

# Mélatonine et régulations neuroendocrines chez le poisson

par Jack Falcón\*, Laurence Besseau, Sandrine Sauzet, Michael Fuentès & Gilles Boeuf

\* Laboratoire Aragó, UMR 7628/GDR2821, Université Pierre et Marie Curie (UPMC) et CNRS, BP 44, Avenue du Fontaulé, F-66651, France Banyuls-Sur-Mer Cedex, France. Tél. : 04 68 88 73 92. Fax : 04 68 88 73 98. E-mail : falcon@obs-banyuls.fr

Reçu le 6 mars 2007

## RÉSUMÉ

La mélatonine est l'hormone donneuse de temps chez les Vertébrés. Par son rythme de sécrétion journalier et saisonnier elle contribue à la synchronisation de comportements et de régulations physiologiques sur les périodicités naturelles. La conservation et la diversité caractérisent le système mélatoninergique chez les Vertébrés : conservation car le mode de pro-

duction de la mélatonine et les propriétés de synchronisation sont une constante ; diversité car la régulation de la synthèse et les modes d'action ont été profondément modifiés au cours de l'évolution. Cette revue résume nos connaissances actuelles sur les cibles et les modes d'action de la mélatonine chez les Poissons et des parallèles sont faits avec les Mammifères.

## SUMMARY Melatonin and neuroendocrine regulations in fish

Melatonin is the time-keeping molecule of the organism. The production by the pineal organ is responsible for the diurnal and annual rhythms of plasma melatonin content. This contributes to synchronizing behavioural, biochemical and physiological processes to the environmental variations in photoperiod and temperature. Conservation and diversity characterize the melatonin system in vertebrates: conservation

because its nocturnal pattern of production as well as its synchronizing properties are a constant; diversity because the modalities of its biosynthesis and modes of action have been profoundly modified in the course of evolution. This review summarizes our current knowledge on the targets and modes of action of melatonin in fish and comparisons are made with mammals.

## INTRODUCTION

De la molécule à la cellule, de l'organe à l'individu et jusqu'aux sociétés organisées, toutes les activités des êtres vivants sont rythmiques. Dans leur grande majorité, ces rythmes sont synchronisés sur les variations quotidiennes et saisonnières de l'éclairement et de la température. Ainsi chez les Poissons, la photopériode ou alternance du jour et de nuit au cours du cycle de 24 h (cycle LD) est le principal facteur de synchronisation des rythmes journaliers tels que l'activité locomotrice et la formation de bancs, la sédation, la pigmentation de la peau, la prise alimentaire, la consommation d'oxygène ou la préférence thermique. D'autres facteurs, parmi lesquels la température joue un rôle primordial, contribuent à moduler ces oscillations. Les changements saisonniers des paramètres de l'environnement contribuent également à synchroniser des fonctions périodiques annuelles telles que la croissance et la reproduction. Chez les Vertébrés, la mélatonine est le messager hormonal de la photopériode. Elle est libérée dans la circulation de façon rythmique; la durée du signal informe l'organisme sur

l'heure du jour ou le moment de l'année ; son amplitude informe sur la température environnante (Fig. 1).

Dans certains cas, les activités rythmiques ne sont qu'une réponse passive au facteur lumineux (réponse de type on/off) (Boeuf & Le Bail, 1999) ; mais dans leur grande majorité, elles sont contrôlées par des horloges biologiques internes. Dans ce cas, les oscillations persistent en l'absence de synchroniseur environnemental avec une période proche de 24 h pour les rythmes de type *circadien* et proche d'un an pour ceux de type *circannuel*. Les organismes possédant une horloge interne sont capables de prédire et d'anticiper les changements environnementaux, de sorte que le bon événement se produira au bon moment. Ceci est une amélioration majeure si on considère les milliers de processus en cours à un instant donné dans une cellule, un tissu ou un organe (Boissin & Canguilhem, 1998 ; Edmunds, 1988). Les horloges circadiennes sont des unités oscillatoires autonomes dont l'activité est synchronisée par la lumière perçue par des unités photoréceptrices spécialisées (Repert & Weaver, 2007 ; Korf & von Gall, 2006) ; en retour les horloges émettent des signaux rythmiques qui infor-

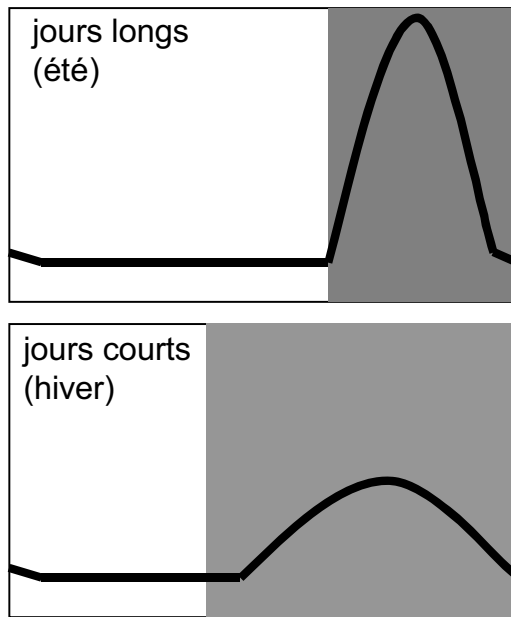


FIG. 1. – Profil du contenu plasmatique de mélatonine chez les Poissons. Dans les zones tempérées, l'augmentation nocturne est de courte durée et de grande amplitude en été et de longue durée et faible amplitude en hiver; des situations intermédiaires sont observées entre ces deux extrêmes. Ces variations reflètent fidèlement celles de la photopériode et de la température au cours des saisons, permettant ainsi à l'individu de se repérer dans le temps.

ment le reste de l'organisme. L'ensemble constitue le système circadien. Chez les Mammifères, l'unité photoréceptrice est dans la rétine, l'horloge circadienne dans les noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus (NSC) et l'unité productrice de signal rythmique dans l'épiphyse ou glande pinéale (Fig. 2A) (Moore, 1995). Cette dernière produit la mélatonine, aujourd'hui considérée comme l'*aiguille hormonale* des horloges internes. C'est une organisation linéaire, où les trois unités du système circadien se localisent dans des sites distincts. La situation est totalement différente chez les poissons où le système circadien est organisé en réseau. Ainsi, des unités photoréceptrices et oscillatoires ont été identifiées dans divers tissus nerveux (rétine, épiphyse) et périphériques (rein, cœur) (Carr *et al.*, 2006); leur présence est fortement soupçonnée dans certains noyaux de l'hypothalamus qui reçoivent des signaux non visuels de la rétine (Ookasouda & Kabasawa, 1995; Weigle *et al.*, 1996; Ito *et al.*, 1999; Deguchi *et al.*, 2005) (Fig. 2B). Dans la rétine et l'organe pinéal chaque cellule photoréceptrice concentre les trois éléments du système circadien tel que décrit chez les Mammifères : l'unité de photoréception, la mécanique de l'horloge et l'unité de production de mélatonine (Falcón, 1999; Falcón *et al.*, 2007a).

L'organisation hiérarchique des différentes structures oscillatoires du réseau circadien des poissons dépend de l'espèce (Underwood, 1989). En général, la rétine et l'organe pinéal, avec leur message mélatoninergique, occupent une place majeure (Fig. 2B). Dans la majorité

des cas c'est la mélatonine d'origine pinéale qui exerce une fonction hormonale, celle de la rétine agissant essentiellement selon un mode autocrine ou paracrine (Klein *et al.*, 1997; Falcón, 1999; Falcón *et al.*, 2007a). Nous nous intéressons ici aux cibles et modes d'action de la neurohormone chez les poissons, en concentrant notre attention sur l'axe hypothalamo-hypophysaire.

## LA MÉLATONINE, UNE MOLÉCULE DONNEUSE DE TEMPS CHEZ LES POISSONS

Bien que le contrôle photopériodique et circadien de la production de mélatonine ait été profondément modifié durant l'évolution, le signal mélatonine détecté dans le sang est le même du poisson au mammifère (Colin *et al.*, 1989)). La concentration plasmatique de mélatonine est plus élevée de nuit que de jour et la configuration des oscillations change avec les saisons : elles sont de courte durée et forte amplitude en été, et de longue durée et faible amplitude en hiver, une situation intermédiaire caractérisant le printemps et l'automne (Fig. 1). Ainsi, le profil de la mélatonine plasmatique indique non seulement la durée du jour et de la nuit, mais également la saison ; c'est une molécule *donneuse de temps* (Armstrong, 1989; Bartness & Goldman, 1989; Underwood, 1989; Reiter, 1991; Zachmann *et al.*, 1992; Cassone *et al.*, 1993; Arendt, 1997; Ekström & Meissl, 1997; Liebmann *et al.*, 1997; Falcón *et al.*, 2007b). Les investigations sur le rôle de l'épiphyse et de la mélatonine chez les poissons ont débuté il y a quatre décennies par des approches de physiologie classique (ablation de l'organe; administration de l'hormone). Celles-ci ont contribué à montrer l'implication de l'organe pinéal et de son hormone dans la régulation de comportements et fonctions à rythmicité journalière et saisonnière.

Les processus à fluctuations journalières et/ou circadiennes impliquant l'organe pinéal et la mélatonine concernent l'activité locomotrice (dont la migration verticale et la formation de bancs), la prise alimentaire, l'état de veille/sommeil (sédation), la préférence thermique, la pigmentation de la peau et des métabolismes (balance électrolytique, niveaux hypothalamiques de monoamines, graisses totales, glucose hépatique, stéroïdes plasmatiques) (Underwood, 1989; Zachmann *et al.*, 1992; Ekström & Meissl, 1997; Zhdanova *et al.*, 2001; Falcón *et al.*, 2007b). Il existe cependant une grande variabilité interspécifique. Par exemple, le rôle de l'épiphyse dans le contrôle de l'activité locomotrice des poissons semble dépendre fortement de l'importance de l'organe dans la hiérarchie des horloges circadiennes de l'individu. En effet, la pinéalectomie se traduit selon l'espèce, par une perte totale du rythme locomoteur circadien, ou un changement de la période de ce rythme, ou encore par sa fragmentation en plusieurs composantes (Underwood, 1989). Les variations se rencontrent également au sein d'une même espèce. Ainsi, de diurne, le rythme de prise alimentaire du loup de Méditerranée (*Dicentrarchus labrax*) peut devenir nocturne pour des raisons non

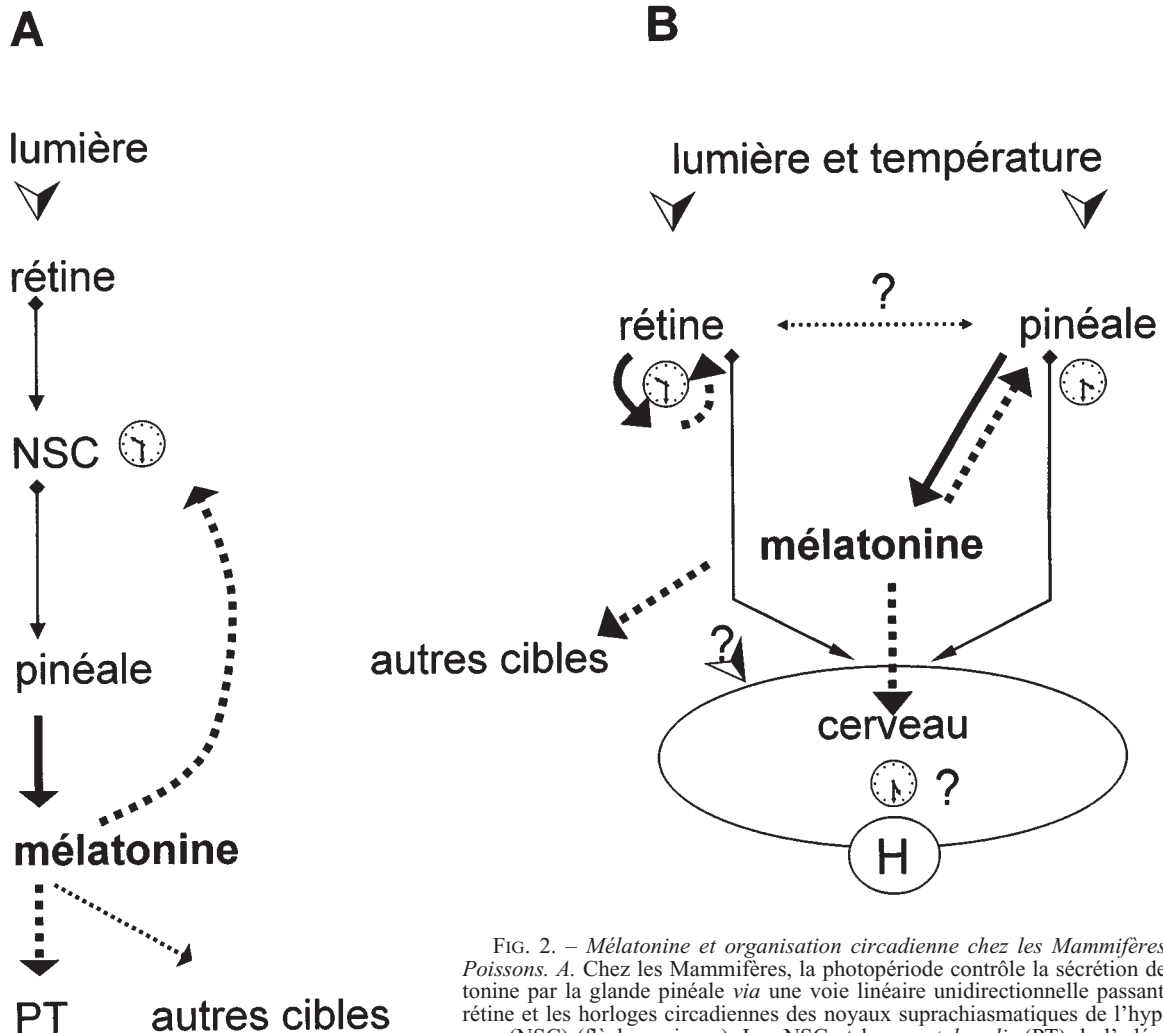


FIG. 2. – *Mélatonine et organisation circadienne chez les Mammifères et les Poissons.* A. Chez les Mammifères, la photopériode contrôle la sécrétion de mélatonine par la glande pinéale via une voie linéaire unidirectionnelle passant par la rétine et les horloges circadiennes des noyaux supra-chiasmatiques de l'hypothalamus (NSC) (flèches minces). Les NSC et la *pars tuberalis* (PT) de l'adénohypophyse constituent les cibles majeures de l'hormone (flèches pointillées). B. Chez les poissons, le système circadien est composé d'unités photoréceptrices et circadiennes localisées dans la rétine et la pinéale. L'existence de telles unités est fortement soupçonnée dans le cerveau et des tissus périphériques (⊙? et ▼?). Dans la rétine et la pinéale, les unités photoréceptrices et circadiennes contrôlent la sécrétion rythmique de mélatonine. La mélatonine rétinienne agit localement; celle de l'épiphyse agit sur sa propre production et selon un mode endocrine. Les cibles de la mélatonine se rencontrent dans de nombreux tissus centraux et périphériques. L'hypophyse est l'une de ces cibles à travers laquelle la mélatonine module des fonctions neuroendocrines primordiales. L'aire préoptique, qui reçoit également des terminaisons nerveuses en provenance de la rétine et de la pinéale, en est une autre. L'hypothèse selon laquelle la mélatonine pourrait jouer un rôle de synchronisateur dans un réseau d'horloges centrales et périphériques est avancée.

connues (Sanchez-Vazquez *et al.*, 2000). Les processus à fluctuations annuelles concernent la smoltification (pour les salmonidés migrateurs), la croissance et la reproduction (Ekström & Meissl, 1997; Mayer *et al.*, 1997; Falcón *et al.*, 2007b). Mais là encore, les rôles précis de l'organe pinéal et de la mélatonine restent énigmatiques car les effets observés montrent une grande variabilité inter- et intra-espèces.

Les approches utilisant la pinéalectomie et/ou l'administration de mélatonine ont montré leurs limites. En effet, la réponse à ces différents traitements dépend d'un trop grand nombre de facteurs tels que *i*) l'espèce, le sexe, le cycle gamétogénétique, le moment du jour et de l'année, l'âge et l'historique de l'individu (un paramètre

important dans l'étude des phénomènes temporels), *ii*) le mode d'administration de la mélatonine (intra-cérébrale, intra-péritonéale, intra-veineuse), le profil d'administration (aiguë ou continue), la dose et la demi-vie de l'hormone, et *iii*) le rôle d'autres signaux d'origine pinéale (donc également supprimés par la pinéalectomie) comme le message nerveux transmis via l'innervation pinéalo-fuge vers le système nerveux central (Ekström & Meissl, 1997). Aujourd'hui, une meilleure compréhension du rôle de la mélatonine chez les Poissons nécessite de reconsidérer la problématique et d'utiliser en priorité une approche moléculaire et cellulaire *in vitro* avant de passer à l'échelle de l'individu. Quelle est la nature des récepteurs de la mélatonine chez les poissons? Dans

quels tissus sont-ils exprimés? Quels messages modulent-ils? Telles sont les questions qui se posent aujourd'hui et dont les premiers éléments de réponse sont rapportés ci-dessous.

## LES RÉCEPTEURS MÉLATONINE CHEZ LES POISSONS

### Quelques sous-types largement distribués

Chez les Vertébrés, la mélatonine agit *via* des récepteurs de forte et de faible affinité. Les expériences de clonage et pharmacocinétiques (utilisant le radio-ligand 2-[<sup>125</sup>I]-iodomélatonine; <sup>125</sup>IMel) ont permis une classification des différents sous-types de récepteurs de l'hormone (Vanecek, 1998; Barrett *et al.*, 2003; Boutin *et al.*, 2005). Les récepteurs de faible affinité (MT3) identifiés chez les Mammifères correspondent à la "quinone réductase-2", une enzyme cytosolique impliquée dans des processus de détoxification (Barrett *et al.*, 2003; Boutin *et al.*, 2005; Vanecek, 1998). Ceux de haute affinité appartiennent à la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G. Le clonage d'un récepteur de la mélatonine à partir d'extraits de mélanophores de peau grenouille (Ebisawa *et al.*, 1994) a été le premier d'une série qui, avec les études de radio-liaison, a conduit à l'identification de trois sous-types de récepteurs de haute affinité : les sous-types MT1 et MT2 sont présents chez tous les Vertébrés étudiés, mais le second est parfois non fonctionnel voire absent chez certains Mammifères; le sous-type Mel1c est présent uniquement chez les vertébrés non mammaliens (Barrett *et al.*, 2003).

Les études principalement conduites chez les Mammifères indiquent que les récepteurs de la mélatonine peuvent être couplés à différentes voies de transduction intracellulaire. La première identifiée, peut-être la plus importante, est celle mettant en jeu une inhibition de l'activité adényl cyclase (*via* une protéine de type G<sub>i</sub>) et donc une réduction de l'AMP cyclique (AMPc) intracellulaire et des processus qui en dépendent, telle l'activité PKA (protéine kinase dépendante de l'AMPc) (Barrett *et al.*, 2003; Rimler *et al.*, 2006). La mélatonine peut aussi activer la voie de la phospholipase C (PLC) *via* un couplage avec une protéine de type G<sub>q</sub> (Vanecek, 1998; Steffens *et al.*, 2003). La PLC catalyse la formation de deux messagers intracellulaires, le diacylglycérol (DAG), qui active la protéine kinase C (PKC), et les inositol phosphates (IP<sub>3</sub>). Les deux voies, de l'AMPc et de la PLC, modulent le calcium intracellulaire [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> en contrôlant soit l'entrée de calcium extracellulaire ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>o</sub>) par des canaux membranaires dépendant du voltage (*via* les PKA et PKC), soit la libération de [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> (*via* les IP<sub>3</sub>) (Vanecek, 1998; Balik *et al.*, 2004). Enfin, un couplage inhibiteur à la voie du GMPc a également été rapporté (Vanecek, 1998; Saenz *et al.* 2002; Barrett *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2005).

Chez les Poissons, le clonage des récepteurs de la mélatonine concerne un nombre très limité d'espèces

(Reppert *et al.*, 1995; Gaildrat & Falcón, 1999, 2000; Mazurais *et al.*, 1999). Les trois séquences complètes obtenues à ce jour correspondent au MT1 de truite (*Oncorhynchus mykiss*; AF156262), MT2 de brochet (*Esox lucius*; AF188871) (Gaildrat *et al.*, 2000) et MT2 de poisson lièvre (*Siganus guttatus*; DQ768087) (Park *et al.*, 2006). De plus, des séquences totales déduites de l'analyse du génome, chez le poisson zèbre (*Danio rerio*), le tétraodon (*T. biocellatus*) et le fugu (*Spherooides maculatus*), sont identifiées dans les bases de données (<http://www.ensembl.org>). Des études fonctionnelles indiquent que le récepteur MT2 de Poisson est couplé négativement à la voie de l'AMPc (Gaildrat & Falcón, 1999).

### Récepteurs de la mélatonine et intégration de l'information photopériodique

Les récepteurs de la mélatonine sont détectés chez tous les craniés à l'exception de la myxine (*Eptatrerus burgeri*) qui ne possède pas d'organe pinéal (Vernadakis *et al.*, 1998). De la lamproie aux oiseaux, ils montrent une distribution large aussi bien dans les tissus nerveux que périphériques. Cette situation est très différente de celle observée chez les Mammifères où la grande majorité des récepteurs se concentre dans les NSC et la *pars tuberalis* de l'hypothalamus (Korf & von Gall, 2006). Il semble donc que les changements importants qui ont affecté le système de régulation de la synthèse de la mélatonine au cours de l'évolution (Collin *et al.*, 1989) se soient accompagnés de modifications tout aussi importantes aux niveaux des modalités de l'intégration du signal.

Chez les lamproies et les poissons, les récepteurs de la mélatonine se rencontrent dans les différentes parties du système nerveux central et dans la rétine; l'expression relative de chaque sous-type varie d'une aire à une autre et en fonction des espèces (Ekström & Vanecek, 1992; Vernadakis *et al.*, 1998; Gaildrat & Falcón, 1999; Mazurais *et al.*, 1999). Qu'il s'agisse de l'expression génique ou de la liaison de l'<sup>125</sup>IMel à la protéine, les marquages sont associés aux aires qui reçoivent ou intègrent les informations d'origine sensorielle (bulbes olfactifs, ténacéphale, diencéphale, toit optique, cervelet), notamment lumineuse. On notera que chez *Coryphaenoides armatus*, un Téléostéen des profondeurs évoluant en absence de lumière solaire, les récepteurs de la mélatonine sont restreints aux aires d'intégration chémo- et mécano-sensorielles et absents des aires d'intégration photopériodique (toit optique, diencéphale, cervelet) (Smith *et al.*, 1996).

Le rôle de la mélatonine dans le système nerveux central des poissons reste énigmatique. Chez les Mammifères, la plupart des récepteurs de la mélatonine se concentre dans le NSC et la *pars tuberalis* de l'adénohypophyse (Fig. 2A). Ces deux structures expriment les composantes moléculaires de l'horloge circadienne que la mélatonine contribue à mettre en phase. La différence majeure réside en ce que la mélatonine est indispensable à l'expression rythmique de ces composantes dans la *pars tuberalis* seulement (Korf & von Gall, 2006). A l'heure actuelle, on ne sait pas si l'équivalent anatomique



des NSC de Mammifère est également une structure à activité circadienne chez les Poissons. Les NSC de Poissons expriment des récepteurs de la mélatonine chez certaines espèces seulement (Ekström & Vanecek, 1992; Vernadakis *et al.*, 1998; Gaildrat & Falcón, 1999; Mazurais *et al.*, 1999). Mais beaucoup d'autres aires d'encéphaliques lient également la mélatonine chez les Poissons. De plus, certaines d'entre elles expriment des molécules de la cascade visuelle (opsines, transducine, arrestine) (Philp *et al.*, 2000a, b; Alvarez-Viego *et al.*, 2004) et reçoivent de surcroît un signal nerveux en provenance de la rétine ou de la pinéale ou des deux (Ekström & Meissl, 1997; Falcón *et al.*, 2007b). Ces observations confortent l'idée selon laquelle le système photopériodique des Poissons est organisé en un réseau d'unités photoréceptrices et circadiennes dispersées (Fig. 2B); il apparaît en cela beaucoup plus complexe que celui des Mammifères qui présente une organisation linéaire où la fonction de chaque élément est spécialisée. Dans ce contexte, l'hypothèse selon laquelle la mélatonine pourrait bien jouer le rôle du *chef d'orchestre* qui met en phase les différents acteurs est à explorer.

### Récepteurs mélatonine et fonction pituitaire

La mélatonine est susceptible d'agir sur les fonctions neuroendocrines en ciblant l'hypophyse directement et/ou indirectement *via* l'hypothalamus. A cet égard, l'aire préoptique des Poissons mérite une attention particulière car elle occupe une position centrale dans le réseau des régulations photoneuroendocrines. D'une part, elle intègre l'information photique en provenance de la rétine et de l'organe pinéal par voie nerveuse, et de l'organe pinéal par voie hormonale (mélatonine) (Ekström & Vanecek, 1992; Ekström & Meissl, 1997; Vernadakis *et al.*, 1998; Mazurais *et al.*, 1999) (Fig. 2B).<sup>1</sup> D'autre part, les neurones de l'aire préoptique contrôlent l'activité hypophysaire à travers une innervation monoaminergique (dopamine, sérotonine) et peptidergique vers la glande. Cette dernière correspond aux neurones à isotocine et arginine-vasotocine de la neurohypophyse et à ceux des facteurs de libération (RH : *releasing hormone*) qui contrôlent l'activité des cellules pituitaires, dont le peptide hypophysaire activateur de l'adényl cyclase (PACAP : *Pituitary Adenylate Cyclase Activating Peptide*), et les facteurs de libération de l'hormone de croissance (GH-RH), des gonadotropines (Gn-RH), et de la corticotrophine (CRH). Ces observations suggèrent que nombre des effets rapportés de la mélatonine pourraient résulter d'une modulation indirecte de l'activité pituitaire *via* un ciblage de l'aire préoptique. Quelques rares

données indirectes vont dans ce sens. Ainsi chez un saumon du Pacifique (*Oncorhynchus masu*), l'administration de mélatonine réduit le contenu hypophysaire de GnRH et de LH (hormone lutéinisante), mais stimule le contenu de FSH (hormone folliculante) (Ameno *et al.*, 2004). Plus directement, chez le « tambour brésilien » (*Microgogonias undulatus*) la quantité de LH hypophysaire libérée est diminuée après administration intra-ventriculaire de mélatonine près de l'aire préoptique (Khan & Thomas, 1996). Une meilleure compréhension du rôle de la mélatonine au niveau des aires préoptique et hypothalamique du poisson nécessite des études morphofonctionnelles visant à identifier, d'une part, les cibles cellulaires de la mélatonine (par co-localisation des récepteurs mélatonine et des facteurs locaux) et, d'autre part, la nature des messages modulés (études pharmacologiques *in vitro*).

Les données impliquant une action directe de la mélatonine sur l'hypophyse sont plus évidentes. Il est aujourd'hui établi que les hypophysies de la Lamproie et des Poissons expriment les gènes codant les sous-types MT1 et MT2, et lient la <sup>125</sup>IMel (Vernadakis *et al.*, 1998; Gaildrat & Falcón, 1999; Falcón *et al.*, 2003). Le faible niveau d'expression et des différences concernant l'heure et la saison de prélèvement peuvent expliquer les données contradictoires obtenues par le passé (Martinoli *et al.*, 1991; Gaildrat & Falcón, 1999; Mazurais *et al.*, 1999; Falcón *et al.*, 2003). En effet, il a été montré que la liaison de l'<sup>125</sup>IMel varie avec l'heure du jour ou la saison dans le cerveau (Gaildrat *et al.*, 1998; Ligo *et al.*, 2003).

Chez la Lamproie *Lampetra planeri*, la liaison de la <sup>125</sup>IMel est détectée dans la neurohypophyse, suggérant que la mélatonine pourrait participer au contrôle de la libération d'isotocine et/ou d'arginine-vasotocine (Vernadakis *et al.*, 1998). Cependant, bien qu'une corrélation inverse existe chez le Poisson entre les variations journalières de l'arginine-vasotocine et de la mélatonine plasmatiques (Kulczykowska, 1999), aucun lien direct entre ces deux hormones n'a encore été établi. Chez le brochet et la truite, la liaison de l'<sup>125</sup>IMel est prédominante dans la partie antéro-ventrale de l'hypophyse, suggérant une action directe de la mélatonine sur les cellules adénohypophysaires (Gaildrat & Falcón, 1999, 2000; Falcón *et al.*, 2003); en effet, la mélatonine inhibe chez les femelles, et stimule chez le mâle, l'accumulation d'AMPc dans les hypophysies en culture (Gaildrat & Falcón, 1999, 2000; Falcón *et al.*, 2003). Les productions de GH et de prolactine (PRL) sont des processus dépendant de l'AMPc; les deux hormones sont dérivées d'un gène ancestral commun et elles exercent souvent des effets opposés chez les poissons. De fait, la sécrétion de ces deux hormones est modulée *in vitro* par la mélatonine (Falcón *et al.*, 2003). La libération continue de PRL par des glandes ou des cellules hypophysaires de truite en culture est inhibée par des doses physiologiques de mélatonine. Les effets sont observés indépendamment du temps d'incubation et persistent avec la même amplitude même après 12 h d'incubation. Ces résultats s'accordent avec les données rapportant les variations journa-

<sup>1</sup> Cette redondance d'informations de type photique atteignant une seule et même structure n'est qu'apparente. En effet, la mélatonine apporte une information temporelle relative à la longueur du jour et de la saison. S'il peut en être de même des signaux nerveux, ces derniers véhiculent en priorité une information sur les changements rapides de luminosité environnante (dus aux mouvements ascendants et descendants du poisson, aux ombres ou encore aux changements de turbidité de l'eau) et provenant du dessus de l'animal (pinéale) ou du champ horizontal (yeux).

lières et saisonnières du contenu plasmatique de PRL *in vivo* et suggèrent que la mélatonine inhibe la libération nocturne de PRL (Falcón *et al.*, 2003). Des expériences préliminaires indiquent que la mélatonine agit également au niveau de la synthèse car elle stimule *in vitro* l'expression du gène codant la PRL chez le loup (*Dicentrarchus labrax*) (Peyric *et al.*, non publié). Dans des conditions expérimentales qui inhibent la sécrétion de PRL chez la truite, on observe une stimulation de la libération de GH (Boeuf & Falcón, 2003). Toutefois, les effets observés sur la libération de GH sont plus complexes car un effet inhibiteur peut être mis en évidence dans les conditions qui augmentent la concentration d'AMPC intracellulaire. Ces résultats s'accordent avec les données rapportant des variations journalières du contenu en GH plasmatique (Boeuf & Falcón, 2001) et suggèrent que la mélatonine contribue à augmenter les taux nocturnes et réduire les taux diurnes de l'hormone de croissance. La mélatonine ne semble pas affecter la synthèse de GH à court terme car la stimulation de sa libération s'accompagne d'une déplétion hypophysaire chez la truite (Boeuf & Falcón, 2003), sans affecter l'expression du gène chez le loup (Peyric *et al.*, en préparation).

### Récepteurs mélatonine et évolution

Au cours de l'évolution, des modifications importantes ont affecté le contrôle photopériodique et circadien de la production de mélatonine. Il en est de même des modalités de l'intégration du signal véhiculé par l'hormone ; on observe une réduction des sous-types de récepteurs (qui affecte les Mel1c et parfois les MT2) et du nombre des aires les exprimant. Le tout semble refléter une évolution vers la simplification. La plupart des récepteurs de la mélatonine se concentrent dans le NSC et la *pars tuberalis*. L'expression dans le NSC, siège de l'horloge circadienne des mammifères, pourrait refléter un caractère ancestral de la mélatonine en tant que facteur de synchronisation (Fig. 2A). Dans la *pars tuberalis* de l'hypophyse des Mammifères, la mélatonine médie les effets de la photopériode sur le rythme de sécrétion de la PRL et phénomènes associés (Hazlerigg & Wagner, 2006). Elle n'agit cependant pas directement sur les cellules productrices de PRL, mais *via* une sous-population de cellules de la *pars tuberalis* qui expriment également le TSH (hormone stimulante de la thyroïde) (Klosen *et al.*, 2002). La mélatonine modulerait la production d'un facteur hypothétique par ces cellules, la tubéraline, laquelle agirait en retour sur la production de PRL (Fig. 2A).

La modulation par la mélatonine de la sécrétion de PRL, GH et gonadotropines est un caractère hautement conservé des poissons aux mammifères (Khan & Thomas, 1996 ; Malpaux *et al.*, 1998 ; Falcón *et al.*, 2003 ; Hazlerigg & Wagner, 2006 ; Kazuya *et al.*, 2006). Toutefois, à l'exception de la PRL, il semble que le contrôle s'exerce essentiellement *via* une action hypothalamique de la mélatonine chez le Mammifère adulte. La situation est différente chez le fœtus et le nouveau-né où l'hypophyse montre une large distribution des récepteurs de la mélatonine, laquelle module la sécrétion de LH (Vane-

cek, 1998 ; Johnston *et al.*, 2006). Dans les premières semaines de la vie postnatale, le nombre de récepteurs de la mélatonine décroît rapidement et la réponse de la LH disparaît. Ainsi, l'hypophyse néonatale de rat développe un caractère observé dans l'hypophyse adulte de poisson, puis le perd peu après la naissance. Une situation similaire est observée dans l'épiphysse néonatale des Mammifères, dont les cellules développent des caractères de photorécepteurs tels qu'observés chez les Poissons et les Oiseaux, qui disparaissent rapidement à la naissance (Zimmerman & Tso, 1975). Les différences notées entre les Poissons et les Mammifères résultent très vraisemblablement de variations dans les processus de développement qui conduisent à un organe adulte. Une hypothèse récente suggère que l'expression des récepteurs de la mélatonine dans la *pars tuberalis* de Mammifère adulte est une caractéristique de cellules en voie de différenciation (Hazlerigg, 2001). Cette hypothèse repose sur les observations suivantes : 1) l'expression des récepteurs MT1 de la *pars tuberalis* est associée à celle de l'homéogène *Pitx1*, un facteur du développement hypophysaire impliqué dans la prolifération et la différenciation cellulaire (Lanctot *et al.*, 1999 ; Johnston *et al.*, 2006) ; 2) *Pitx1* est également un activateur de l'expression génique dans l'hypophyse (Tremblay *et al.*, 2000), dont celle du gène codant le récepteur MT1 (Johnston *et al.*, 2006) ; 3) l'acquisition du phénotype hypophysaire mature coïncide avec le développement de l'expression de la GnRH qui induit une inhibition de l'expression de *Pitx1* et *MT1* dans toute l'hypophyse sauf dans la *pars tuberalis*.

Il est généralement considéré que les processus du développement pituitaire sont très similaires entre les poissons et les mammifères (Herzog *et al.*, 2004). Des différences doivent cependant exister pour expliquer, par exemple, l'absence de *pars tuberalis* ou la persistance de récepteurs de la mélatonine dans l'hypophyse de Poisson comparativement à celle des Mammifères. Il est probable que les événements moléculaires impliqués dans les étapes finales de la différenciation hypophysaire soient distincts chez les Poissons et les Mammifères. Une différence fondamentale à prendre en considération concerne l'aspect continu de la croissance chez les premiers, contrairement aux seconds ; en d'autres termes le poisson grandit toute sa vie (Elies *et al.*, 1999). Un corollaire est l'existence d'un degré de plasticité élevé des différents tissus lesquels possèdent, toute la vie durant, une population active de cellules multipotentes plus ou moins différenciées pour faire face aux besoins de croissance (Alvarez-Buylla & Jackson, 2005). Dans ce contexte, l'hypothèse selon laquelle l'expression des récepteurs de la mélatonine serait une caractéristique de cellules partiellement différenciées dans la *pars tuberalis* de Mammifère (Hazlerigg, 2001) revêt un intérêt particulier. Élargie aux poissons, elle pourrait expliquer la très forte densité des récepteurs de la mélatonine partout où ils sont exprimés, ce qui n'est pas nécessairement le cas chez les Mammifères. Dans ce contexte, il serait intéressant de savoir si la mélatonine agit directement sur les cellules sécrétrices de l'hypophyse ou *via* un type cellulaire intermédiaire comme celui des cellules folliculo-

stellées. Celles-ci constituent, chez les Mammifères, une population de cellules germinatives impliquée dans le contrôle de la sécrétion de GH et de PRL (Allaerts & Vankelecom, 2005).

## CONCLUSIONS

Une hormone et plusieurs sous-types de récepteurs montrant une très large distribution, voilà qui souligne le caractère modulateur ubiquiste de la fonction mélatonergique chez les Poissons. Ceci s'accorde avec l'hypothèse selon laquelle la mélatonine pourrait jouer le rôle de *chef d'orchestre* synchronisant sur la photopériode de nombreuses fonctions de l'organisme et notamment les activités circadiennes du réseau d'oscillateurs centraux et périphériques (Fig. 2B). Le rythme de sécrétion de la mélatonine est une variable qui change au cours des saisons et vraisemblablement aussi au cours de la vie chez les Poissons (comme cela est le cas chez les Mammifères). De même, il existe une grande variabilité dans l'organisation du système circadien parmi les 25 000 espèces de Téléostéens répertoriées. Ceci explique les difficultés rencontrées ces dernières décennies pour élucider le rôle exact de l'hormone chez le Poisson. Des pièces du puzzle se mettent en place aujourd'hui avec le clonage et la localisation des récepteurs, et l'élucidation de leurs modes d'action au niveau de l'axe endocrinien. Ce type de problématique vise à une meilleure compréhension des processus d'intégration des informations de l'environnement et de leur impact sur l'organisation temporelle des individus. De plus, les études comparatives doivent permettre de comprendre la nature des processus évolutifs qui ont conduit à cette « apparente » simplification du système circadien chez les Mammifères. Enfin, ces recherches intéressent le domaine agro-alimentaire (optimisation du développement, de la croissance et de la reproduction des espèces) et sont pertinentes pour étudier l'impact des bouleversements climatiques en cours sur la physiologie des organismes et plus généralement sur les écosystèmes.

**Remerciements.** – Les auteurs remercient l'IFREMER (GDR2821), l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI) et le CNRS (UMR7628) pour leur soutien financier.

## BIBLIOGRAPHIE

Allaerts W. & Vankelecom H., History and perspectives of pituitary folliculo-stellate cell research. *Europ. J. Endocrinol.*, 2005, 153, 1-12.

Alvarez-Buylla A. & Jackson E. L., Stem cells in the adult brain: their identification and role in neurogenesis. In: Meyers R. A. (ed), *Encyclopedia of molecular cell biology and molecular medicine*, 2 edition. Weinheim: Wiley-VCH GmbH & Co, 2005, 436.

Alvarez-Viejo M., Cernuda-Cernuda R., Alvarez-Lopez C. & Garcia-Fernandez J. M., Identification of extraretinal photoreceptors in the teleost *Phoxinus phoxinus*. *Histol. Pathol.*, 2004, 19, 487-494.

Amano M., Iigo M., Ikuta K., Kitamura S., Okuzawa K., Yamada H. & Yamamori K., Disturbance of plasma melatonin profile by high dose melatonin administration inhibits testicular maturation of precocious male masu salmon. *Zool. Sci.*, 2004, 21, 79-85.

Arendt J., The pineal gland, circadian rhythms and photoperiodism. In: Redfern P. H., Lemmer B. (eds), *Physiology and pharmacology of biological rhythms*. W-1000 Berlin 33 : Springer-Verlag Berlin, 1997, 375-414.

Armstrong S. M., Melatonin and circadian control in mammals. *Experientia*, 1989, 45, 932-938.

Balik A., Kretschmannova K., Mazna P., Svobodova I. & Zemkova H., Melatonin action in neonatal gonadotrophs. *Physiol. Res.*, 2004, 53, S153-S166.

Barrett P., Conway S. & Morgan P. J., Digging deep – structure-function relationships in the melatonin receptor family. *J. Pin. Res.*, 2003, 35, 221-230.

Bartness T. J. & Goldman B. D., Mammalian pineal melatonin: a clock for all seasons. *Experientia*, 1989, 45, 939-945.

Boeuf G. & Falcón J., Photoperiod and growth in fish. *Vie et Milieu*, 2001, 51, 237-246.

Boeuf G. & Le Bail P. Y., Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, 1999, 177, 129-152.

Boissin J. & Canguilhem B., Les rythmes du vivant. Origine et contrôle des rythmes biologiques. Nathan, CNRS Éditions, 1998, 320.

Boutin J. A., Audinot V., Ferry G. & Delagrangé P., Molecular tools to study melatonin pathways and actions. *TIPS*, 2005, 26, 412-419.

Carr A. J. F., Tamai T. K., Young L. C., Ferrer V., Dekens M. P. & Whitmore D., Light reaches the very heart of the zebrafish clock. *Chronobiol. Int.*, 2006, 23, 91-100.

Cassone V. M., Warren W. S., Brooks D. S. & Lu J., Melatonin, the pineal gland, and circadian rhythms. *J. Biol. Rhythms*, 1993, 8, 73-81.

Collin J. P., Voisin P., Falcón J., Faure J. P., Brisson P. & Defaye J. R., Pineal transducers in the course of evolution: molecular organisation, rhythmic metabolic activity and role. *Archiv. Histol. Cytol.*, 1989, 52, 441-449.

Deguchi T., Suwa H., Yoshimoto M., Kondoh H. & Yamamoto N., Central connection of the optic, oculomotor, trochlear and abducens nerves in medaka, *Oryzias latipes*. *Zool. Sci.*, 2005, 22, 321-332.

Ebisawa T., Karne S., Lerner M. R. & Reppert S. M., Expression cloning of a high-affinity melatonin receptor from *Xenopus* dermal melanophores. *Proc. Natl. acad. Sci. USA*, 1994, 91, 6133-6137.

Edmunds L. N., Cellular and molecular basis of biological clocks: models and mechanisms for biological timekeeping. Berlin, Heidelberg, New York : Springer Verlag, 1988, 1-497.

Ekström P. & Meissl H., The pineal organ of teleost fishes. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 1997, 7, 284.

Ekström P. & Vanecek J., Localization of 2-[<sup>125</sup>I]iodomelatonin binding sites in the brain of the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Neuroendocrinology*, 1992, 55, 529-537.

Elies G., Duval H., Bonnec G., Wolff J., Boeuf G. & Boujard D., Insulin and insulin-like growth factor-1 receptors in an evolved fish, the turbot: cDNA cloning and mRNA expression. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 1999, 158, 173-185.

Falcón J., Cellular circadian clocks in the pineal. *Prog. Neurobiol.*, 1999, 58, 121-162.

Falcón J., Besseau L. & Boeuf G., Molecular and cellular regulation of pineal organ responses. In: Hara T., Zielinski B. (eds), *Sensory systems neuroscience – Fish physiology*: AP Elsevier, 2007, 243-306.

Falcón J., Besseau L., Fazzari D., Attia J., Gaildrat P., Beauchaud M. & Boeuf G., Melatonin modulates secretion of growth hormone and prolactin by trout pituitary glands and cells in culture. *Endocrinology*, 2003, 144, 4648-4658.



- Falcón J., Besseau L., Sauzet S. & Boeuf G., Melatonin effects on the hypothalamo-pituitary axis of fish. *TEM*, 2007, 18, 81-88.
- Gaildrat P., Becq F. & Falcón J., First cloning and functional characterization of a melatonin receptor in fish brain: a novel one? *J. Pin. Res.*, 2002, 32, 74-84.
- Gaildrat P. & Falcón J., Expression of melatonin receptors and 2-[<sup>125</sup>I]iodomelatonin binding sites in the pituitary of a teleost fish. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1999, 460, 61-72.
- Gaildrat P. & Falcón J., Melatonin receptors in the pituitary of a teleost fish: mRNA expression, 2-[<sup>125</sup>I]iodomelatonin binding and cyclic AMP response. *Neuroendocrinology*, 2000, 72, 57-66.
- Gaildrat P., Ron B. & Falcón J., Daily and circadian variations in 2-[<sup>125</sup>I]-iodomelatonin binding sites in the pike brain (*Esox lucius*). *J. Neuroendocrinol.*, 1998, 10, 511-517.
- Hazlerigg D. G., Review – What is the role of melatonin within the anterior pituitary? *Endocrinology*, 2001, 170, 493-501.
- Hazlerigg D. G. & Wagner G. C., Seasonal photoperiodism in vertebrates: from coincidence to amplitude. *TEM*, 2006, 17, 83-91.
- Herzog W., Sonntag C., Walderich B., Odenthal J., Maischein H. M. & Hammerschmidt M., Genetic analysis of adenylylphosphorylation formation in zebrafish. *Mol. Endocrinol.*, 2004, 18, 1185-1195.
- Huang H., Lee S. C. & Yang X. L., Modulation by melatonin of glutamatergic synaptic transmission in the carp retina. *J. Physiol. L.*, 2005, 569, 857-871.
- Iigo M., Furukawa K., Tabata M. & Aida K., Circadian variations of melatonin binding sites in the goldfish brain. *Neurosci. Lett.*, 2003, 347, 49-52.
- Ito H., Yoshimoto M., Albert J. S., Yamamoto N. & Sawai N., Retinal projections and retinal ganglion cell distribution patterns in a sturgeon (*Acipenser transmontanus*), a non-teleost actinopterygian fish. *Brain Behav. Evol.*, 1999, 53, 127-141.
- Johnston J. D., Klosen P., Barrett P. & Hazlerigg D. G., Regulation of MT1 melatonin receptor expression in the foetal rat pituitary. *J. Neuroendocrinol.*, 2006, 18, 50-56.
- Kasuya E., Kushibiki S., Sutoh M., Saito T., Ito S., Yayou K., Sakumoto R. & Hodate K., Effect of melatonin injected into the third ventricle on growth hormone secretion in Holstein steers. *J. Vet. Med. Sci.*, 2006, 68, 1075-1080.
- Khan I. A. & Thomas P., Melatonin influences gonadotropin II secretion in the Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1996, 104, 231-242.
- Klein D. C., Coon S. L., Roseboom P. H., Weller J. L., Bernard M., Gastel J. A., Zatz M., Iuvone P. M., Rodriguez I. R., Bégay V., Falcón J., Cahill G. M., Cassone V. M. & Baler R., The melatonin rhythm-generating enzyme: molecular regulation of serotonin N-acetyltransferase in the pineal gland. *Recent Prog. Horm. Res.*, 1997, 52, 307-357.
- Klosen P., Bienvenu C., Demarteau O., Dardente H., Guerrero H., Pévet P. & Masson-Pévet M., The mt1 melatonin receptor and ROR $\beta$  receptor are co-localized in specific TSH-immunoreactive cells in the pars tuberalis of the rat pituitary. *J. Histochem. Cytochem.*, 2002, 50, 1647-1657.
- Korf H. W. & von Gall C., Mice, melatonin and the circadian system. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2006, 252, 57-68.
- Kulczykowska E., Diel changes in plasma arginine vasotocin, isotocin, and melatonin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol. Biochem.*, 1999, 21, 141-146.
- Lancot C., Gauthier Y. & Drouin J., Pituitary homeobox 1 (Ptx1) is differentially expressed during pituitary development. *Endocrinology*, 1999, 140, 1416-1422.
- Liebmann P. M., Wolfner A., Felsner P., Hofer D. & Schauenstein K., Melatonin and the immune system. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1997, 112, 203-211.
- Malpoux B., Daveau A., MauriceMandon F., Duarte G., Chemineau P., Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: Presence of binding sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by in situ microimplant delivery. *Endocrinology*, 1998, 139, 1508-1516.
- Martinoli M. G., Williams L. M., Kah O., Titchener L. T. & Pelletier G., Distribution of central melatonin binding sites in the goldfish (*Carassius auratus*). *Mol. Cell. Neurosci.*, 1991, 2, 78-85.
- Mayer I., Bornestaf C. & Borg B., Melatonin in non-mammalian vertebrates: physiological role in reproduction? *Comp. Biochem. Physiol. [A]*, 1997, 118, 515-531.
- Mazurais D., Brierley I., Anglade I., Drew J., Randall C., Bromage N., Michel D., Kah O. & Williams L. M., Central melatonin receptors in the rainbow trout: comparative distribution of ligand binding and gene expression. *J. Comp. Neurol.*, 1999, 409, 313-324.
- Mazurais D., Brierley I., Anglade I., Drew J., Randall C., Bromage N., Michel D., Kah O. & Williams L. M., Central melatonin receptors in the rainbow trout: comparative distribution of ligand binding and gene expression [In Process Citation]. *J. Comp. Neurol.*, 1999, 409, 313-324.
- Moore R. Y., Organization of the mammalian circadian system. *Ciba. Found. Symp.*, 1995, 183, 88-99.
- Ookasouda S. & Kabasawa H., Circadian-rhythms in locomotor-activity of the hagfish, *Eptatretus burgeri*. 5. The effect of light-pulses on the free-running rhythm. *Zool. Science*, 1995, 12, 337-342.
- Park Y. J., Park J. G., Kim S. J., Lee Y. D., Saydur Rahman M. & Takemura A., Melatonin receptor of a reef fish with lunar-related rhythmicity: cloning and daily variations. *J. pineal Res.*, 2006, 41, 166-174.
- Philp A. R., Bellingham J., Garcia-Fernandez J. & Foster R. G., A novel rod-like opsin isolated from the extra-retinal photoreceptors of teleost fish. *FEBS Lett.*, 2000, 468, 181-188.
- Philp A. R., Garcia-Fernandez J. M., Soni B. G., Lucas R. J., Bellingham J. & Foster R. G., Vertebrate ancient (VA) opsin and extraretinal photoreception in the Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Exp. Biol.*, 2000, 203, 1925-1936.
- Reiter R. J., Melatonin: the chemical expression of darkness. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 1991, 79, C153-158.
- Reppert S. M. & Weaver D. R., Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 2002, 418, 935-941.
- Reppert S. M., Weaver D. R., Cassone V. M., Godson C. & Kolakowski L. F. Jr., Melatonin receptors are for the birds: molecular analysis of two receptor subtypes differentially expressed in chick brain. *Neuron*, 1995, 15, 1003-1015.
- Rimler A., Jockers R., Lupowitz Z., Sampson S. R. & Zisapel N., Differential effects of melatonin and its downstream effector PKC  $\alpha$  on subcellular localization of RGS proteins. *J. pineal Res.*, 2006, 40, 144-152.
- Saenz D. A., Turjanski A. G., Sacca G. B., Marti M., Doctorovich F., Sarmiento M. I. K., Estrin D. A. & Rosenstein R. E., Physiological concentrations of melatonin inhibit the nitridergic pathway in the Syrian hamster retina. *J. pineal Res.*, 2002, 33, 31-36.
- Sanchez-Vazquez F. J., Iigo M., Madrid J. A. & Tabata M., Pinelectomy does not affect the entrainment to light nor the generation of the circadian demand-feeding rhythms of rainbow trout. *Physiol. Behav.*, 2000, 69, 455-461.
- Smith A., Trudeau V. L., Williams L. M., Martinoli M. G. & Priede I. G., Melatonin receptors are present in non-optic regions of the brain of a deep-sea fish living in the absence of solar light. *J. Neuroendocrinol.*, 1996, 8, 655-658.
- Steffens F., Zhou X. B., Sausbier U., Sailer C., Motejlek K., Ruth P., Olcese J., Korth M. & Wieland T., Melatonin receptor signaling in pregnant and nonpregnant rat uterine myocytes as probed by large conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channel activity. *Mol. Endocrinol.*, 2003, 17, 2103-2115.



- Tremblay J. J., Goodyer C. G. & Drouin J., Transcriptional properties of Ptx1 and Ptx2 isoforms. *Neuroendocrinology*, 2000, 71, 277-286.
- Underwood H., The pineal and melatonin: regulators of circadian function in lower vertebrates. *Experientia*, 1989, 45, 914-922.
- Vanecek J., Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol. Rev.*, 1998, 78, 687-721.
- Vernadakis A. J., Bemis W. E. & Bittman E. L., Localization and partial characterization of melatonin receptors in amphioxus, hagfish, lamprey, and skate. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1998, 110, 67-78.
- Weigle C., Wicht H. & Korf H. W., A possible homologue of the suprachiasmatic nucleus in the hypothalamus of lampreys (*Lampetra fluviatilis* L). *Neurosci. Lett.*, 1996, 217, 173-176.
- Zachmann A., Ali M. A. & Falcón J., Melatonin and its effects in fishes: an overview. In: Ali M. A. (ed), Rhythms in fishes. New York : Plenum Press, 1992, 149-165.
- Zhdanova I. V., Wang S. Y., Leclair O. U. & Danilova N. P., Melatonin promotes sleep-like state in zebrafish. *Brain. Res.*, 2001, 903, 263-268.
- Zimmerman B. L. & Tso M. O., Morphologic evidence of photoreceptor differentiation of pinealocytes in the neonatal rat. *J. Cell Biol.*, 1975, 66, 60-75.
-