

## Résumé

La plupart des effets de la mélatonine, chez les Vertébrés sont en relation avec la lumière, ou plus exactement avec l'absence de lumière. La mélatonine est directement impliquée dans les mécanismes d'adaptation des photorécepteurs rétiniens aux changements de l'intensité de la lumière ambiante. En plus de son rôle dans la médiation des effets directs de la lumière, la mélatonine intervient aussi dans l'ajustement des rythmes circadiens et saisonniers par le cycle lumière / obscurité, les rythmes circadiens étant dirigés par l'horloge interne.

Cette étude a pour but d'étudier l'effet de deux doses de mélatonine exogène administrées à des pigeons mâles élevés sous différents régimes photopériodiques : jours longs et éclairage continu. Nous nous sommes proposé d'évaluer l'impact de la mélatonine sur le développement de la gonade mâle, le poids corporel des animaux, les paramètres biochimiques (glucose, cholestérol et triglycérides), et d'étudier le profil de la thyroxine durant la phase photoréfractaire, en fonction de la dose de mélatonine et du programme lumineux. Des coupes histologiques des testicules ont servi à appuyer les différentes hypothèses proposées quant au rôle cumulatif de la lumière et de la mélatonine sur la reproduction du pigeon mâle.

Les résultats montrent que le traitement à la mélatonine, provoque une augmentation du poids corporel pour tous les lots expérimentaux par rapport aux Témoins. Le poids des testicules augmente régulièrement chez tous les individus, et il a été observé un effet dose pour la mélatonine (Lots 3 et 6) où le poids des testicules est plus élevé que pour les Lots 2 et 5 traités à la dose de 3 mg/ml de mélatonine.

L'éclairage continu a provoqué un effet de photoréfraction chez le Lot 6 où la taille des testicules commence à diminuer, chose qui n'est pas atteinte pour les jours longs. Le taux plasmatique de thyroxine le plus élevé se note chez les Lots 5 et 6 élevés en éclairage continu, ce qui marque le début de la phase photoréfractaire.

Enfin, le traitement à la mélatonine ne semble n'avoir aucun effet sur le taux de glucose plasmatique, quel que soit régime photopériodique, pour les 2 doses.

Les taux de cholestérol plasmatique diminue chez les pigeons des Lots 2 et 3, mais les baisses les plus remarquables de ces taux s'observent chez les Lots 5 et 6.

## Summary

Most of the effects of melatonin in vertebrates are related to light, or more exactly with the absence of light. Melatonin is directly involved in the adaptation mechanisms of retinal photoreceptors to changes in the intensity of ambient light. In addition to its role in mediating the direct effects of light, melatonin is also involved in adjusting circadian rhythms and the seasonal light-dark cycle, circadian rhythms are run by the biological clock.

This study aims to investigate the effect of two doses of melatonin administered to male pigeons reared under different photoperiod: long days photoperiod and continuous light. We aimed to assess the impact of melatonin on the development of the male gonad, body weight, biochemical parameters (glucose, cholesterol and triglycerides), and the profile of thyroxin during photorefractoriness, depending on the dose of melatonin and lighting program.

Histological sections of testes were used to support the various hypotheses proposed about the role of cumulative light and melatonin on reproduction of male pigeon.

The results show that treatment with melatonin, causes an increase in body weight for all experimental groups compared to the Witnesses. The testicular weight increased steadily in all individuals, and it has been observed for a dose effect of melatonin (groups 3 and 6) where the testes were higher than for 2 and 5 groups treated with a dose of 3 mg / ml of melatonin.

The continuous illumination caused a photorefractive effect in group 6 where the size of the testes started to decline, this state wasn't reached by animals reared under long days. The plasma levels of thyroxin is highest in 5 and 6 groups reared in continuous light, and shows the beginning of photorefractoriness phase.

Treatment with melatonin seems to have no effect on plasma glucose levels, regardless of photoperiod regime, for the 2 doses tested. The plasma cholesterol levels decreased in pigeons of groups 2 and 3, but the most notable decreases in these rates are found among groups 5 and 6.

## ملخص

تتعلق معظم آثار الميلاتونين في الفقاريات للضوء ، أو بشكل أكثر دقة مع عدم وجود ضوء .وتشارك مباشرة الميلاتونين في آليات التكيف من خلايا مستقبلية للضوء في الشبكية للتغيرات في شدة الإضاءة المحيطة .وبالإضافة إلى دوره في التوسط في الآثار المباشرة للضوء ، كما يشارك الميلاتونين في ضبط الإيقاع اليومي ودورة موسمية للضوء الظلام ، وتدار من قبل الإيقاع اليومي على مدار الساعة .

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة تأثير جرعتين من الميلاتونين تدار لتربية الحمام الذكور تحت يوما : الضوئية مختلفة طويلة وضوء مستمر .ونحن نهدف الى تقييم تأثير الميلاتونين على تطوير غدة تناسلة الذكور ، ووزن جسم الحيوان ، البيوكيميائية (الجلوكوز والكوليسترول والدهون الثلاثية )، ودراسة ملف المرحلة هرمون الغدة الدرقية photorefractoriness ، اعتمادا على جرعة من الميلاتونين وبرنامج الإضاءة .واستخدمت المقاطع النسيجية من الخصيتين لدعم مختلف الفرضيات المقترحة حول دور ضوء التراكمي والميلاتونين على التناسل حمامة الذكور .

وتبين النتائج أن المعاملة مع الميلاتونين ، يسبب زيادة في وزن الجسم لجميع المجموعات التجريبية مقارنة مع شهود . زيادة وزن الخصية بشكل مطرد في جميع الأفراد ، ولقد لوحظ جرعة من الميلاتونين ( الكثير 3 و 6 ) حيث الخصيتين أعلى من أجل الكثير 2 و 5 تعامل مع جرعة من 3 ملغ / مل من الميلاتونين .

وتسبب الإضاءة المستمرة له أثر في photorefractive لوط 6 حيث حجم الخصيتين بدأت في الانخفاض ، وهو ما لم يتحقق لأيام طويلة .مستويات البلازما من هرمون الغدة الدرقية هو أعلى تصنيف بين الكثير 5 و 6 مستويات في ضوء المستمر ، الذي يمثل بداية مرحلة photorefractoriness .

وأخيرا ، والمعاملة مع الميلاتونين ويبدو أن يكون له تأثير على مستويات الجلوكوز في البلازما ، وبغض النظر عن النظام الضوئية ، لجرعات 2 .

ويمكن العثور على مستويات الكوليسترول في بلازما انخفض في الحمام الكثير 2 و 3 ، ولكن انخفاض ملحوظ في معظم هذه المعدلات من بين الكثير 5 و 6.

### **Introduction générale :**

Chez les oiseaux, les facteurs qui influent sur le déclenchement et le déroulement de la reproduction sont soit des facteurs externes, comme les changements saisonniers : température et photopériode, soit des facteurs internes, comme le déterminisme génétique, l'horloge interne, et les facteurs hormonaux. La photopériode, étant l'inducteur de la fonction de reproduction chez certains animaux, ceux-ci sont donc capables de mesurer le temps photopériodique. Plusieurs hypothèses, classées en deux groupes, sont avancées pour expliquer la lecture de la durée du jour. Dans le premier groupe, la mesure de la photopériode se fait à partir de la durée absolue de la phase claire et/ou de la phase sombre, ou du rapport phase claire / phase obscure du nyctémère. Le deuxième groupe d'hypothèse s'appuie sur l'existence d'un rythme endogène circadien de photosensibilité (**Bünning, 1960**). La réponse à une photopériode donnée ne se produit que lorsqu'il y a coïncidence entre l'éclairement et la phase de photosensibilité. Ainsi, par rapport à des jours courts, les jours longs doublent la vitesse de croissance testiculaire et avancent la maturité sexuelle.

Il est d'autre part établi chez les Mammifères que la glande pinéale a un rapport étroit avec les mécanismes qui interviennent dans la synchronisation de certains rythmes nyctéméraux (alternance jour nuit), et que la mélatonine qu'elle sécrète joue un rôle dans la reproduction, la spermatogenèse chez l'homme, dans le cycle menstruel chez la femme, l'adaptation des animaux à leur environnement, la synchronisation des cycles saisonniers de reproduction, la synchronisation d'un certain nombre de rythmes nyctéméraux, la thermorégulation (régulation la température du corps). La synthèse de mélatonine est contrôlée par l'alternance jour / nuit.

Par contre, chez les Oiseaux, le rôle de la mélatonine n'est pas clairement établi, bien que leur reproduction soit sous la dépendance de l'alternance jour/nuit, de la longueur de nyctémères, et de l'intensité lumineuse, qui sont justement, chez les Mammifères, en relation avec la glande pinéale, et liés à la sécrétion de mélatonine.

La plupart des effets de la mélatonine, chez les Vertébrés sont en relation avec la lumière, ou plus exactement avec l'absence de lumière. La mélatonine est directement impliquée dans les mécanismes d'adaptation des photorécepteurs rétiniens aux changements de l'intensité de la lumière ambiante. En plus de son rôle dans la médiation des effets directs de la lumière, la mélatonine intervient aussi dans l'ajustement des rythmes circadiens et

saisonniers par le cycle lumière / obscurité, les rythmes circadiens étant dirigés par l'horloge interne (**Vanecek, 1998**).

A cet égard, la reproduction se manifeste chez les Oiseaux d'une manière périodique ou saisonnière (**Rowan, 1925; Bissonnette, 1930; Wolfson, 1966; Follet et Gwinner, 1981; Dawson et al., 1985 a**). Elle représente une part importante dans la vie de la plupart des Oiseaux. Bien que le printemps, avec les jours qui s'allongent, soit le signal pour les Oiseaux qu'il est temps de se reproduire, la période de reproduction varie d'une espèce à l'autre et dépend également des conditions locales (**Rowan, 1925**). Mais avant de pouvoir se reproduire, les organes sexuels des Oiseaux doivent se développer de manière importante pour la saison de reproduction.

Durant notre étude, nous avons testé les effets de deux doses de mélatonine exogène administrées à des pigeons mâles élevés sous différents régimes photopériodiques : jours longs et éclairage continu. Nous nous sommes proposé d'évaluer l'impact de la mélatonine sur le développement de la gonade mâle, le poids corporel des animaux, les paramètres biochimiques (glucose, cholestérol et triglycérides), et d'étudier le profil de la thyroxine durant la phase photoréfractaire, en fonction de la dose de mélatonine et du programme lumineux. Enfin, des coupes histologiques des testicules serviront à illustrer les différents cas de figure, et à appuyer les différentes hypothèses proposées quant au rôle combiné de la lumière et de la mélatonine.

# Contrôle photopériodique de la reproduction

La durée du jour est responsable du saisonnement de la reproduction dans de nombreuses espèces. Le cheminement du signal photopériodique de l'œil aux gonades fait intervenir des mécanismes variés, nerveux et endocriniens.

L'existence de saisons, avec les variations associées des facteurs climatiques, est l'un des principaux défis auxquels les organismes vivants sont confrontés dans les zones tempérées. Différents processus physiologiques existent qui permettent de moduler les fonctions physiologiques de l'organisme en fonction des saisons. Parmi ceux-ci, on peut citer, selon les espèces, l'hibernation, les variations de croissance du poil et la mue, la mise en réserve d'énergie dans le tissu adipeux brun, la migration... (Gwinner 1986). Toutefois, un processus commun à la majorité des espèces animales est la mise en sommeil de la fonction de reproduction quand une fécondation entraînerait des naissances à un moment défavorable à la survie des jeunes. Cette saisonnalité de la reproduction aboutit généralement à des naissances se déroulant en fin d'hiver ou au printemps ce qui fournit les conditions les plus favorables de développement aux jeunes avant l'hiver suivant. Pour les espèces dont la gestation dure quelques semaines (rongeurs, incubation pour les oiseaux) ou environ un an (équin), la période d'activité sexuelle se déroule au printemps. A l'opposé, pour des espèces à durée de gestation de l'ordre de 6 mois (ovins, caprins, cervidés...), la période d'activité sexuelle se déroule pendant l'automne pour donner des naissances au printemps suivant (Ortavant et al 1985, Martinet et mondain-Monval 1991). Chez certaines espèces (vison, chevreuil...), la saison influence non seulement la production de gamètes par les gonades mais également la période d'implantation; ainsi, chez certaines espèces (Vison, chevreuil...), la saison influence non seulement la production de gamètes par les gonades mais également la période d'implantations pouvant se produire en juillet - août, l'implantation a lieu en décembre - janvier pour une période de naissance en mai - juin (Thimonier et Sempéré 1989).

La nécessité de prévoir quelques mois à l'avance le moment favorable aux naissances implique l'utilisation par l'animal d'un indicateur fiable du moment de l'année. Le facteur de l'environnement utilisé par majorité des espèces est la variation de la durée journalière

d'éclairement, ou photopériode. Cet article analyse d'abord le rôle de la photopériode et la manière dont celle-ci contrôle le cycle annuel de reproduction, puis présente les mécanismes par lesquels l'information lumineuse module la fonction de reproduction cette revue sera limitée aux mammifères et la plupart des faits expérimentaux rapportés concerneront les espèces ovine ou caprine. Il sera fait appels à d'autres espèces pour des questions non résolues chez ces deux espèces.

## **1/ Contrôle du cycle annuel de reproduction**

### **L1/ Variations saisonnières d'activité sexuelle et de sécrétion d'hormones gonadotropes**

Chez les ovins, sous nos latitudes, la reproduction a un caractère saisonnier marqué, caractérisé par l'alternance d'une période de repos sexuel au printemps et en été, et d'une période d'activité sexuelle en automne et en hiver (Yeates 1949, Thimonier et Mauléon 1969, Ortavant *et al* 1985). La période de repos sexuel est caractérisée chez la brebis par l'établissement d'un état d'anœstrus, le plus souvent associé à l'absence d'ovulation (figure 1) En revanche, la saison sexuelle se caractérise par la succession de cycles

œstriens tous les 15 à 18 jours (Thimonier et Mauléon 1969) Chez le bélier, la production spermatique varie également au cours de l'année. Ainsi, chez le bélier Ile-de-France, la production quotidienne de spermatozoïdes est quatre fois plus élevée en automne qu'au printemps (Dacheux *et al* 1981)

Les variations d'activité sexuelle résultent de changements de sécrétion des hormones

gonadotropes, LH (hormone lutéinisante) et FSH (hormone folliculo-stimulante) (Karsch *et al* 1984). La saison influence la fréquence des épisodes de libération de LH (sécrétion pulsatile qui est la caractéristique la plus importante de la sécrétion de cette hormone, par deux mécanismes complémentaires : l'un est dépendant des stéroïdes gonadiques l'autre est indépendant de ceux-ci (Pelletier et Ortavant 1975 ). Chez la brebis ou le bélier castrés, la sécrétion pulsatile de LH est plus faible pendant la saison de repos sexuel que pendant la

saison sexuelle (1 vs 2 pulses par heure chez la brebis castrée , Pelletier et Ortavant 1975, Montgomery *et al* 1985, Robinson *et al* 1985a). Cette différence de sécrétion de LH entre saisons de repos et d'activité sexuels est très fortement accrue en présence d'œstradiol ou de testostérone (Pelletier et Ortavant 1975, Karsch *et al* 1984 Chemineau *et al* 1988). Ainsi, chez la brebis ovariectomisée traitée avec un implant d'œstradiol délivrant des taux analogues à ceux observés en milieu de phase folliculaire, on observe 1 pulse toutes les 12 à 24 heures pendant la saison d'anoestrus contre 1 pulse toutes les 30 minutes pendant la saison sexuelle (Karsch *et al* 1984) Par conséquent, les changements de sensibilité à l'œstradiol chez la femelle et à la testostérone chez le mâle sont le principal mécanisme responsable de la saisonnalité de la reproduction Ces variations de sensibilité à l'œstradiol sont à l'origine d'un modèle expérimental très largement utilisé : la brebis ovariectomisée et traitée avec un implant sous-cutané délivrant une quantité constante d'œstradiol. Les concentrations plasmatiques de LH qui sont mesurées chez cet animal reflètent les modifications de sensibilité à l'œstradiol et sont parfaitement corrélées aux variations d'activité ovulatoire chez la femelle entière (Karsch *et al* 1984).

## **L2 / Contrôle du cycle annuel de reproduction par la photopériode**

Le rôle de la photopériode a été mis en évidence dans une série d'expériences montrant

que la période d'activité sexuelle peut être déplacée dans le temps en modifiant le régime photopériodique sans changer les autres facteurs de l'environnement. Par exemple, l'inversion du cycle photopériodique annuel cause un décalage de 6 mois de la saison sexuelle et la réduction à 6 mois du cycle photopériodique Provoque l'apparition de deux sexuelles par an (Mauléon et Rougeot 1962, Thwaites 1965)

Par ailleurs, l'utilisation d'alternance entre des jours courts et des jours longs constants montre que les passages en jours courts et en jours longs sont respectivement suivis d'une stimulation et d'une inhibition de l'activité de reproduction, avec cependant un temps de latence dans chaque cas (figure 1). Par exemple, chez des brebis soumises de manière alternée à des jours courts et des jours longs (90 jours de traitement pour chaque photopériode), le déclenchement de l'activité ovulatoire ou l'augmentation de la sécrétion

de LH se produit 40 à 60 jours après le passage jours longs/jours courts alors que les évolutions inverses se produisent 20 à 30 jours après le passage jours courts/jours longs (Karsch *et al* 1984, Thimonier 1989).

Les effets stimulants des jours courts ainsi que le déclenchement de la saison sexuelle pendant les jours décroissants de fin d'été ou d'automne ont conduit à qualifier les ovins d'animaux de « jours courts ». De plus, le déclenchement de la saison sexuelle, qui se produit dans la plupart des races en août - septembre, semblait résulter de l'action stimulante des jours décroissants perçus après le solstice d'été. A l'opposé, l'arrêt de cette activité entre janvier et avril semblait être provoqué par l'augmentation de la durée du jour après le solstice d'hiver. Il apparaît maintenant que la régulation du cycle annuel de reproduction est beaucoup plus compliquée, avec en particulier la survenue d'états photoréfractaires. En effet chez la brebis, la diminution de la durée du jour après le solstice d'été ne semble pas être responsable du déclenchement de la saison sexuelle. L'activité sexuelle de brebis maintenues sous une durée du jour constante équivalente à celle du solstice d'été à partir de celui-ci, débute au même moment que chez des animaux témoins maintenus en photopériode naturelle (Thimonier *et al* 1978, Robinson *et al* 1985b, Worthy *et al* 1985). Il en est de même pour des brebis maintenues sous une photopériode continuellement croissante à partir de l'équinoxe de printemps et même après le solstice d'été (Malpaux *et al* 1989). Au moment du déclenchement de la saison sexuelle, les animaux semblent donc être réfractaires à l'action inhibitrice des jours longs ambiants. En ce qui concerne la fin de la saison sexuelle, la même conclusion s'applique. Les brebis deviennent réfractaires aux effets stimulants des jours courts ambiants. Des brebis maintenues en jours courts à partir du solstice d'hiver ou exposées à une photopériode continuellement décroissante à partir de l'équinoxe d'automne cessent leur activité sexuelle ou gonadotrope au même moment que les témoins (Worthy et Haresign 1983, Robinson et Karsch 1984, Malpaux *et al* 1988c).

Ces états réfractaires critiques au déroulement normal de la saison sexuelle pourraient être l'expression d'un rythme endogène de reproduction. L'existence d'un tel rythme a été démontrée chez les ovins comme dans de nombreuses autres espèces des animaux maintenus en jours courts ou longs constants pendant plusieurs années continuent à

montrer des alternances entre périodes de repos et d'activité sexuelles (Ducker *et al* 1973, Howles *et al* 1982, Gwinner 1986, Karsh *et al* 1989, Thimonier 1989). Toutefois, ces périodes d'activité deviennent désynchronisées entre animaux et par rapport à la saison sexuelle normale. La période de ce cycle endogène varie généralement entre 8 et 10 mois. Par exemple, des brebis Suffolk exposées à des jours courts constants pendant 4 ans, montrent des variations d'activité gonadotrope. Ces cycles de sécrétion de LH ne sont pas synchronisés entre animaux et sont caractérisés par une période différente de 1 an (Karsch *et al* 1989). Le rôle de la photopériode dans les conditions naturelles pourrait donc être de synchroniser ce rythme endogène de reproduction pour lui imposer une période égale à un an.

Il est important de noter que la perception de la photopériode durant certaines périodes critiques de l'année pourrait suffire à entraîner le rythme endogène de reproduction. Ainsi, chez la brebis, les résultats de diverses expériences (Malpaux *et al* 1989, Malpaux et Karsch 1990, Wayne *et al* 1990, Woodfill *et al* 1991) suggèrent que les jours longs de printemps jouent un rôle central pour entraîner le rythme endogène de reproduction et, en particulier, déterminer le moment de déclenchement de la saison sexuelle en fin d'été. Les jours courts interviendraient ensuite pour maintenir cette activité (*figure 2*) Ce modèle a été proposé à la suite de résultats expérimentaux obtenus chez la brebis et sa validité mériterait d'être mise à l'épreuve chez les béliers et dans d'autres espèces. Mais la principale conclusion est que la notion d'animal de « jours courts » ou de « jours longs » doit être utilisée avec prudence. En effet, si ces termes conservent leur valeur d'un point de vue descriptif, ils peuvent conduire à des imprécisions sur le plan mécanistique : le déclenchement de la saison sexuelle est synchronisé par les jours longs de printemps chez un animal dit de « jours courts » comme la brebis.

## **2 / Mécanismes d'action de la photopériode**

### **2.1/ Traduction de l'information photopériodique en un message hormonal**

Chez les mammifères, l'information photopériodique est perçue par la rétine et transmise par voie nerveuse à la glande pinéale en plusieurs étapes L'information photopériodique est

transmise de la rétine aux noyaux suprachiasmatiques par l'intermédiaire de la voie monosynaptique rétino-hypothalamique (figure 3a , Herbert *et al* 1978, Legan et Winans 1981). A partir de cette structure hypothalamique, le signal est transporté au noyau hypothalamique paraventriculaire (figure 3a et b), puis dans une colonne de cellules intermédiolatérales située dans la moelle thoracique et ensuite aux ganglions cervicaux supérieurs (figure 3a , Lincoln 1979, Swanson et Kuypers 1980, Klein *et al* 1983). Le signal parvient enfin à la glande pinéale par les neurones sympathiques postganglionnaires. L'importance fonctionnelle de ces voies photoneuroendocriniennes a été démontrée expérimentalement chez le rat et il est admis qu'elles sont similaires chez les autres mammifères. Chez le mouton, l'existence d'une voie rétino-hypothalamique a été démontrée (Legan et Winans 1981). Par ailleurs, dans cette espèce, le rôle de la rétine, des ganglions cervicaux supérieurs et des noyaux suprachiasmatiques a été établi en montrant que la lésion de ces structures modifiait la réponse à la photopériode (Lincoln 1979, Domanski *et al* 1980, Legan et Karsch 1983, Tessonnaud *et al* 1995). Ainsi, des béliers de race Soay soumis à une alternance de périodes de 16 semaines de jours longs et de 16 semaines de jours courts expriment des cycles d'activité sexuelle (variations de poids testiculaire) qui sont synchronisés entre animaux et dont la période est proche de 32 semaines (Lincoln 1979). Après ganglionectomie cervicale supérieure, le poids testiculaire de ces animaux ne varie plus de manière significative. De même, des brebis de race Suffolk exposées à une alternance de 90 jours courts et 90 jours longs se caractérisent par un cycle très marqué de sécrétion de LH. Après pinéalectomie les cycles de sécrétion de LH persistent, mais les périodes de sécrétion élevée se produisent à des moments variables selon les animaux , de plus, la période de ces cycles est très différente de celle du régime photopériodique (Bittman *et al* 1983b).

La glande pinéale n'émet pas de projections nerveuses, son influence sur les fonctions physiologiques met donc en jeu un facteur endocrinien. La principale hormone sécrétée par la glande pinéale est la mélatonine et c'est elle qui traduit les effets de la photopériode sur la fonction de reproduction

## 2.2 / La mélatonine

## ***a / Rythme de sécrétion***

La mélatonine est sécrétée par la glande pinéale selon un rythme jour/nuit bien défini (Rollag et Niswender 1976, Arendt 1986). Chez les ovins et les caprins, les taux plasmatiques diurnes sont faibles, le plus souvent non détectables avec les dosages radioimmunologiques disponibles (< 5 pg/ml), alors que les taux nocturnes sont élevés et varient de 100 à 500 pg/ml pour les ovins et de 50 à 150 pg/ml pour les caprins (Malpaux *et al* 1987, Delgadillo et Chemineau 1992, figure 4). Ce rythme nyctéméral de sécrétion de mélatonine est un rythme endogène. En effet, lorsque des animaux sont maintenus en obscurité constante-la sécrétion de mélatonine demeure rythmique mais la période du cycle est différente de 24 heures et celui-ci n'est pas synchronisé entre animaux (Ebling *et al* 1988). Le rôle de la lumière est donc de synchroniser ce rythme endogène sur une période de 24 heures. Cet effet implique l'horloge circadienne de l'organisme, les noyaux suprachiasmatiques, qui contrôle la sécrétion de mélatonine. Il est à noter que la lumière exerce également un effet inhibiteur de la sécrétion de mélatonine. En effet, l'illumination des animaux en cours de nuit provoque une chute des niveaux plasmatiques de mélatonine.

La sécrétion exclusivement nocturne de la mélatonine est observée chez tous les mammifères avec toutefois des différences de niveaux nocturnes importants entre espèces (20 à 30 pg/ml chez le porc domestique, 50 à 100 pg/ml chez l'homme, quelques centaines de pg/ml chez les ovins) (Broadway *et al* 1987, Paterson et Foldes 1994). Une autre différence interspécifique concerne la forme du profil de sécrétion. Chez les ovins et les caprins, la sécrétion débute très rapidement après le début de la nuit (moins de 10 minutes) et ensuite les niveaux demeurent élevés pendant le reste de la nuit (Malpaux *et al* 1988c.». Au cours de la nuit, les niveaux de mélatonine varient considérablement, ce qui suggère une libération épisodique de cette hormone (Malpaux *et al* 1987, 1988a}. Chez d'autres espèces, en particulier le hamster doré et l'homme, le déclenchement de la sécrétion est plus lent pour atteindre une sécrétion maximale seulement vers le milieu de la nuit (Hoffman 1981, Broadway *et al* 1987). Chez les ovins, bien que les niveaux de mélatonine varient beaucoup au cours de la nuit et également entre animaux, le niveau nocturne moyen de mélatonine est une caractéristique très répétable des animaux (coefficient de répétabilité de 0,7 chez des brebis Ile-de-France, Beltran de Heredia *et al* 1993).

La mélatonine parvient dans la circulation sanguine par l'intermédiaire de la veine de Galien qui draine la glande pinéale. La mélatonine est également présente dans le liquide céphalo-rachidien à des concentrations 2 à 10 fois plus élevées que dans la circulation périphérique (Kanematsu *et al* 1989, Shaw *et al* 1989). Etant donné le faible volume de liquide céphalo-rachidien, la quantité de mélatonine ainsi libérée dans ce dernier est faible, 0,1 % de celle libérée dans le sang. L'importance fonctionnelle de ces taux élevés reste toutefois inconnue.

Bien que la mélatonine soit synthétisée dans d'autres structures que la glande pinéale (rétine, glande de Harder.. ), la pinéalectomie conduit à des taux nocturnes de mélatonine non détectables, ce qui indique que la glande pinéale est la source principale de cette hormone.

## ***b / Synthèse et dégradation de la mélatonine***

La mélatonine est synthétisée à partir du tryptophane dans les pinéalocytes. Contrairement à la plupart des autres hormones, la mélatonine n'est pas stockée dans des vésicules avant sa libération (Reiter 1981). La voie de synthèse inclut successivement le 5-hydroxytryptophane, la sérotonine, la N-acétylsérotonine et enfin la mélatonine (figure 5 ; Sugden 1989). La transformation du tryptophane en 5-hydroxytryptophane par la tryptophane hydroxylase est une étape limitante de la synthèse de sérotonine dans la glande pinéale, mais la régulation circadienne de la sécrétion de mélatonine semble se faire par l'intermédiaire de la N-acétyl-transférase (NAT) qui catalyse la transformation de la sérotonine en N-acétyl-sérotonine.

Le début de la nuit est suivi par une augmentation rapide de la libération de noradrénaline au niveau de la glande pinéale par les terminaisons des neurones provenant des ganglions cervicaux supérieurs. La noradrénaline se lie à la fois à des récepteurs adrénergiques  $\alpha_1$  et B ce qui provoque une augmentation d'AMPc (Klein 1985). La participation exacte de ces deux types de récepteurs reste à établir. Ils pourraient agir en synergie ou la stimulation des récepteurs  $\alpha_1$  pourrait potentialiser l'activation des récepteurs B (Klein 1985 ). L'AMPc active une protéine kinase qui, à son tour, stimule l'activité de la NAT. Chez le mouton, des travaux récents suggèrent l'existence d'un mécanisme de régulation de la sécrétion de mélatonine indépendant de la NAT et qui serait dépendant du calcium (Van Camp *et al* 1991).

Chez les mammifères, la mélatonine est métabolisée en 6-hydroxy-mélatonine par le foie et les reins (Yu *et al* 1993) Ce métabolite est excrété dans l'urine sous forme sulphatée ou glucuronée. La mélatonine est également métabolisée dans le cerveau en N-acétyl-5-méthoxykénurénamine (Hirata *et al* 1974)

### ***c / Importance de la sécrétion de mélatonine***

L'importance de la mélatonine dans le contrôle de la reproduction a été démontrée par la possibilité de produire des effets jours courts chez des animaux exposés à des jours longs. En jours longs, la mélatonine est sécrétée pendant une durée courte, par exemple 8 heures en 16L (16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité). Plusieurs auteurs ont montré qu'il est possible d'administrer de la mélatonine de manière continue (implants sous-cutanés) ou en milieu de journée (injection ou incorporation à la nourriture) pour augmenter la durée de présence de taux élevés de mélatonine Ces traitements causent une stimulation de l'activité de reproduction chez des brebis ou des chèvres de la même façon que des jours courts (Chemineau *et al* 1986, English *et al* 1986, Chemineau *et al* 1992).

La démonstration définitive de l'implication de la mélatonine a été faite par des expériences de remplacement chez des animaux pinéalectomisés (Bittman *et al* 1983a et 1984, Goldman et Nelson 1993). La perfusion de mélatonine dans la circulation périphérique pour mimer des profils de sécrétion de mélatonine de type " jours courts " ou " jours longs " peut reproduire les effets des jours courts ou des jours longs Ainsi, des brebis pinéalec-tomisées, ovariectomisées et traitées avec un implant d'œstradiol, transférées de jours longs en jours courts sont dépourvues de mélatonine et ne montrent aucune modification de taux de LH. Si, au moment du transfert, elles reçoivent une perfusion quotidienne de mélatonine qui rétablit des niveaux élevés de mélatonine pendant 16 heures toutes les nuits (profil « jours courts »), une stimulation de la sécrétion de LH est observée après environ 50 jours, soit une réponse de type « jours courts » classique (Bittman et Karsch 1984).

### ***d / Paramètres critiques du rythme de sécrétion de mélatonine***

Le rythme circadien de sécrétion de mélatonine traduit les effets de la photopériode sur la fonction de reproduction. Cependant, il reste à déterminer quel est le paramètre de ce rythme qui est critique pour obtenir ces effets. Trois paramètres principaux ont été considérés : l'amplitude (différence entre niveaux nocturnes et diurnes), la phase (présence de mélatonine à un moment donné du nyctémère qui coïncide avec une période de sensibilité à cette hormone) ou la durée de sécrétion (durée quotidienne de présence de niveaux élevés). L'hypothèse « amplitude » n'a pas reçu beaucoup d'attention car l'amplitude du rythme n'est pas différente en jours longs et en jours courts. De plus, elle semble trop variable entre animaux pour constituer une caractéristique fiable du rythme capable de traduire l'information (Malpoux *et al* 1987).

Chez le hamster doré, l'injection de mélatonine en fin d'après-midi produit un effet « jours courts » (inhibition de l'activité reproductrice) alors qu'à d'autres moments, un tel effet n'est pas obtenu (Tamarkin *et al* 1976). Cette observation suggère qu'il existe un rythme de sensibilité à la mélatonine. Toutefois, l'absence de mesure des taux de mélatonine dans ces expériences ne permet pas d'exclure la possibilité que le pic de mélatonine exogène, ainsi administré peu de temps avant le début de la nuit, et la sécrétion endogène se fondent pour aboutir à un allongement de la durée de présence de mélatonine. Des expériences plus récentes rapportent le même type de différences de réponse en fonction du moment du nyctémère chez des animaux pinéalectomisés chez lesquels cette critique ne s'applique pas (Stetson et Watson-Whytmire 1986). Néanmoins, la plupart des résultats disponibles sont en faveur de l'hypothèse « durée ». En particulier, chez la brebis et le hamster sibérien, la perfusion de mélatonine produit toujours une réponse caractéristique de la durée de perfusion, indépendamment de la durée d'éclairage ou de la relation de phase entre le cycle lumineux et le moment de la perfusion (Carter et Goldman 1983, Karsch *et al* 1984, Wayne *et al* 1988). Des données en faveur de l'hypothèse « durée » ont également été obtenues chez le hamster doré, le vison et la souris à « pattes blanches » (Dowell et Lynch 1987, Bonnefond *et al* 1989, Goldman et Nelson 1993). Bien que la plupart des données disponibles soient en faveur de l'hypothèse « durée », l'existence d'un rythme de sensibilité entraîné par la mélatonine elle-même a été peu explorée (Pitrosky 1994).

Que la durée ou la phase soit la caractéristique critique du rythme de sécrétion de mélatonine, elles ne sont pas absolues. En effet, il a été démontré dans plusieurs

situations physiologiques que des profils de mélatonine caractérisés par une durée et une phase identiques pouvaient induire des réponses opposées. Par exemple, si des brebis ovariectomisées et traitées avec un implant d'œstradiol, exposées initialement à des jours longs (16L) sont soumises à 13L, une stimulation de la sécrétion de LH s'ensuit. A l'opposé, si des brebis sont initialement exposées à des jours courts (10L), leur exposition à 13L se traduit par une inhibition de la sécrétion de LH (Robinson et Karsch 1987). Par conséquent, le même signal photopériodique (13L) induit des effets stimulants ou inhibiteurs selon la photopériode à laquelle les animaux ont été préalablement soumis. Les profils de sécrétion de mélatonine mesurés dans cette expérience indiquent que, dans toutes ces situations, la sécrétion de mélatonine dure pendant toute la nuit. Les animaux ont donc répondu différemment au même signal « mélatonine » selon la nature de leur exposition préalable à la mélatonine. A un moment donné, l'animal n'interprète donc pas une durée ou une phase du rythme de sécrétion de mélatonine dans l'absolu mais relativement à celles qu'il a perçues antérieurement.

## **2.3 / Mode d'action de la mélatonine**

### ***a / Un effet majeur au niveau du système nerveux central***

La mélatonine peut agir à différents niveaux de l'axe hypothalamo-hypophysaire et gonadique. Toutefois, une étape clé de son action implique des événements au niveau du système nerveux central. En particulier, l'effet majeur de la mélatonine est de modifier la fréquence de libération du LHRH (luteinizing hormone releasing hormone, ou gonadolibérine) hypothalamique, ce qui, par voie de conséquence, change la fréquence de libération de la LH et l'activité des gonades. Ainsi, des brebis ovariectomisées, traitées avec un implant sous-cutané d'œstradiol et soumises à des jours longs, se caractérisent par une fréquence de libération de LHRH de l'ordre de 1 pulse par période de 6 heures. Le traitement de tels animaux avec un implant sous-cutané de mélatonine qui produit un effet « jours courts », va se traduire par une stimulation de la libération pulsatile de LHRH pour atteindre une fréquence de l'ordre de 10 pulses/6 heures (figure 6 ; Viguié *et al* 1995a). Il

est à noter que l'intervalle de 40 à 60 Jours observé entre le début d'un traitement par des jours courts et la stimulation de la sécrétion de LH ou de l'ovulation chez la brebis se retrouve entre le début du traitement par la mélatonine et la stimulation de la sécrétion de LHRH, ce qui démontre que les mécanismes responsables de ce délai de latence sont essentiellement d'origine nerveuse

## ***b/ Sites d'action de la mélatonine***

Des récepteurs à la mélatonine ont été mis en évidence dans de nombreuses structures. Toutefois, dans toutes les espèces de mammifères étudiées, la plus forte densité de récepteurs à la mélatonine est trouvée dans la pars tuberalis de l'hypophyse (PT, figure 3b; de Reviers *et al* 1989, Bittman 1993}. Il existe même deux espèces très sensibles à la photopériode, le vison et le furet, chez lesquelles la pars tuberalis est le seul site où une liaison de la mélatonine a été détectée (Boissin- Agasse *et al* 1992, Bittman 1993). Ces observations ont conduit à proposer la pars tuberalis comme le site principal d'action de la mélatonine. Cependant, des microimplants de mélatonine disposés contre la pars tuberalis ou à l'intérieur de celle-ci sont incapables de stimuler la sécrétion de LH chez des brebis ovariectomisées et traitées avec un implant d'œstradiol (Malpaux *et al* 1994 et 1995). Ces microimplants étant capables de stimuler la sécrétion de LH lorsqu'ils sont disposés dans le troisième ventricule, cette observation suggère que la pars tuberalis n'est pas le site d'action de la mélatonine pour ses effets sur la fonction de reproduction.

La pose de microimplants de mélatonine dans divers sites hypothalamiques a permis d'identifier des sites potentiels d'action. En effet, des microimplants de mélatonine disposés dans l'hypothalamus médiobasal permettent de stimuler la sécrétion de LH chez la brebis ou l'activité testiculaire chez le bélier de la même manière que des jours courts ou des implants sous-cutanés (figure 3b ; Lincoln et Maeda 1992, Malpaux *et al* 1993). Lorsque ces microimplants sont disposés dans l'hypothalamus antérieur ou dorsolatéral ou dans l'aire pré-optique, ils n'ont aucun effet détectable sur la sécrétion de LH (Malpaux *et al* 1993). Ces résultats suggèrent une localisation des sites d'action de la mélatonine dans l'hypothalamus médiobasal où des récepteurs à la mélatonine en faible densité ont été identifiés (Bittman et Weaver 1990, Chabot *et al* 1994). Cette hypothèse est renforcée par l'observation des effets de la lésion de l'hypothalamus médiobasal chez le hamster doré. En

effet, chez de tels animaux, après lésion, la mélatonine n'a plus d'effet sur l'activité de reproduction (Maywood et Hastings 1995). Le clonage récent d'un récepteur membranaire à la mélatonine et la mise en évidence d'un récepteur nucléaire qui est capable de lier la mélatonine pourraient permettre de résoudre l'incohérence apparente entre la localisation des sites d'action et de liaison (Reppert *et al* 1994, Becker-André *et al* 1994).