants sont le produit de trois gènes différents, mais dont la structure est conservée (4 exons et trois introns) ce qui suggère une origine commune (Fig. 1).

La branche 1 (type 1) regroupe des séquences de Mammifères, d'Amphibiens et de Poissons générant divers variants (mGnRH, gpGnRH, cfGnRH, frGnRH, sbGnRH et mdGnRH). L'ensemble des données disponibles montre que le produit de ces ADNc s'expriment dans les neurones à GnRH du cerveau antérieur et représentent la forme hypophysiotrope « classique », ces neurones projetant soit vers l'éminence médiane (tétrapodes), soit dans l'hypophyse antérieure (Poissons Téléostéens). Il n'existe malheureusement pas de séquences disponibles chez les Oiseaux et les Reptiles, mais il y a tout lieu de penser que ces espèces possèdent également un gène apparenté à cette branche.

La branche 2 (type 2) regroupe toutes les séquences codant pour des précurseurs de la forme chicken GnRH-II. Faute de séquences d'Amphibiens, de Reptiles et d'Oiseaux, dans cette branche ne figurent que deux rameaux, l'un regroupant des séquences de Téléostéens, l'autre des séquences de Mammifères. Il est intéressant de noter que l'une des formes de Lamproie (lamprey I), dont l'ADNc a été cloné, se retrouve dans cette dernière branche. Là encore, il y a tout lieu de penser que ce gène est présent chez les Amphibiens, les Reptiles et les Oiseaux puisque le variant chicken GnRH-II a été caractérisé biochimiquement chez toutes les classes de Vertébrés où il s'exprime majoritairement au niveau du mésencéphale rostral. Les fonctions précises de cette population cellulaire à chicken GnRH-II, très conservée chez l'ensemble des Vertébrés, sont pour l'instant sujettes à spéculation (revue Pawson *et al.*, 2003).

TABLEAU I. – Séquences primaires des différents variants de GnRH identifiés chez les Poissons Téléostéens, les autres Vertébrés, les Tuniciers et le Poulpe. Dans chaque cas les séquences sont comparées à celle du GnRH de type 1 de Mammifères (mGnRH). La séquence du facteur de conjugaison de la levure est donnée pour mémoire (les résidus de la région N-terminale commun avec la séquence du mGnRH sont soulignés). On peut voir que dans toutes les séquences de Vertébrés, à l'exception de celles de Lamproie, les résidus en position 1-4, 6, 9-10 sont très conservés.

Téléostéens													
Mammalian GnRH	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-NH2	(Matsuo <i>et al.</i> , 1971)		
Chicken GnRH-II	—	—	—	—	His	—	Trp	Tyr	—	—	(King <i>et al.</i> , 1990)		
Pejerrey GnRH	—	—	—	—	Phe	—	—	Ser	—	—	(Montaner <i>et al.</i> , 2001)		
Seabream	—	—	—	—	—	—	—	Ser	—	—	(Powel <i>et al.</i> , 1994)		
Salmon GnRH	—	—	—	—	—	—	Trp	Leu	—	—	(Sherwood <i>et al.</i> , 1983)		
Catfish GnRH	—	—	—	—	His	—	—	Asn	—	—	(Bogerd <i>et al.</i> , 1992)		
Herring GnRH	—	—	—	—	His	—	—	Ser	—	—	(Carolsfeld <i>et al.</i> , 2000)		
Whitefish GnRH	—	—	—	—	—	—	Met	Asn	—	—	(Adams <i>et al.</i> , 2002)		
Autres Vertébrés													
Mammalian GnRH	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-Nh2	(Matsuo <i>et al.</i> , 1971)		
Chicken GnRH-II	—	—	—	—	His	—	Trp	Tyr	—	—	(Miyamoto <i>et al.</i> , 1984)		
Guinea pig GnRH	—	Tyr	—	—	—	—	Val	—	—	—	(Jimenez-L. <i>et al.</i> , 1997)		
Chicken GnRH-I	—	—	—	—	—	—	—	Gln	—	—	(Miyamoto <i>et al.</i> , 1982)		
Frog GnRH	—	—	—	—	—	—	—	Trp	—	—	(Yoo <i>et al.</i> , 2000)		
Dogfish GnRH	—	—	—	—	His	—	Trp	Leu	—	—	(Lovejoy <i>et al.</i> , 1992)		
Lamprey GnRH-I	—	—	Tyr	—	Leu	Glu	Trp	Lys	—	—	(Sower <i>et al.</i> , 1993)		
Lamprey GnRH-III	—	—	—	—	His	Asp	Trp	Lys	—	—	(Sower <i>et al.</i> , 1993)		
Tuniciers													
Mammalian GnRH	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-NH2	(Matsuo <i>et al.</i> , 1971)		
tGnRH-1	—	—	—	—	Asp	Tyr	Phe	Lys	—	—	(Adams <i>et al.</i> , 2003)		
tGnRH-2	—	—	—	—	Leu	Cys	His	Ala	—	—	(Adams <i>et al.</i> , 2003)		
tGnRH-3	—	—	—	—	—	Gly	Phe	Met	—	—	(Adams <i>et al.</i> , 2003)		
tGnRH-4	—	—	—	—	Asn	Gln	—	Thr	—	—	(Adams <i>et al.</i> , 2003)		
tGnRH-5	—	—	—	—	—	Glu	Tyr	Met	—	—	(Adams <i>et al.</i> , 2003)		
tGnRH-6	—	—	—	—	Lys	—	Tyr	Ser	—	—	(Adams <i>et al.</i> , 2003)		
tGnRH-7	—	—	—	—	—	Ala	—	Ser	—	—	(Adams <i>et al.</i> , 2003)		
tGnRH-8	—	—	—	—	Leu	Ala	—	Ser	—	—	(Adams <i>et al.</i> , 2003)		
tGnRH-9	—	—	—	—	Asn	Lys	—	Ala	—	—	(Adams <i>et al.</i> , 2003)		
Invertébrés													
Mammalian GnRH	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-NH2	(Matsuo <i>et al.</i> , 1971)		
Octopus GnRH	Asn	Tyr	Phe	—	Asn	—	Trp	His	—	—	(Iwakoshi <i>et al.</i> , 2002)		
Yeast α -mating factor													
Trp	His	Trp	Leu	Gln	Leu	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Met	Tyr-NH2	(Loumaye <i>et al.</i> , 1982)

La branche 3 (type 3) ne renferme pour l'instant que des séquences codant pour un variant particulier de la GnRH qu'on ne trouve que chez certains Poissons Téléostéens, la forme salmon GnRH. La plupart des Poissons Téléostéens sont remarquables par le fait qu'ils expriment trois variants de la GnRH correspondant aux trois types. C'est le cas de la majorité des espèces appartenant à des ordres avancés regroupés sous le terme d'Acanthoptérygiens (Athériniformes, Béloniformes, Cyprinodontiformes, Scorpaeniformes, Perciformes, Pleuronectiformes, Tétrodontiformes). Cependant, trois variants de GnRH ont également été caractérisés par voie biochimique chez des espèces relativement plus primitives telles que le Hareng (*Clupea harengus* : Clupéiforme), ou le Corégone (*Coregonus clupeaformis* : Salmoniforme), malheureusement les ADNcs correspondants n'ont pas été clonés. Par contre, d'autres espèces, y compris des espèces très étudiées, telles que le Cyprin (*Carassius auratus* : Cyprini-forme), la Truite (*Onchorynchus mykiss* : Salmoniforme) ou le Poisson-chat africain (*Clarias gariepinus* : Siluriforme), ne présentent que deux variants.

Chez toutes les espèces étudiées, il a été montré que les trois variants, représentant chacun des trois clades, s'exprimaient de façon différentielle. Chez le Loup ou Bar (*Dicentrarchus labrax*; Perciforme) qui exprime la forme sbGnRH (type 1), la forme cGnRH-II (type 2) et la forme sGnRH (type 3), il a été montré que le variant cGnRH-II est présent dans des neurones mésencéphaliques, tandis que les formes sGnRH et sbGnRH sont exprimées dans des neurones des bulbes olfactifs, du télencéphale ventral et de l'aire préoptique avec cependant deux gradients inverses, la sGnRH étant plus abondante dans les bulbes olfactifs et la forme sbGnRH dans l'aire préoptique (Gonzalez-Martinez *et al.*, 2001, 2002a). Par ailleurs, des études basées sur l'utilisation d'anticorps anti-GAP (GnRH- associated peptide) très spécifiques ont démontré que les neurones à sGnRH projettent largement dans l'ensemble du cerveau antérieur et également vers l'hypophyse (rappelons que les Poissons Téléostéens n'ont pas de système porte hypothalamo-hypophysaire, mais une innervation directe du lobe antérieur de l'hypophyse), tandis que ceux à sbGnRH pro-

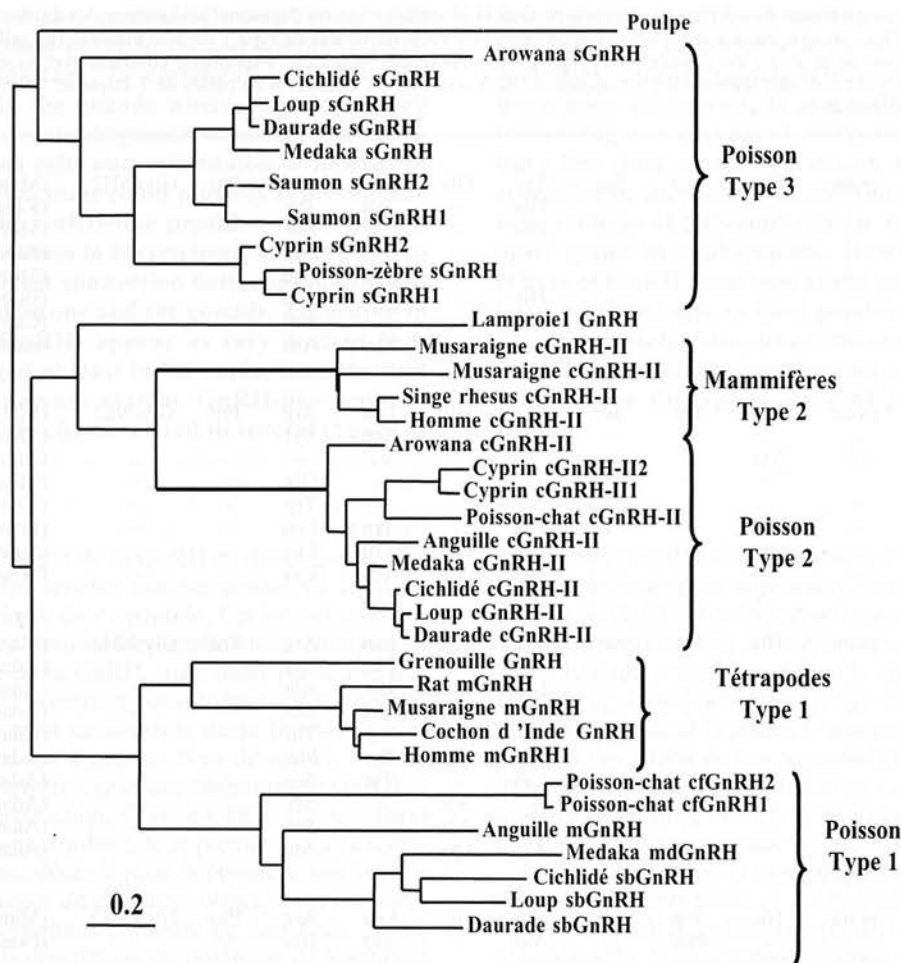


FIG. 1. – L'analyse phylogénétique (clustalW: neighbor-joining method) des séquences des preproGnRH connues chez les vertébrés montrent clairement trois branches : l'une rassemblant les séquences codantes pour des précurseurs de la sGnRH de poisson (type 1), une seconde regroupant des séquences codant pour des précurseurs de la cGnRH-II (type 2) et une troisième comprenant des précurseurs de formes hypophysiotropes de poissons, amphibiens et mammifères (type 3).

Numéros d'accès des séquences : poisson-chat africain (*Clarias gariepinus*) : cf GnRH1 (X78049), cfGnRH2 (X78048), cGnRH-II (X78047); arowana (*Scleropages jardinii*) : sGnRH (AB047325), cGnRH-II (AB047326); cichlidé (*Haplochromis burtoni*) : sbGnRH (U31865), cGnRH-II (L27435), sGnRH : (S63657); anguille (*Anguilla japonica*) mGnRH (AB026989), cGnRHII (AB026990); grenouille (*Rana dybowskii*) GnRH (AF139911); cyprin (*Carassius auratus*) : sGnRH1 (AB017271), sGnRH2 (AB017272), cGnRH-III (U30386), cGnRH-II2 (U40567); cochon d'Inde (*Cavia porcellus*) gpGnRH (AF426176); homme (*Homo sapiens*) mGnRH : (X01059), cGnRH-II : (AF036329); lamproie (*Petromyzon marinus*) lGnRH-I (AF144479); medaka (*Oryzias latipes*) : sGnRH (AB041335), cGnRH-II (AB041334), mdGnRH (AB041334); musaraigne (*Suncus murinus*) cGnRH-II (AF107315); rat (*Rattus norvegicus*) mGnRH (M15527); singe rhesus (*Macaca mulatta*) cGnRH-II (AF097356); saumon (*Oncorhynchus nerka*) sGnRH 1 (D31868), sGnRH 2 (D31869); loup de mer (*Dicentrarchus labrax*) : sbGnRH (AF224279), cGnRH-II (AF224281), sGnRH (AF224280); daurade royale (*Sparus aurata*) : sbGnRH, (U30320), sGnRH, (U30311), cGnRH-II, (U30325); musaraigne (*Tupaia glis belangeri*) mGnRH (U63326), cGnRH-II (U63327); poisson zèbre (*Danio rerio*) sGnRH (AJ304429) ; poulpe (*Octopus vulgaris*) AB037165.

jetent exclusivement vers l'hypophyse. Les neurones à cGnRH-II projettent quant à eux dans le cerveau antérieur, mais surtout dans le cerveau postérieur. Par ailleurs, des études ontogéniques montrent que les populations à sGnRH et sbGnRH dériveraient de structures olfactives, alors que ceux à cGnRH-II sont issus d'un primordium germinatif en bordure du 4^{ème} ventricule (Gonzalez-Martinez *et al.*, 2002b; Wong *et al.*, 2003). Ces données suggèrent que les formes 1 et 3 dérivent d'un même gène ancestral et qu'on assiste actuellement chez les Téléostéens à une spécialisation d'un système claire-

ment hypophysiotrope (type 1) et d'un système plus antérieur (type 3) à fonction moins bien définie, la somme des deux correspondant à l'ensemble des fonctions gérées par les neurones exprimant la forme de type 1 chez les autres Vertébrés. Il est intéressant de noter que chez les espèces de Téléostéens qui n'expriment que deux variants, les fonctions hypophysiotropes sont remplies par des neurones qui expriment soit un variant de type 1 (Poisson-chat), soit un variant de type 3 (Cyprin, Truite), révélant une certaine plasticité dans l'utilisation des ces gènes.

Chez les Agnathes (Lamproies et Myxines) considérés comme les Vertébrés connus les plus primitifs, deux formes de GnRH ont été identifiées, lamprey GnRH-I et lamprey GnRH-III (Sower *et al.*, 1993), probablement issues de deux gènes différents, ce qui suggère qu'une duplication se serait produite avant l'émergence des Agnathes (Sower *et al.*, 2000). Des études immunohistochimiques ont montré que ces deux formes sont exprimées dans des neurones de l'aire préoptique et de la zone périventriculaire de l'hypothalamus postérieur. Par ailleurs, des fibres à lamprey GnRH-I et GnRH-III ont été observées dans la neurohypophyse (Nozaki *et al.*, 2000).

LE CAS DES PROCHORDÉS : 6 GnRHs CHEZ LES ASCIDIES *CIONA INTESTINALIS* ET *CIONA SAVIGNYI*

Les Tuniciers sont des Invertébrés chordés (Prochordés) appartenant au phylum des Urochordés qui a divergé avant la séparation des Céphalochordés (Amphioxus) et des Vertébrés. Dès 1980, Georges et Dubois (1980) mettaient en évidence l'existence d'une immunoréactivité de type GnRH dans le ganglion cérébral et le cordon dorsal de l'Ascidie *C. intestinalis*, résultats confirmés depuis par différents groupes. Très récemment, le séquençage complet du génome de *C. intestinalis* a permis de montrer que, chez cette espèce (et une autre espèce voisine *C. savignyi*), 6 variants de la GnRH sont codés en triplets par deux gènes différents. Ces peptides sont encadrés par des amino-acides basiques représentant des sites potentiels de clivage (Adams *et al.*, 2003). Les auteurs estiment que ces deux gènes résulteraient d'une duplication apparue dans le phylum des Urochordés puisque les deux gènes, bien qu'organisés différemment (gène 1 : un exon ; gène 2 : trois exons), présentent dans leurs régions promotrices des séquences régulatrices semblables qui ne sont pas sans rappeler celles trouvées dans le promoteur du gène GnRH1 humain (Adams *et al.*, 2003). Des résultats équivalents ont été obtenus chez *C. savignyi*, mais les peptides codés ne sont pas tous identiques à ceux de *C. intestinalis*, ce qui porte à 9 le nombre de variants originaux rencontrés chez les Urochordés (Tableau I).

Chez les Ascidies, les neurones à GnRH sont localisés autour du ganglion cérébral ainsi que le long du cordon dorsal et envoient des projections en direction de la paroi des gonoductes et des spermiductes (Terakado, 2001). Chez ces animaux hermaphrodites, l'injection de divers peptides de type GnRH provoquent rapidement la libération des gamètes, œufs et spermatozoïdes (Terakado, 2001 ; Adams *et al.*, 2003), ainsi qu'une augmentation de la production d'œstradiol dans les gonades (Craig *et al.*, 1997). Ces résultats suggèrent que, chez les Tuniciers, les neurones à GnRH établissent un lien direct entre le système nerveux et la gonade.

L'ensemble de ces données suggère qu'une duplication génique se serait produite avant l'émergence des Vertébrés et que l'un de ces gènes exprimés dans des neurones sensoriels, s'est spécialisé dans le contrôle des fonctions hypophysaires.

LA GnRH CHEZ LES INVERTÉBRÉS

Un nombre croissant d'équipes s'intéressent à présent à la caractérisation de peptides de type GnRH et à leurs fonctions chez les Invertébrés (revue Rastogi *et al.*, 2002) et il existe de nombreuses indications que la GnRH, chez divers groupes d'Invertébrés, pourrait être impliquée dans des mécanismes liés à la reproduction, ce qui tendrait à montrer que la GnRH possédait une activité biologique à vocation reproductrice avant l'apparition de cellules gonadotropes hypophysaires. Il est frappant de constater une absence quasi totale de travaux portant sur les Arthropodes et en particulier sur les Insectes.

Cnidaires

Les Cnidaires sont considérés comme les premiers animaux avec un système nerveux et des synapses véritables. Des études en HPLC suivies de dosages radio-immunologiques ont montré deux pics GnRH-immunoréactifs chez la Pensée de mer (*Renilla koellikeri*). Chez cette espèce ainsi que chez l'Anémone de mer (*Nematostella vectensis*), des neurones GnRH-immunoréactifs ont été trouvés dans les couches endodermiques et myoépithéliales, de même que dans les filaments mésentériques portant les gamètes (Anctil, 2000). Il est intéressant de noter que, chez la Pensée de la mer, l'immunoréactivité de type GnRH est associée à des neurones ciliés en contact avec le milieu intérieur, peut-être sensoriels, et projetant vers les filaments mésentériques portant les gamètes (Anctil, 2000). Chez ces espèces, la GnRH pourrait être impliquée dans le contrôle de la prolifération des gamètes et/ou dans le contrôle du péristaltisme, dont l'activité augmente lors de la libération des gamètes (Anctil, 2000).

Mollusques

Il existe plusieurs travaux significatifs sur la GnRH chez les Mollusques (revue Rastogi *et al.*, 2002). Chez la Moule et l'Huître, il a notamment été montré que l'injection de divers peptides GnRH stimule de façon dose-dépendante la prolifération goniale, un effet qui peut être bloqué par des antagonistes (Pazos & Mathieu, 1999). L'immunoréactivité GnRH est détectée notamment dans les ganglions pédieux, connus pour être impliqués dans la reproduction, et il est probable que les peptides de type GnRH sont libérés dans l'hémolymphe (Pazos & Mathieu, 1999).

Chez l'Aplysie, il y aurait deux formes de GnRH exprimées notamment dans un organe chémosensoriel, l'osphradium, composé d'un épithélium sensoriel cilié, et dont l'une des cibles serait les cellules en sac (bag cells) connues pour libérer l'hormone de la ponte (Tsai *et al.*, 2003).

À l'heure actuelle, le seul variant de GnRH caractérisé chez un Invertébré, l'a été chez le Poulpe (*Octopus vulgaris*). Ce peptide comporte 12 résidus, mais possède de nombreuses caractéristiques des GnRHs, notamment un

pyroglutamate en N-terminal, une glycine en position 8 (correspondant à la position 6 des décapeptides GnRH) et le motif Pro¹¹-Gly¹²-NH₂ en C-terminal (Tableau I : Iwakoshi *et al.*, 2002). Par ailleurs, ce peptide est actif sur la libération de LH à partir d'hypophyses de Caille, et son précurseur présente la structure typique des pré-proGnRHs (GenBank AB037165). De manière intéressante, les études immunohistochimiques montrent que l'immunoréactivité GnRH est associée à des neurones du lobe olfactif projetant vers la glande optique, elle-même connue pour contrôler l'activité de la gonade (Di Cosmo & Di Cristo, 1998). On voit donc chez cette espèce très évoluée que les neurones à GnRH contrôlèrent l'activité d'une glande intermédiaire elle-même impliquée dans le contrôle de l'activité gonadique, une situation qui n'est pas sans rappeler le cas des Vertébrés.

Echinodermes

Chez l'Oursin (*Paracentrotus lividus*), du matériel immunoréactif pour la GnRH a été détecté dans les oocytes et le peptide chicken GnRH-I a été purifié et séquencé à partir d'extraits gonadiques. Par ailleurs, la chicken GnRH-I native et synthétique stimule la sécrétion de stéroïdes sexuels, testostérone et œstradiol (Rastogi *et al.*, 2002).

QUEL SCÉNARIO POSSIBLE POUR L'ÉVOLUTION DE L'ORGANISATION ET DES FONCTIONS DES SYSTÈMES À GnRH ?

Même si les données obtenues dans diverses classes d'Invertébrés restent fragmentaires, il est clair que la famille de la GnRH est très ancienne et remonte au moins à l'apparition des Cnidaires, c'est à dire aux premiers métazoaires connus pour posséder un système nerveux. Néanmoins, il convient de rappeler que le facteur de conjugaison de la levure (yeast alpha-mating factor), possède une communauté de structure avec les peptides de type GnRH. En effet, les 9 amino-acides N-terminaux de ce tridécapeptide présentent 80 % d'homologie avec le mGnRH (Loumaye *et al.*, 1982). Ce facteur est capable de se lier aux récepteurs à GnRH hypophysaires et de stimuler la libération de gonadotrophine, cependant son efficacité reste faible. Même si ces données sont insuffisantes pour faire du facteur de conjugaison un membre de la famille des GnRH, il est intéressant de noter que ce facteur de conjugaison permet d'établir un premier lien entre une perception sensorielle (phéromone) et une forme primitive de reproduction sexuée, la conjugaison.

Il est envisageable que l'un des rôles ancestraux de la GnRH ait été de contrôler directement l'activité de la gonade (stéroïdogenèse, prolifération des gamètes et/ou libération des gamètes) en réponse à des stimuli d'ordre chémosensoriel. Sans remonter jusqu'à la levure, une telle situation se rencontre chez les Cnidaires où une innervation directe des couches folliculaires de l'ovo-

cyte a été démontrée chez l'Anémone (Anctil, 2000). Un effet de la GnRH directement sur la gonade est clairement démontré chez les Mollusques lamellibranches ou gastéropodes (Pazos & Mathieu, 1999) et chez le Chiton, un mollusque primitif, l'exposition à diverses GnRH provoque la libération des gamètes (Gorbman *et al.*, 2003). Une innervation directe de la gonade est également observée chez divers Tuniciers. Chez l'Oursin, un Echinoderme, une immunoréactivité de type GnRH est détectée dans des extraits gonadiques et la GnRH stimule la sécrétion gonadique de testostérone et d'œstradiol (Rastogi *et al.*, 2002).

Cependant, chez les espèces évoluées telles que les Vertébrés ou les Céphalopodes, des centres de régulation supplémentaires se sont intercalés entre les systèmes centraux et la gonade (hypophyse chez les Vertébrés, glande optique chez les Céphalopodes, osphradium chez l'Aplysie) et il est possible que les circuits à GnRH aient été recrutés pour contrôler l'activité gonadotrope de ces nouveaux centres régulateurs. On perd alors la connexion directe entre cerveau et gonade. Cependant, tout au moins chez les Vertébrés, les effets de la GnRH au niveau gonadique sont conservés grâce à une synthèse locale de GnRH agissant par voie paracrine. Chez les Mammifères, les Amphibiens et les Poissons Téléostéens divers variants de la GnRH et des récepteurs de la GnRH sont exprimés au niveau gonadique où la GnRH est impliquée dans la prolifération-différenciation des gamètes et la stéroïdogenèse chez le mâle, et, chez la femelle, dans l'apoptose des cellules de la granulosa et la réinitiation de la méiose (Pati & Habibi, 2002 ; Leung *et al.*, 2003). Un rôle de la GnRH dans le contrôle de la balance prolifération/différenciation est aussi démontré par le fait que 80 % des cancers ovariens ou endométriaux et 50 % des tumeurs mammaires expriment la GnRH et ses récepteurs (Emons *et al.*, 2003).

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Depuis les premières observations de Maestre de San Juan (1856), on mesure le chemin parcouru quant à la connaissance des multiples aspects du développement, de l'organisation, de la régulation et du mode d'action du système à GnRH «classique» à fonction hypophysiotrope. Cependant, de nombreuses inconnues subsistent quant à la signification physiologique du système à cGnRH-II ou à celle de multiples formes de récepteurs de la GnRH chez les Vertébrés. On peut s'attendre dans les années qui viennent à une intensification des recherches portant sur les Invertébrés, dont la diversification phylogénétique est à même de mettre en lumière les divergences et les ressemblances qui permettront probablement de comprendre en partie les mécanismes évolutifs et les grandes étapes qui ont conduit à l'émergence de ce type de contrôle de l'activité gonadique qui ne semble plus être l'apanage des Vertébrés, mais serait bel et bien apparu il y a environ 650 millions d'années.

BIBLIOGRAPHIE

- Adams B. A., Vickers E. D., Warby C., Park M., Fischer W. H., Grey Craig A., Rivier J. E. & Sherwood N. M., Three forms of gonadotropin-releasing hormone, including a novel form, in a basal salmonid, *Coregonus clupeaformis*. *Biol. Reprod.*, 2002, 67, 232-239.
- Adams B. A., Tello J. A., Erchegeyi J., Warby C., Hong D. J., Akinsanya K. O., Mackie G. O., Vale W., Rivier J. E. & Sherwood N. M., Six novel gonadotropin-releasing hormones are encoded as triplets on each of two genes in the protochordate, *Ciona intestinalis*. *Endocrinology*, 2003, 144, 1907-1919.
- Ancil M., Evidence for gonadotropin-releasing hormone-like peptides in a cnidarian nervous system. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2000, 119, 317-328.
- Bogerd J., Li K. W., Janssen-Dommerholt C. & Goos H., Two gonadotropin-releasing hormones from African catfish (*Clarias gariepinus*). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1992, 187, 127-134.
- Carolsfeld J., Powell J. F., Park M., Fischer W. H., Craig A. G., Chang J. P., Rivier J. E. & Sherwood N. M., Primary structure and function of three gonadotropin-releasing hormones, including a novel form, from an ancient teleost, herring. *Endocrinology*, 2000, 141, 505-512.
- Craig A. G., Fischer W. H., Park M., Rivier J. E., Musselman B. D., Powell J. F., Reska-Skinner S. M., Prakash M. O., Mackie G. O. & Sherwood N. M., Sequence of two gonadotropin releasing hormones from tunicate suggests an important role of conformation in receptor activation. *FEBS Lett.*, 1997, 413, 215-225.
- Di Cosmo A. & Di Cristo C., Neuropeptidergic control of the optic gland of *Octopus vulgaris*: FMRF-amide and GnRH immunoreactivity. *J. Comp. Neurol.*, 1998, 398, 1-12.
- Emons G., Grundker C., Grunthert A. R., Westphalen S., Kavanagh J. & Verschraegen C., GnRH antagonists in the treatment of gynecological and breast cancers. *Endocr. Relat. Cancer*, 2003, 10, 291-299.
- Georges D. & Dubois M. P., Mise en évidence par des techniques d'immunofluorescence d'un antigène de type LH-RH dans le système nerveux de *Ciona intestinalis* (tunicier ascidiacé). *C. R. Séances Acad. Sci. D*, 1980, 290, 29-31.
- Gorbman A., Whiteley A. & Kavanaugh S., Pheromonal stimulation of spawning release of gametes by gonadotropin releasing hormone in the chiton, *Mopalia* sp. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2003, 131, 62-65.
- Gonzalez-Martinez D., Madigou T., Zmora N., Anglade I., Zanuy S., Zohar Y., Elizur A., Munoz-Cueto J. A. & Kah O., Differential expression of three different prepro-GnRH (gonadotropin-releasing hormone) messengers in the brain of the European bass (*Dicentrarchus labrax*). *J. Comp. Neurol.*, 2001, 429, 144-155.
- Gonzalez-Martinez D., Zmora N., Mananos E., Saligaut D., Zanuy S., Zohar Y., Elizur A., Kah O. & Munoz-Cueto J. A., Immunohistochemical localization of three different prepro-GnRHs in the brain and pituitary of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) using antibodies to the corresponding GnRH-associated peptides. *J. Comp. Neurol.*, 2002a, 446, 95-113.
- Gonzalez-Martinez D., Zmora N., Zanuy S., Sarasquete C., Elizur A., Kah O. & Munoz-Cueto, J. A., Developmental expression of three different prepro-GnRH (gonadotropin-releasing hormone) messengers in the brain of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *J. Chem. Neuroanat.*, 2002b, 23, 255-267.
- Iwakoshi E., Takuwa-Kuroda K., Fujisawa Y., Hisada M., Ukena K., Tsutsui K. & Minakata H., Isolation and characterization of a GnRH-like peptide from *Octopus vulgaris*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, 291, 1187-1193.
- Jimenez-Linan M., Rubin B. S. & King J. C., Examination of guinea pig luteinizing hormone-releasing hormone gene reveals a unique decapeptide and existence of two transcripts in the brain. *Endocrinology*, 1997, 138, 4123-4130.
- Kallmann F. J., Schoenfeld, W. A. & Barrera S. E., The genetic aspects of primary eunuchoidism. *Am. J. Ment. Deficiency*, 1944, XLVIII, 203-236.
- King J. A., Dufour S., Fontaine Y. A. & Millar R. P., Chromatographic and immunological evidence for mammalian GnRH and chicken GnRH II in eel (*Anguilla anguilla*) brain and pituitary. *Peptides*, 1990, 11, 507-514.
- Leung P. C., Cheng C. K. & Zhu X. M., Multi-factorial role of GnRH-I and GnRH-II in the human ovary. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2003, 202, 145-153.
- Loumaye E., Thorner J. & Catt K. J., Yeast mating pheromone activates mammalian gonadotrophs: evolutionary conservation of a reproductive hormone? *Science*, 1982, 218, 1323-1325.
- Lovejoy D. A., Fischer W. H., Ngamvongchon S., Craig A. G., Nahorniak C. S., Peter R. E., Rivier J. E. & Sherwood N. M., Distinct sequence of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in dogfish brain provides insight into GnRH evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, 89, 6373-6377.
- Maestre de San Juan A., Falta total de los nervios olfatorios con anosmia en un individuo en quien existia una atrofia congenita de los testiculos y miembro viril. *Siglo Med.*, 1856, 131, 211.
- Matsuo H., Baba Y., Nair R. M., Arimura A. & Schally A. V., Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1971, 43, 1334-1339.
- Miyamoto K., Hasegawa Y., Minegishi T., Nomura M., Takahashi Y., Igarashi M., Kangawa K. & Matsuo H., Isolation and characterization of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1982, 107, 820-827.
- Miyamoto K., Hasegawa Y., Nomura M., Igarashi M., Kangawa K. & Matsuo H., Identification of the second gonadotropin-releasing hormone in chicken hypothalamus: evidence that gonadotropin secretion is probably controlled by two distinct gonadotropin-releasing hormones in avian species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, 81, 3874-3878.
- Montaner A. D., Park M. K., Fischer W. H., Craig A. G., Chang J. P., Somoza G. M., Rivier J. E. & Sherwood N. M., Primary structure of a novel gonadotropin-releasing hormone in the brain of a teleost, Pejerrey. *Endocrinology*, 2001, 142, 1453-1460.
- Naftolin F., Harris G. W. & Bobrow M., Effect of purified luteinizing hormone releasing factor on normal and hypogonadotropic anovulatory men. *Nature*, 1971, 232, 496-497.
- Nozaki M., Ominato K., Gorbman A. & Sower S. A., The distribution of lamprey GnRH-III in brains of adult sea lampreys (*Petromyzon marinus*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2000, 118, 57-67.
- Pawson A. J., Morgan K., Maudsley S. R. & Millar R. P., Type II gonadotropin-releasing hormone (GnRH-II) in reproductive biology. *Reproduction*, 2003, 126, 271-278.
- Pati D. & Habibi H. R., Involvement of protein kinase C and arachidonic acid pathways in the gonadotropin-releasing hormone regulation of oocyte meiosis and follicular steroidogenesis in the goldfish ovary. *Biol. Reprod.*, 2002, 66, 813-822.
- Pazos A. J. & Mathieu M., Effects of five natural gonadotropin-releasing hormones on cell suspensions of marine bivalve gonad: stimulation of gonial DNA synthesis. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1999, 113, 112-120.
- Powell J. F., Zohar Y., Elizur A., Park M., Fischer W. H., Craig A. G., Rivier J. E., Lovejoy D. A. & Sherwood N. M., Three forms of gonadotropin-releasing hormone characterized from brains of one species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91, 12081-12085.

- Rastogi R. K., Di Fiore M. M., D'Aniello A., Iela L. & Fiorentino M., GnRH in the invertebrates: an overview. *Prog Brain Res.*, 2002, 141, 19-29.
- Sherwood N., Eiden L., Brownstein M., Spiess J., Rivier J. & Vale W., Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1983, 80, 2794-2798.
- Sower S.A., Chiang Y.C., Lovas S., Conlon, J.M., Primary structure and biological activity of a third gonadotropin-releasing hormone from lamprey brain. *Endocrinology* 1993, 132, 1125-1131.
- Sower S. A., McGregor A. J., Materne O. L., Chase C., Potter I. & Joss J., Evidence for lamprey GnRH-I and -III-like molecules in the brains of the southern hemisphere lampreys *Geotria australis* and *Mordacia mordax*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2000, 120, 168-175.
- Terakado K., Induction of gamete release by gonadotropin-releasing hormone in a protochordate, *Ciona intestinalis*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2001, 124, 277-284.
- Tsai P. S., Maldonado T. A. & Lunden J. B., Localization of gonadotropin-releasing hormone in the central nervous system and a peripheral chemosensory organ of *Aplysia californica*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2003, 130, 20-28.
- Wong T. S., Gothilf Y., Zmora N. & Zohar Y., Developmental expression of three forms of GnRH and ontogeny of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in gilthead seabream (*Sparus aurata*). In : Chang C. F. editor, Proceedings of the International Symposium on Growth and Reproduction of Fish, National Taiwan Ocean University, Taiwan, 2003, pp. 41-42.
- Yoo M. S., Kang H. M., Choi H. S., Kim J. W., Troskie B. E., Millar R. P. & Kwon H. B., Molecular cloning, distribution and pharmacological characterization of a novel gonadotropin-releasing hormone ([Trp8] GnRH) in frog brain. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2000, 164, 197-204.
- Yu K. L., Sherwood N. M. & Peter R. E., Differential distribution of two molecular forms of gonadotropin-releasing hormone in discrete brain areas of goldfish (*Carassius auratus*). *Pepetides*, 1988, 9, 625-630.