

**RECHERCHE DE RÉCEPTEURS DU 17 β -ESTRADIOL
CHEZ *SCHISTOSOMA MANSONI*.
CONTRIBUTION A L'EXPLICATION DU POUVOIR PROTECTEUR
DE CETTE HORMONE AU COURS DE LA BILHARZIOSE
A *SCHISTOSOMA MANSONI* CHEZ LA SOURIS.
ÉTUDE PRÉLIMINAIRE**

A. BARRABES*, J. GOMA-MOUANDA*, F. REYNOUARD*, CH. COMBESCOT*

RÉSUMÉ. La mise en évidence chez les schistosomes adultes de récepteurs susceptibles de fixer les molécules de 17 β -estradiol, pourrait être une explication du pouvoir protecteur de cette hormone au cours de la bilharziose expérimentale à *Schistosoma mansoni* chez la souris et chez le hamster.

Mots clés : 17 β -estradiol ; *Schistosoma mansoni* ; Récepteurs.

Research of receptors for the 17 β -estradiol in *Schistosoma mansoni* trying to explain the protecting effects of this hormone during the experimental *Schistosoma mansoni* parasitosis in mouse. Preliminary study

SUMMARY. According to some of our experiments, in adult *Schistosoma mansoni*, the existence of receptors able to bind the molecules of 17 β -estradiol might explain the protective power of this hormone in the experimental *Schistosoma mansoni* parasitosis in the mice and in the hamster.

Key-words : 17 β -estradiol ; *Schistosoma mansoni* ; Receptors

Nous avons mis en évidence, lors de précédentes expérimentations (1), l'action protectrice du 17 β -estradiol chez les hamsters ♀ ainsi que chez les souris ♀, infestés avec *Schistosoma mansoni*. Différents auteurs, comme Briggs (2) suggèrent que la physiologie de la reproduction des schistosomes adultes est sous le contrôle d'hormones stéroïdes, en montrant la possibilité pour les schistosomes de convertir le cholestérol, les corticostéroïdes et les hormones sexuelles en divers métabolites sans toutefois mettre en évidence la production d'hormones stéroïdes par les schistosomes.

Une équipe de chercheurs de Lille (7, 9) a détecté chez *Schistosoma mansoni* la présence d'ecdystéroïdes qui apparaissent au jour 6 de l'évolution de ce parasite.

* Laboratoire de Zoologie - Parasitologie — U.E.R. des Sciences pharmaceutiques de Tours, F 37032 Tours Cedex.

Accepté le 3 juillet 1986.

Ils ont aussi montré que ces ecdystéroïdes étaient semblables aux hormones d'insectes : ecdysone (E) et hydroxy-20-ecdysone (20 OHE). Il y a un pic du taux d'ecdysone chez le ver durant la période J6 à J11 correspondant à la migration et au développement des formes jeunes qui quittent le poumon et vont au foie. A ce stade le parasite sort de son état de semiquiescence et de nombreuses modifications de sa membrane ont pu être décrites. Ces auteurs pensent que l'ecdysone, présente en grande quantité à cette période, participe à tous ces phénomènes.

Récemment, Gerasinova (5) en rappelant l'importance du cholestérol, des stéroïdes hormonaux et des hormones sexuelles sur la régulation des processus de reproduction, de croissance et de développement des helminthes, a confirmé la possibilité de synthèse de stéroïdes par ces derniers en détectant la présence du complexe enzymatique impliqué dans ce processus. De même, il n'exclut pas l'hypothèse de synthèse de stéroïdes hormonaux en particulier d'ecdystéroïdes par les différents stades de développement des helminthes notamment du *Schistosoma mansoni*.

Pour tenter d'expliquer l'action protectrice du 17 β -estradiol, il nous a semblé intéressant dans un premier temps, de rechercher s'il existait chez les différents stades évolutifs de *Schistosoma mansoni* recueillis soit chez des souris femelles castrées, soit chez des souris femelles castrées et recevant une forte dose de 17 β -estradiol sous forme de « pellet » de 20 mg, des récepteurs susceptibles de fixer des molécules de 17 β -estradiol. La fixation du 17 β -estradiol exogène sur les récepteurs pourrait en effet empêcher la fixation des hormones du ver et perturber ainsi sa croissance. Cette hypothèse pourrait être une explication du pouvoir protecteur du 17 β -estradiol.

Protocole expérimental

Cette première approche dans la recherche des récepteurs de l'estradiol est effectuée selon la technique de Sin Hang Lee (6), utilisant le 17 β -estradiol-carboxyméthylxoxine-sérum-albumine-bovine-isothiocyanate de fluorescéine comme marqueurs des récepteurs de l'estradiol.

Nous avons ainsi étudié les stades évolutifs suivants : schistosomules de 6 jours, de 11 jours et schistosomes adultes mâles et femelles.

Les schistosomules de 6 jours sont récoltés au niveau du poumon suivant une technique inspirée de celles de Clegg (3) et de Sher et coll. (8).

Les schistosomules de 11 jours et les adultes sont récupérés par perfusion du foie respectivement au 11^e jour et au 40^e jour de l'infestation.

Technique sur lame (4)

Cette technique permet la recherche des récepteurs du 17 β -estradiol sur coupes de schistosomes adultes. Les schistosomes sont congelés afin de réaliser des coupes de 4 microns d'épaisseur qui sont ensuite placées sur des lames de verre. Sur chaque coupe sont déposées 2 gouttes du complexe fluorescent estradiol, les lames sont laissées en incubation en chambre humide pendant deux heures à température ambiante et

à l'abri de la lumière, puis lavées deux fois avec du tampon phosphate (pH 7,4) pendant 30 mn. Enfin les préparations sont montées dans du glycerol tamponné. L'examen se fait au microscope en lumière ultra-violette.

Technique en tube

Nous avons utilisé cette technique pour la recherche des récepteurs estrogéniques chez les schistosomules de 6 et 11 jours. Un millilitre de suspension riche en schistosomules est introduite dans un tube à hémolyse en verre. Dans chaque tube on ajoute 2 gouttes de complexe fluorescent estradiol ; ils sont laissés en incubation en chambre humide pendant deux heures à la température ambiante et à l'abri de la lumière tout en subissant une agitation sur un agitateur rotatif (110 t/m). Ensuite on lave deux fois le culot de schistosomules avec du tampon phosphate pH 7,4 pendant 30 mn. On ajoute ensuite après le dernier lavage une goutte de glycérine tamponnée et on mélange. Une goutte de cette suspension est ensuite placée entre lame et lamelle et examinée comme pour la technique sur lame.

Parallèlement, nous faisons toujours deux réactions témoins :

- une réaction sans addition de 17 β -estradiol « marqué » afin de rechercher d'éventuelles fluorescences spontanées ;
- une réaction avec addition de substance fluorescente seule afin de rechercher s'il existe des fixations non spécifiques.

Résultats

Aucune fluorescence n'a été observée sur les différentes coupes témoins. Les résultats sont rassemblés dans le *tableau I*. En ce qui concerne les stades évolutifs de *Schistosoma mansoni* prélevés chez des souris castrées, nous avons : absence de fluorescence avec les schistosomules de 6 jours et de 11 jours, présence de fluorescence avec les schistosomes adultes mâles et femelles. Chez les souris castrées implantées avec 20 mg de 17 β -estradiol, aucune image de fluorescence n'a été observée, quel que soit le stade évolutif étudié.

TABLE I.

STADE	Récoltés sur souris ♀ castrées	Récoltés sur souris ♀ castrées + 20 mg 17 β -E
J 6	Absence de Fluorescence	Absence de Fluorescence
J 11	Absence de Fluorescence	Absence de Fluorescence
Adulte ♂	FLUORESCENCE	Absence de Fluorescence
Adulte ♀	FLUORESCENCE	Absence de Fluorescence

Discussion

Si nous pouvons observer une fluorescence au niveau de structures internes sur les coupes de *Schistosoma mansoni* mâles et femelles récupérées chez les souris castrées, cela prouve que des molécules de 17 β -estradiol se sont fixées au niveau des coupes de vers. Il y aurait donc des récepteurs capables d'accueillir cette hormone.

Dans le cas des vers adultes mâles et femelles prélevés chez des animaux castrés recevant un pellet de 20 mg de 17 β -estradiol nous n'avons pas eu de fluorescence, cela peut être dû à l'excès de 17 β -estradiol présent chez ces animaux. Il est possible que tous les récepteurs de cette molécule dont nous avons envisagé l'existence précédemment, soient déjà occupés par cet excès et donc inaccessibles au 17 β -estradiol « marqué ». Aux stades schistosomules de 6 jours et de 11 jours, nous n'avons aucune fluorescence que ce soit chez les vers récoltés chez les souris castrées ou chez les vers récoltés chez les souris en hyperestrogénie. Ceci pourrait être dû à l'absence de récepteurs, ce qui est peu probable car à ce stade l'activité hormonale des vers est maximale. Une autre explication est possible. Nous avons dans ce cas travaillé sur le parasite entier et non sur des coupes comme pour les adultes. Ce qui ne permet pas de visualiser la fixation du 17 β -estradiol si celle-ci a lieu sur des structures internes du parasite.

Conclusion

Ce travail nous a permis de mettre en évidence l'existence de sites susceptibles de fixer des molécules de 17 β -estradiol. Nous avons entrepris cette recherche pour tenter d'expliquer les modalités d'action du pouvoir protecteur engendré par le 17 β -estradiol au cours de la bilharziose expérimentale à *Schistosoma mansoni* chez la souris et chez le hamster. Nous pensons que le pouvoir protecteur observé pourrait être dû à un phénomène de compétition entre les molécules de 17 β -estradiol et celles d'hormones propres au ver comme les ecdystéroïdes empêchant ces dernières d'intervenir ce qui aurait pour conséquence d'entraver le bon déroulement de la croissance des vers.

BIBLIOGRAPHIE

1. BARRABES A. : Action des hormones sexuelles dans la schistosomose expérimentale à *Schistosoma mansoni* : essais de protection. *Thèse Pharmacie*, Tours, 1984.
2. BRIGGS M. H. : Metabolism of steroid hormones by schistosomes. *Bio. Chim. Biophys. Acta*, (Pays-Bas), 1972, 280, 481.
3. CLEGG J. A. : *In vitro* cultivation of *Schistosoma mansoni*. *Exp. Parasitol.*, 1965, 16, 133.

4. FETISSOF F., LANSAC J., ARBEILLE-BRASSART B. : Mise en évidence des récepteurs de l'œstradiol et de la progestérone sur préparations histologiques. *Ann. Anat. Pathol., (Paris)*, 1980, 25, 201.
 5. GERASIMOVA M. G., LEUTSKAYA Z. K. : On synthesis of steroids in helminths. *Helminthology*, 1983, 20, 81.
 6. LEE S. H. : Cytochemical study of estrogen receptor in human mammary cancer. *Am. Clin. Pathol.*, 1978, 70, 197.
 7. NIRDE P., TORPIER G., CAPRON A., DE REGGI M. : Ecdysone and 20 hydroxy ecdysone : new hormones for the human parasite *Schistosoma mansoni*. *Febs. Litt.*, 1983, 151, 2, 223.
 8. SHER A., MACKENZIE P., SMITHER S. R. : Decreased recovery of invading parasites from the lungs as a parameter of acquired immunity to schistosomiasis in the mouse. *J. Infect. Dis.*, 1974, 130, 626.
 9. TORPIER G., HIRN M., NIRDE P., DE REGGI M., CAPRON A. : Detection of ectysteroids in the human trematode *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 1982, 84, 123.
-