

## L' $\alpha$ -fœtoprotéine protège le cerveau femelle en développement des effets masculinisants et déféminisants des œstrogènes

Julie Bakker

► Sur le plan de la sexualisation, le cerveau et le comportement sont initialement indifférenciés. Puis il existe une période critique du développement embryonnaire durant laquelle, sous l'action des hormones sexuelles, le cerveau s'engage de façon irréversible dans une voie de différenciation de type mâle ou femelle. Selon la théorie « classique », établie durant les années 1960-1970, la testostérone sécrétée par les testicules fœtaux induirait une masculinisation (c'est-à-dire une augmentation des caractéristiques typiquement mâles) et une déféminisation (diminution des caractéristiques typiquement femelles) du cerveau et par conséquent du comportement sexuel chez le mâle [1]. Il faut remarquer que chez les rongeurs, les effets masculinisants et déféminisants de la testostérone sont produits principalement par son métabolite, l'œstradiol, synthétisé au niveau cérébral (Figure 1A). Contrairement à ce qui est observé chez le mâle, la différenciation du cerveau chez la femelle serait indépendante de toute sécrétion hormonale. Chez les mammifères, la différenciation sexuelle du cerveau conduirait donc spontanément au cerveau femelle : en l'absence de testostérone, les caractéristiques neurobiologiques et comportementales femelles se développeraient « par défaut ».

Cette théorie est principalement fondée sur le fait que, après administration de testostérone *in utero*, des cobayes femelles montrent un comportement reproducteur typiquement mâle [1]. Selon

cette théorie, le cerveau fœtal femelle serait protégé des effets masculinisants et déféminisants des œstrogènes qui sont produits par le placenta grâce à l' $\alpha$ -fœtoprotéine (AFP) qui est présente en grande concentration dans la circulation des embryons de mammifères (Figure 1B). Cette protéine est capable de fixer les œstrogènes et les empêcherait donc d'atteindre le cerveau [2]. Certains chercheurs contestent toutefois cette théorie « classique » et soutiennent que le cerveau femelle ne se développe pas « par défaut » mais nécessite un apport contrôlé d'œstrogènes en faibles quantités, dans des régions cérébrales précises [3]. Il a en effet été démontré que des femelles ovariectomisées le jour de leur naissance montrent moins de comportements femelles à l'âge adulte [4], suggérant que les œstrogènes jouent un rôle positif dans la différenciation du cerveau femelle. Dans le cadre de cette hypothèse, il a été proposé que l'AFP servirait à transporter des quantités contrôlées d'œstrogènes dans des régions cibles du cerveau (Figure 1C). L'AFP peut en effet être mise en évidence dans certains groupes de neurones, bien qu'une synthèse locale de cette protéine n'ait jamais pu être identifiée (pour revue, voir [4]). Jusqu'à présent, ces deux hypothèses opposées concernant la fonction de l'AFP n'avaient pu être testées de façon très spécifique en raison de l'absence d'un modèle animal adéquat et des difficultés liées à la mesure de la concentration

Centre de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire, Groupe de Recherches en Neuroendocrinologie du Comportement, Université de Liège, Avenue de l'Hôpital 1, B-4000 Sart Tilman, Liège, Belgique.  
jbakker@ulg.ac.be

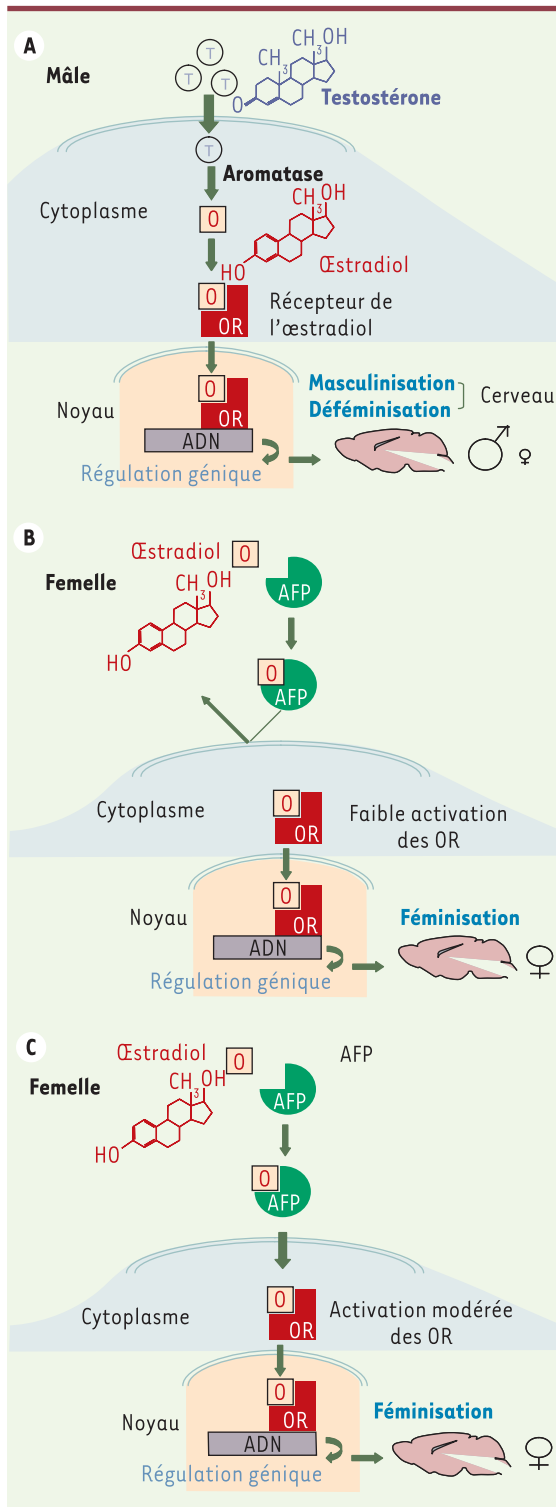
cérébrale en œstradiol. En collaboration avec l'équipe du Pr C. Szpirer (Université Libre de Bruxelles, Belgique), qui a construit un modèle de souris dépourvu du gène *Afp* [5], nous avons récemment élucidé le rôle de cette protéine et des œstrogènes dans le développement du cerveau femelle chez la souris.

### Rôle de l' $\alpha$ -fœtoprotéine dans la différenciation sexuelle du cerveau

Les souris invalidées pour le gène de l'*Afp* (AFP-KO) sont viables, mais les femelles sont stériles en raison d'une anovulation permanente. Une expérience de transfert réciproque d'ovaires a démontré que les ovaires des souris AFP-KO sont parfaitement fonctionnels (une souris sauvage portant les ovaires d'une souris AFP-KO est fertile, tandis que la réciproque n'était pas vraie). Le problème d'anovulation se situe donc au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire [5, 6]. En revanche, comme on pourrait s'y attendre sur la base du rôle joué par l'AFP chez les femelles, les mâles AFP-KO sont normaux. En effet, chez le mâle, les œstrogènes nécessaires à la différenciation du cerveau, sont produits localement, par conversion de la testostérone. Celle-ci n'est pas fixée par l'AFP et peut donc entrer librement dans le cerveau (Figure 1A).

En étudiant la différenciation sexuelle du cerveau et du comportement reproducteur, nous avons observé que les souris femelles AFP-KO ne montrent aucun comportement





sexuel lorsqu'elles sont accouplées avec un mâle (Figure 2A) et montrent, au contraire, un comportement typiquement mâle en montant fréquemment une autre femelle (Figure 2B) [7]. De plus, au niveau cérébral, l'expression de la tyrosine hydroxylase dans l'aire préoptique péri-ventriculaire (AVPv), une région impliquée dans le contrôle de l'ovulation, est fortement diminuée chez la femelle AFP-KO (Figure 2C). Cette sous-expression pourrait être le reflet des problèmes neurobiologiques responsables de leur anovulation. Ces résultats montrent que, chez les souris femelles AFP-KO, le cerveau et le comportement sont masculinisés et défématisés, probablement parce que l'AFP n'empêche plus l'œstradiol d'accéder au cerveau. Ces résultats sont en accord avec l'hypothèse de Mc Ewen *et al.* [2] suggérant que l'AFP protège le cerveau contre les œstrogènes. Cependant, les déficits comportementaux observés pourraient être également dus à un

manque de féminisation du cerveau lié au fait que la femelle AFP-KO n'a plus d'AFP pour transporter les œstrogènes au niveau cérébral. Afin de discriminer entre ces hypothèses contradictoires concernant le rôle de l'AFP dans la différenciation sexuelle du cerveau, nous avons bloqué la production d'œstradiol par un traitement embryonnaire avec de l'ATD (1,4,6-androsta-triène-3,17-dione), un inhibiteur de l'aromatase, l'enzyme qui contrôle la synthèse des œstrogènes. Si l'AFP sert à protéger le cerveau femelle d'une masculinisation et d'une défématisation par les œstrogènes, la progéniture femelle devrait présenter un phénotype femelle normal. Au contraire, si l'AFP sert à transporter les œstrogènes dans le cerveau, la progéniture femelle devrait présenter un déficit du comportement reproducteur car le cerveau de ces animaux n'aura pas pu être féminisé par les œstrogènes. Nos expériences ont démontré que le cerveau et le comportement des souris femelles AFP-KO redeviennent normaux après un traitement embryonnaire avec de l'ATD, ce qui démontre clairement que, pendant la période embryonnaire, les œstrogènes masculinisent et défématisent le cerveau et que l'AFP sert à protéger le cerveau féminin de ce processus (Figure 2D).

### Perspectives

Une implication intéressante de cette étude est que la concentration en œstro-

**Figure 1. Représentation schématique des différents mécanismes qui expliquent potentiellement la différenciation sexuelle du cerveau chez les rongeurs. A.** Chez le mâle, la testostérone (T) sécrétée par les testicules fœtaux entre dans le cerveau où elle est convertie enzymatiquement en œstradiol (O) par l'aromatase. Ensuite, l'œstradiol produit se fixe aux récepteurs spécifiques des œstrogènes (OR) qui alors activent l'expression des gènes, jouant un rôle important dans la masculinisation et défématisation du cerveau. Deux théories contradictoires sont en revanche en compétition pour expliquer la différenciation du cerveau

femelle. Selon la première, une protéine du sang fœtal, l' $\alpha$ -fœtoprotéine (AFP) servirait principalement à protéger le cerveau femelle d'une masculinisation et d'une défématisation par les œstrogènes. **B.** Selon l'autre hypothèse l' $\alpha$ -fœtoprotéine transporterait activement les œstrogènes dans le cerveau, et donc les œstrogènes joueraient un rôle positif dans le développement du cerveau femelle. **C.** Le cerveau et le comportement chez les souris femelles invalidées pour le gène de l'AFP (AFP-KO) sont masculinisés et défématisés, mais ils redeviennent normaux après un traitement embryonnaire par un inhibiteur de l'aromatase, ce qui démontre clairement que l' $\alpha$ -fœtoprotéine sert à protéger le cerveau femelle des effets masculinisants et défématisants des œstrogènes, au cours de la période embryonnaire (hypothèse proposée en B).



gènes est suffisamment élevée dans le sang d'une souris femelle pendant la période de développement périnatal, pour induire une masculinisation et une défématisation quasi complète du cerveau. Cependant, les résultats de ces études n'expliquent ni pourquoi les femelles qui sont ovariectomisées le jour de la naissance montrent moins de comportement féminin à l'âge adulte [4], ni la présence d'AFP dans les neurones qui pourtant ne semblent pas

synthétiser la protéine [8]. Il est possible que l'AFP serve à protéger des régions cérébrales qui sont impliquées dans le contrôle de la reproduction, comme l'hypothalamus, et qu'elle serve également à transporter les œstrogènes dans d'autres régions cérébrales impliquées dans des fonctions différentes, comme la mémoire. Des études supplémentaires seront nécessaires afin de mieux comprendre la présence de l'AFP dans le cerveau.

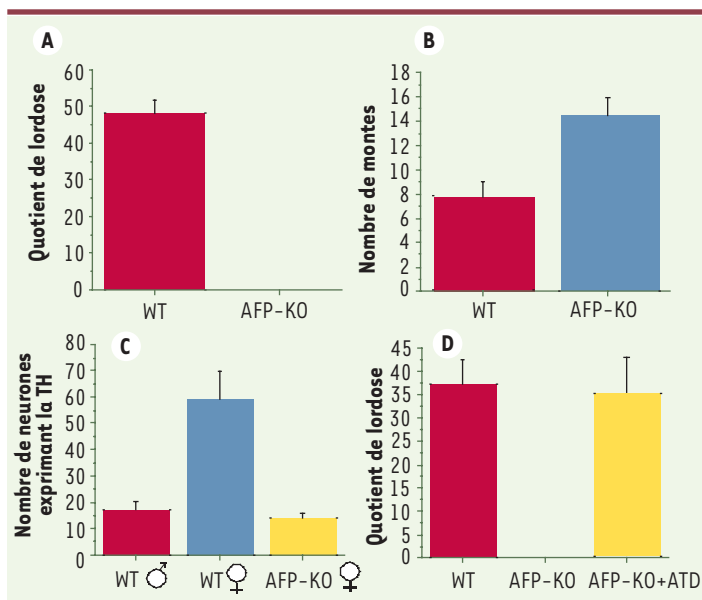
Il faut enfin noter que le rôle de l'AFP en tant que protéine qui protégerait le cerveau contre les œstrogènes n'est pas à ce jour établi chez l'homme. Contrairement à ce qui est ferme-

ment démontré chez les rongeurs, des rapports contradictoires sont présents dans la littérature concernant la capacité de l'AFP humaine à fixer les œstrogènes. De plus, il semblerait que la différenciation sexuelle du cerveau humain dépende plus des androgènes que des œstrogènes. Par ailleurs, la protéine circulante la plus abondante qui fixe les stéroïdes dans les embryons humains est la SHBG (*sex hormone binding globulin*). Cette protéine pourrait donc jouer un rôle similaire à celui de l'AFP et être impliquée dans protection du cerveau féminin contre les effets masculinisants et défématisants des androgènes. ♦

**α-fetoprotein protects the developing female mouse brain from masculinization and defeminization by estrogens**

## RÉFÉRENCES

1. Phoenix CH, Goy RW, Gerall AA, *et al.* Organizational action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology* 1959; 65 : 369-82.
2. McEwen BS, Plapinger L, Chapal C, *et al.* The role of fetoneonatal estrogen binding proteins in the association of estrogen with neonatal brain cell nuclear receptors. *Brain Res* 1975; 96 : 400-7.
3. Toran-Allerand CD. On the genesis of sexual differentiation of the central nervous system : morphogenetic consequences of steroidal exposure and possible role of alpha-fetoprotein. *Prog Brain Res* 1984; 61 : 63-98.
4. Gerall AA, Dunlap JL, Hendricks SE. Effect of ovarian secretions on female behavioral potentiality in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 1973; 82 : 449-65.
5. Gabant P, Forrester L, Nichols J *et al.* Alpha-fetoprotein, the major fetal serum protein, is not essential for embryonic development but is required for female fertility. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99 : 12865-70.
6. De Mees C, Laes JF, Bakker J *et al.* Alpha-fetoprotein controls female fertility and prenatal development of the gonadotropin-releasing hormone pathway through an antiestrogenic action. *Mol Cell Biol* 2006; 26 : 2012-8.
7. Bakker J, De Mees C, Dohard Q, *et al.* Alpha-fetoprotein protects the developing female mouse brain from masculinization and defeminization by estrogens. *Nat Neurosci* 2006; 9 : 220-6.
8. Toran-Allerand CD. Regional differences in intraneuronal localization of alpha-fetoprotein in developing mouse brain. *Brain Res* 1982; 281 : 213-7.



**Figure 2.** Histogramme illustrant les effets d'une invalidation du gène de l'AFP (AFP-KO) sur le comportement reproducteur et l'expression de neurones à activité tyrosine hydroxylase (TH) dans l'aire préoptique périventriculaire. **A.** Quotient de lordose : contrairement aux souris sauvages (*wild type*, WT) les souris femelles AFP-KO ne montrent jamais la posture de réceptivité sexuelle (lordose) indispensable à la reproduction. **B.** Nombre de montes : les souris AFP-KO montent plus fréquemment une autre femelle que les souris WT. **C.** Nombre de neurones exprimant la TH : les femelles AFP-KO montrent une expression de la TH qui est similaire à celle d'un mâle WT témoin. **D.** Quotient de lordose : les femelles AFP-KO qui ont été traitées par un inhibiteur de l'aromatase (AFP-KO+ATD) pendant la période embryonnaire montrent, à l'âge adulte, le comportement de lordose avec les mêmes fréquences que les femelles sauvages (WT).

**ILLUSTRATIONS DES ARTICLES (vignettes) :** p. 493 : *Artemia salina* (© dessin André Gilles) - p. 502 : triple hélice d'ADN (photo Sheng Sun-Jian - © Photothèque Inserm) - p. 507 : quatre corps apoptotiques dans un embryon de *C. elegans* (© photo Michel Labouesse) - p. 514 : adipocytes en culture (photo Michel Depardieu - © Photothèque Inserm) - p. 519 : réticulum endoplasmique, appareil de Golgi et endosomes (© photo Thierry Galli) - p. 525 profil d'expression du transgène *Hoxb4/LacZ* au cours de l'embryogenèse (© photo Stefan Nonchev) - p. 531 : altération morphologique du tissu adipeux sous-cutané des patients lipotrophiques (© photo Jacqueline Capeau) - p. 537 : neurones de la rétine (photo Jeanine Nguyen-Legros - © Photothèque Inserm) - p. 544 : *Shigella* (photo Philippe Sansonetti - © Photothèque Inserm) - p. 548 : localisation des récepteurs de la somatostatine (photo Valérie Turquier-Carpentier - © Photothèque Inserm) - p. 554 : Prosper Menière - p. 557 : médicaments (photo Michel Depardieu - © Photothèque Inserm).

**INDEX DES ANNONCEURS :** France Info, 2<sup>e</sup> cov., p.463 - EDK, p.452 - Inserm, p.454, 3<sup>e</sup> cov. - Bulletin d'abonnement, p.556 - Institut Cochin, p.536. - Flammarion, p.543 - Protéomique clinique en oncologie, 4<sup>e</sup> cov.