

Neuropharmacologie

M. Jacques GLOWINSKI, professeur

Le cours de cette année a été consacré à l'étude des mécanismes de régulation de la biosynthèse de la dopamine au sein des neurones dopaminergiques centraux et tout particulièrement des neurones nigro-striataux. Après une brève description des méthodes permettant de mesurer la synthèse du médiateur et de certaines des propriétés de la tyrosine hydroxylase, nous avons longuement analysé les rôles respectifs de l'activité nerveuse et des récepteurs présynaptiques dans la régulation de la biosynthèse de la dopamine.

I. INTRODUCTION GÉNÉRALE

Deux étapes interviennent dans la biosynthèse de la dopamine, l'hydroxylation de la tyrosine en dihydroxy-phenyl-alanine (DOPA) et la décarboxylation de la DOPA en dopamine, les deux enzymes impliquées étant la tyrosine hydroxylase et la DOPA décarboxylase. Celles-ci sont localisées dans les différentes parties du neurone, la synthèse de dopamine peut donc être mise en évidence au niveau des dendrites, du soma et des terminaisons nerveuses. La première étape est limitante, la concentration intraneuronale de tyrosine étant, selon la plupart des auteurs, supérieure à la valeur de la constante de l'affinité de l'enzyme pour son substrat alors que la DOPA est immédiatement décarboxylée en dopamine. De ce fait, les modifications de synthèse de la dopamine peuvent être appréciées *in vivo* ou *in vitro* en mesurant l'accumulation de DOPA dans les tissus après inhibition de la DOPA-décarboxylase, ou celle de l'eau tritiée formée au cours de la conversion de la 3,5-³H-tyrosine en ³H-DOPA. Les méthodes isotopiques incluant celle consistant à mesurer l'accumulation tissulaire initiale de ³H-dopamine après injection périphérique ou locale de ³H-tyrosine (*in vivo*), ou la formation de ¹⁴C-CO₂ à partir de 1-¹⁴C-tyrosine (*in vitro*) nécessitent la détermination de l'activité spécifique de la tyrosine. En effet, les taux de tyrosine dans les tissus fluctuent au cours de l'activité circadienne et dans certaines situations pharmacologiques.

Méthode plus indirecte utilisée dès 1966, la mesure de la vitesse de renouvellement de la dopamine fournit des informations précieuses sur la synthèse et l'utilisation du médiateur. Les courbes de décroissance de la dopamine endogène après inhibition de l'étape limitante par l' α -methyl-paratyrosine ou de l'activité spécifique de la dopamine après marquage préalable des terminaisons dopaminergiques par la ^3H -dopamine permettent de la déterminer. L'analyse de ces courbes révèle une distribution du médiateur dans deux compartiments. L'un, « fonctionnel », de petite taille, contient le médiateur nouvellement synthétisé préférentiellement utilisé lors de la libération. L'autre, de « réserve », de plus grande taille, intervient dans des situations exceptionnelles lorsque le compartiment « fonctionnel » est vidé de son contenu, la synthèse ne pouvant suppléer une utilisation accrue du médiateur.

Même intense, l'activation des neurones dopaminergiques n'affecte que faiblement les taux de dopamine dans les terminaisons striatales. Ceci révèle l'efficacité des mécanismes rapides de régulation de la biosynthèse. Ces régulations à court terme, liées aux modifications de la concentration cytoplasmique de dopamine et à l'activation de la tyrosine hydroxylase doivent être distinguées des régulations à long terme. Comme nous l'avons signalé, celles-ci interviennent lors de variations importantes et prolongées de l'activité des neurones. Particulièrement étudiées au niveau des neurones nonadrénergiques périphériques, elles se traduisent selon les cas par une accélération ou un ralentissement de la production des enzymes qui contribuent à la synthèse du médiateur (tyrosine hydroxylase et dopamine β -hydroxylase notamment). De tels phénomènes (induction ou inhibition de la synthèse de tyrosine hydroxylase) n'ont pas été observés au niveau des neurones dopaminergiques nigrostriataux.

II. QUELQUES PROPRIÉTÉS DE LA TYROSINE HYDROXYLASE

Certaines des propriétés de la tyrosine hydroxylase ont été décrites, le rôle déterminant des concentrations du cofacteur dans la régulation de l'étape limitante ayant été souligné. Enzyme soluble (mais qui peut se retrouver sous forme particulière dans certaines conditions), la tyrosine hydroxylase s'agrège facilement et peut s'adsorber sur des particules subcellulaires. Elle est constituée de quatre sous-unités dont le poids moléculaire est voisin de 60 000 daltons et contient du fer. Par certaines de ses propriétés, l'enzyme des neurones dopaminergiques pourrait être distincte de celle localisée dans les neurones noradrénergiques, mais ceci n'est pas établi avec certitude. Si la L-tyrosine est le substrat privilégié de la tyrosine hydroxylase, la L-phenylalanine peut être également hydroxylée par l'enzyme. L'oxygène atmosphérique et un cofacteur ptéridinique interviennent dans l'hydroxylation de la tyrosine en DOPA, un atome d'oxygène est incorporé dans le substrat, l'autre

est réduit en H₂O alors que le cofacteur est converti en une dihydrobioptérine. Une dihydroptéridine réductase qui pourrait indirectement jouer un rôle dans la régulation de la synthèse des catécholamines régénère la forme réduite active du cofacteur. La mesure de l'activité de l'enzyme purifiée ou non se heurte à certaines difficultés (tributaires du pH, tampon, cofacteur, etc. utilisés). Ces difficultés ont été discutées car elles peuvent partiellement rendre compte de certaines contradictions de la littérature.

Les fluctuations des concentrations intraneuronales de tyrosine et d'oxygène semblent avoir un rôle relativement limité dans la régulation de la synthèse de dopamine, la diminution des substrats étant toutefois plus critique. Par contre, toute modification de la concentration du cofacteur retentit sur la synthèse et notamment lorsque l'enzyme est activée par phosphorylation. Ceci a été amplement considéré en décrivant par ailleurs des données récentes sur les étapes de la synthèse du cofacteur, sur certaines enzymes intervenant dans sa formation et sur sa localisation privilégiée dans les neurones monoaminergiques.

III. MÉCANISMES DE RÉGULATION DE LA BIOSYNTHÈSE DE DOPAMINE

III.1. Régulation de la biosynthèse de la dopamine par la dopamine intraneuronale. Rôle du processus de recapture

La dopamine cytoplasmique peut inhiber compétitivement la liaison du cofacteur ptéridinique sur la tyrosine hydroxylase. De ce fait, l'hydroxylation de la tyrosine en DOPA est réduite par les inhibiteurs de la monoamine oxydase car ceux-ci accroissent les concentrations intraneuronales de l'amine en bloquant l'une des voies de son catabolisme. Inversement, en diminuant les taux de l'amine au voisinage de la tyrosine hydroxylase, les inhibiteurs de la recapture spécifique de la dopamine au niveau de la membrane neuronale stimulent la synthèse du médiateur. Ces régulations par rétroaction ou absence de rétroaction inhibitrice du produit de la synthèse sur l'étape limitante ont été mises en évidence *in vivo* et *in vitro* au niveau de coupes ou de synaptosomes préparés à partir du striatum de rat. Elles ont été illustrées par divers exemples expérimentaux en s'attachant à les distinguer de celles mises en jeu par les récepteurs présynaptiques.

III.2. Activation *in vivo* de la tyrosine hydroxylase

L'augmentation de l'activité des neurones dopaminergiques nigro-striataux stimule la libération et la synthèse de dopamine. La levée du mécanisme

inhibiteur de rétroaction décrit précédemment (qui selon certains auteurs serait liée à une efficacité moindre du processus de recapture) intervient dans l'accélération rapide de la synthèse. Toutefois, pour l'essentiel, celle-ci doit être attribuée à une activation de la tyrosine hydroxylase. Découvert en 1976, ce mécanisme a été particulièrement étudié par l'équipe de Roth et par Zivkovic. Ces auteurs ont analysé les caractéristiques cinétiques de l'enzyme extraite du striatum de rat, l'enzyme ayant été activée *in vivo* par une stimulation électrique de la substance noire ou par l'injection périphérique d'un neuroleptique. Cette activation, qui se traduit par un accroissement de l'affinité du cofacteur ptéridinique (diminution du K_m) et une réduction de celle de l'amine (augmentation du K_i) pour l'enzyme est liée à une modification allostérique de la tyrosine hydroxylase.

Phénomène rapidement réversible, l'activation de la tyrosine hydroxylase est dépendante de la durée et de la fréquence de la stimulation électrique des fibres dopaminergiques. L'effet induit par les neuroleptiques (dont l'intensité varie selon le type de neuroleptique utilisé) est aboli après lésion de la voie striato-nigrale. Il résulte donc du blocage des récepteurs dopaminergiques post-synaptiques, de l'intervention d'une boucle de rétroaction striato-nigrale, et finalement de l'activation des neurones dopaminergiques. Selon des études récentes, une partie seulement des molécules de tyrosine hydroxylase seraient activées, cette activation étant plus facilement décelable lorsque l'activité de l'enzyme est déterminée à pH 7 en présence du cofacteur endogène. Si la stimulation électrique nigrale provoque également une activation de la tyrosine hydroxylase localisée dans les corps cellulaires et les dendrites dopaminergiques, il n'en est pas de même des neuroleptiques.

Leur activité étant accrue par la lumière, les cellules amacrines dopaminergiques de la rétine représentent un modèle remarquable pour l'étude de l'activation de la tyrosine hydroxylase. Une illumination de courte durée (15 mn) active l'enzyme selon des modalités (caractéristiques cinétiques) identiques à celles observées lors d'une stimulation électrique brève des neurones dopaminergiques nigro-striataux. Lorsque la rétine est soumise à une illumination de longue durée (3 ou 4 jours), l'activité spécifique de l'enzyme est accrue (augmentation de la V_{max}), les modifications opposées des affinités du cofacteur et de la dopamine pour l'enzyme ayant disparu. Les neuroleptiques activent la tyrosine hydroxylase par un processus similaire à celui observé lors de l'illumination brève, ces deux effets étant additifs. Enfin, une phosphorylation de l'enzyme par une protéine-kinase AMP cyclique-dépendante interviendrait dans l'activation de la tyrosine hydroxylase induite par une stimulation lumineuse de courte durée. En effet, l'activation par la lumière et celle résultant d'une phosphorylation AMP cyclique-dépendante ne sont pas additives.

III.3. *Activation in vitro de la tyrosine hydroxylase au sein de coupes ou de synaptosomes striataux*

Des études effectuées au niveau de préparations synaptosomales ou de coupes de striatum ont montré que la tyrosine hydroxylase est activée par le dérivé dibutyryl de l'AMP cyclique. Dans ces conditions, les modifications des caractéristiques cinétiques de l'enzyme (diminution du K_m pour le cofacteur, augmentation du K_i pour la dopamine) sont identiques à celles observées dans des conditions de phosphorylation de l'enzyme soluble par une protéine kinase AMP cyclique-dépendante. Ce mécanisme ne semble pas intervenir lors d'une dépolarisation des coupes induites par le potassium ou la vératridine, les activations de synthèse provoquées par la dépolarisation et le dibutyryl AMP cyclique étant additives. Récemment, dans notre laboratoire, S. El Mestikawy et M. Hamon ont pu mettre en évidence que l'activation de la tyrosine hydroxylase induite par la dépolarisation des coupes impliquait un processus de phosphorylation calcium-dépendant distinct de celui médié par l'AMP cyclique ou la forskoline. Ce mécanisme semblable à celui observé au niveau des terminaisons sérotoninergiques met en jeu une protéine kinase calcium-calmoduline dépendante. Il reste à démontrer s'il intervient dans des conditions physiologiques de stimulation de l'activité des neurones dopaminergiques. L'activation de la tyrosine hydroxylase par le processus de phosphorylation calcium-dépendant se traduit par une augmentation importante de la V_{max} sans modification apparente de l'affinité de l'enzyme pour le cofacteur ou la dopamine (ceci s'apparente aux effets induits par une illumination de longue durée au niveau de la rétine). De plus, le pH optimum de l'enzyme n'est pas modifié (pH 6), ce qui n'est pas le cas dans des conditions de phosphorylation AMP cyclique-dépendante (deux pH optima 6 et 7.1).

III.4. *Activation de la tyrosine soluble et purifiée*

Utilisant diverses préparations de tyrosine hydroxylase (médullo-surrénale, neuroblastomes, pheochromocytomes, striatum de rat, noyau caudé de bœuf), plusieurs groupes se sont attachés à montrer que l'activation de l'enzyme par la phosphorylation AMP cyclique-dépendante était liée à une phosphorylation directe de l'enzyme. De fait cette phosphorylation, qui s'accompagne d'une activation de l'enzyme, intervient sur une de ses sous-unités. Ce mécanisme est réversible, une phosphoprotéine-phosphatase nécessitant la présence de magnésium participe à la déphosphorylation et à la désactivation de l'enzyme. Si la plupart des auteurs admettent que l'enzyme phosphorylé a une plus grande affinité pour le cofacteur et une plus faible affinité pour les catécholamines, d'autres n'observent qu'un effet V_{max} ou un effet mixte K_m - V_{max} . Ces contradictions pourraient dépendre du pH (6 ou 7) et du

cofacteur (BH_4 ou $6MPH_4$) utilisés pour mesurer les constantes cinétiques de l'enzyme. Selon l'équipe de Wiener, l'effet V_{max} devrait être attribué à une phosphorylation intervenant sur un second site de l'enzyme, celle-ci étant induite par une protéine kinase (activée par l'ATP et le magnésium) distincte de la protéine-kinase AMP cyclique-dépendante et de la protéine-kinase calcium-dépendante. D'autre part, récemment, la présence de tyrosine hydroxylase a pu être mise en évidence au niveau de membranes purifiées de vésicules synaptiques originaires de la médullo-surrénale de bœuf. L'enzyme peut être phosphorylée *in situ* par la protéine-kinase AMP cyclique-dépendante. Ceci permet d'envisager sous un jour nouveau les mécanismes de régulation de la biosynthèse des catécholamines.

L'activation de la tyrosine hydroxylase par une protéine-kinase calcium-calmoduline-dépendante (kinase II) a été particulièrement étudiée par Fujisawa, Yamauchi et leurs collaborateurs en utilisant une préparation purifiée de l'enzyme obtenue à partir du tronc cérébral du rat. Le mécanisme mis en jeu est identique à celui intervenant dans l'activation de la tryptophane hydroxylase. Il nécessite successivement une phosphorylation directe de l'enzyme dépendante de la kinase II et l'action d'une protéine activatrice. Dans ces conditions, la V_{max} est augmentée, mais l'affinité de l'enzyme pour son cofacteur n'est pas modifiée. En fonction de ces données, qui doivent être confirmées avec la tyrosine hydroxylase d'origine striatale, plusieurs hypothèses peuvent être envisagées en ce qui concerne les rôles respectifs des activations calcium-calmoduline, et AMP cyclique-dépendantes. 1) Ces deux processus seraient tributaires de l'activité nerveuse, leur importance respective dépendant de l'intensité de l'activation des neurones dopaminergiques ainsi que le suggèrent certaines expériences effectuées au niveau de la rétine ; 2) l'activation calcium-calmoduline-dépendante jouerait un rôle prépondérant lors de l'augmentation de l'activité des neurones dopaminergiques et l'activation AMP cyclique-dépendante serait liée à des événements présynaptiques ; 3) le système AMP cyclique dépendant serait contrôlé par des récepteurs présynaptiques sensibles à l'adénosine (l'adénosine étant originaire de l'ATP libérée dans la fente synaptique) ainsi que l'indiquent certaines expériences effectuées au niveau des neurones noradrénergiques périphériques.

IV. RÉCEPTEURS PRÉSYPNTIQUES IMPLIQUÉS DANS LA RÉGULATION DE LA BIOSYNTHESE DE LA DOPAMINE

C'est en 1972, peu après la mise en évidence d'une régulation présynaptique de la libération de dopamine, qu'une régulation présynaptique de la biosynthèse du médiateur fut envisagée par Carlsson et ses collaborateurs. En effet, ce mécanisme pouvait expliquer l'augmentation paradoxale des taux

de dopamine ou celle de la DOPA (après inhibition de la DOPA-décarboxylase) décelée après une hémitranssection interrompant la voie nigro-striatale dopaminergique.

IV.1. *Démonstration in vivo de la régulation présynaptique de la synthèse de dopamine*

Confirmant les premières observations de Carlsson et de ses collaborateurs, plusieurs groupes ont pu mettre en évidence chez le rat une augmentation de synthèse de la dopamine striatale brièvement après interruption de l'activité nerveuse. En dehors de l'hémitranssection, celle-ci peut être obtenue par une électrocoagulation de la substance noire, l'injection nigrale de 6-hydroxydopamine ou l'administration périphérique de l'acide γ -hydroxybutyrique (ou de son précurseur, la γ -butyrolactone). Cet anesthésique général inhibe l'activité des neurones dopaminergiques nigro-striataux mais n'affecte pas celle des neurones noradrénergiques du locus coeruleus ou des neurones sérotoninergiques du noyau raphé dorsal. L'acide γ -hydroxybutyrique, dont l'action est immédiate et réversible, augmente temporairement (30-45 mn) la synthèse de dopamine. Cet effet est inhibé par les agonistes dopaminergiques et cette inhibition est bloquée par les neuroleptiques. Toutefois certains d'entre eux, tels que le pimozide et la clozapine sont peu actifs. D'autre part, Roth et ses collaborateurs ont montré que la stimulation électrique des neurones dopaminergiques (fréquence voisine de celle déterminée chez des animaux témoins) abolit l'augmentation de synthèse induite par l'acide γ -hydroxybutyrique. Ces données qui suggèrent que l'amine libérée peut réguler sa propre synthèse en agissant sur des récepteurs présynaptiques, ont été confirmées dans une autre situation expérimentale. Ainsi, les antagonistes dopaminergiques potentialisent l'augmentation de synthèse induite par une stimulation électrique supra-maximale (30 Hz) des fibres dopaminergiques nigro-striatales alors que les agonistes exercent un effet contraire.

Selon Roth et ses collaborateurs, l'augmentation de synthèse de la dopamine induite par l'interruption et l'activité nerveuse s'accompagne d'une activation de la tyrosine hydroxylase (les modifications des caractéristiques de l'enzyme étant semblables à celles observées lors de la stimulation des neurones dopaminergiques). Toutefois, ces résultats n'ont pas pu être confirmés par d'autres auteurs, l'activation de la tyrosine hydroxylase induite par les neuroleptiques étant notamment bloquée par l'acide γ -hydroxybutyrique.

Il est important de signaler que des phénomènes de super-sensibilité des récepteurs présynaptiques impliqués dans la régulation de la biosynthèse de dopamine ont été observés à la suite d'un traitement effectué avec un neuroleptique retard. Par ailleurs, la sensibilité de ces récepteurs peut varier selon le système dopaminergique considéré. Ceux localisés sur les neurones

innervant le tubercule olfactif étant plus sensibles que ceux distribués sur les terminaisons striatales. Enfin, ajoutons que certains neurones dopaminergiques, ceux innervant le cortex préfrontal notamment, semblent en être dépourvus.

IV.2. *Etude in vitro des récepteurs présynaptiques impliqués dans la régulation de la biosynthèse de dopamine*

Dans des expériences effectuées avec des coupes de striatum, Westfall et Besson ont montré, qu'en présence d'un inhibiteur de la recapture, la dopamine exogène ou la dopamine endogène libérée lors d'une dépolarisation induite par le potassium inhibaient l'hydroxylation de la ^3H -tyrosine en ^3H -DOPA. Cet effet est antagonisé par un neuroleptique. Cette démonstration *in vitro* d'une régulation présynaptique de la biosynthèse de dopamine a été confirmée par d'autres auteurs qui ont utilisé divers agonistes dopaminergiques dont l'apomorphine. Selon des données récentes, des modifications des caractéristiques cinétiques de la tyrosine hydroxylase peuvent être induites en agissant sur les récepteurs présynaptiques dopaminergiques. En effet, l'activation de l'enzyme provoquée par une dépolarisation intense de coupes de striatum peut être amplifiée par des neuroleptiques, et cet effet est aboli en présence d'un agoniste dopaminergique. L'action des agonistes et celle des antagonistes dopaminergiques sur la synthèse de dopamine ont été également observées au niveau de préparations synaptosomales. Ceci démontre que les récepteurs mis en jeu sont bien localisés sur les terminaisons dopaminergiques. Ces récepteurs semblent avoir toutes les caractéristiques des récepteurs de type D2.

J. G.

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE NEUROPHARMACOLOGIE
(Groupe NB, I.N.S.E.R.M. U. 114)

Plusieurs axes de recherches ont été poursuivis. Ils peuvent être brièvement résumés.

1. *DIFFÉRENCIATION ET DÉVELOPPEMENT DES NEURONES DOPAMINERGIQUES MÉSENCEPHALIQUES EMBRYONNAIRES DE LA SOURIS* (Responsable de l'équipe : A. PROCHIANTZ)

Au cours des années précédentes, nous avons démontré que la maturation biochimique et morphologique des neurones dopaminergiques centraux en

culture est dépendante d'interactions directes avec les neurones cibles, mais également avec les cellules gliales de type astrocytaire mésencéphaliques ou striatales.

La base moléculaire de ces phénomènes liés aux interactions cellulaires restant à élucider, l'activité de l'équipe a consisté cette année à mettre au point les modèles expérimentaux nécessaires. Le premier requisit dans une étude dont le but est d'isoler des signaux moléculaires spécifiques réside dans l'obtention d'une quantité suffisante de matériel. Les cultures primaires de cellules gliales ou neuronales ne le permettent pas. C'est la raison pour laquelle les cellules ont été transformées par le virus simien 40 (SV 40) et clonées. Certains clones astroblastiques des régions mésencéphaliques et striatales ainsi obtenus ont conservé des propriétés normales d'interaction avec les neurones. De ce point de vue, le problème de la quantité de matériel biologique est en voie d'être résolu.

Dans la mesure où les propriétés d'interactions entre neurones dopaminergiques et cellules gliales sont différentes suivant l'origine des cellules gliales mésencéphaliques ou striatales, les différences moléculaires entre protéines et glycoprotéines de surface des astrocytes ont été recherchées. La méthodologie suivie a consisté à marquer les protéines de surface, soit par iodation (^{125}I) directe soit par incorporation de méthionine (^{35}S) ou de fucose (^3H) et à analyser sur gel à deux dimensions les molécules marquées. D'ores et déjà, il est clair que des différences existent. Elles sont limitées à quelques molécules et l'implication de celles-ci dans les interactions neuro-gliales sont actuellement en cours d'analyse.

En dehors de ces éléments nouveaux introduits cette année dans notre programme de recherche, un certain nombre d'analyses commencées les années précédentes en collaboration avec divers laboratoires ont été poursuivies. Ainsi, avec P. Ascher nous avons étudié par la technique dite de patch-clamp les propriétés des canaux ioniques liés aux récepteurs glutamatergiques. Avec R. Seité, nous poursuivons l'étude ultrastructurale des neurones dopaminergiques en culture. Plus précisément, nous analysons la nature dendritique ou axonale des fibres dopaminergiques selon que le substrat de croissance est constitué de glie mésencéphalique ou striatale. Avec C. Goridis, nous travaillons sur la localisation de deux antigènes, l'un de surface et l'autre intracellulaire reconnus par des anticorps monoclonaux obtenus après immunisation de rats avec des membranes de striatum.

2. MÉCANISME DE RÉGULATION DE LA BIOSYNTHÈSE DE LA DOPAMINE AU NIVEAU DU STRIATUM

(Responsable de l'équipe : M. HAMON)

La dépolarisation de tranches de striatum de rat par un excès de potassium (30-60 mM) ou par la vératridine (50 μM) entraîne une activation de la

tyrosine hydroxylase, l'enzyme de l'étape limitante de la biosynthèse de la dopamine. Cette activation peut être modulée par des agonistes et antagonistes de la dopamine agissant sur les autorécepteurs de ce neuromédiateur localisés sur les terminaisons dopaminergiques. Ainsi le (—) sulpiride (0,1 μ M-10 μ M) (mais non son stéréoisomère inactif, le (+) sulpiride), la chlorpromazine (et non son dérivé sulfoxyde biologiquement inactif) et d'autres antagonistes comme le pimozide et la clozapine potentialisent l'effet de la dépolarisation sur l'activité de la tyrosine hydroxylase. A l'inverse, l'effet du sulpiride est supprimé par un agoniste comme le lisuride.

L'étude des caractéristiques de la tyrosine hydroxylase extraite de tissus dépolarisés en présence de sulpiride révèle en particulier un changement du pH optimum de 6,0 (enzyme non activé) à 7,1. Une modification identique étant observée à la suite de la phosphorylation de la tyrosine hydroxylase par la protéine kinase AMP cyclique-dépendante, l'action du sulpiride (et des autres antagonistes) pourrait faire intervenir un récepteur couplé à l'adénylate cyclase (S. El Mestikawy, M. Hamon, en préparation).

3. IDENTIFICATION ET CARACTÉRISATION DE CERTAINES PROPRIÉTÉS DES RÉCEPTEURS CENTRAUX

3.1. Récepteurs couplés à une adénylate cyclase au niveau de cellules neuronales et gliales embryonnaires de la souris en culture primaire (Responsable de l'équipe : J. PREMONT)

Des récepteurs de la somatostatine et du VIP (vasoactive intestinal peptide) couplés à une adénylate cyclase ont été recherchés sur des populations de cellules neuronales ou gliales en culture primaire issues du cortex cérébral, du striatum ou du mésencéphale.

— Les neurones provenant des trois structures étudiées possèdent des récepteurs de la somatostatine. Leur stimulation induit une inhibition de l'activité de l'adénylate cyclase. Les caractéristiques cinétiques de cette inhibition sont modifiées lorsque l'activité de l'enzyme est stimulée par une monoamine (dopamine, sérotonine, isoprotérénol) selon des modalités (affinité, effet maximum) qui dépendent à la fois de l'amine et de la structure considérées. Des conclusions concernant une co-localisation de certains récepteurs sur une même cellule peuvent en être déduites.

— L'effet inhibiteur de la somatostatine sur l'activité adénylate cyclase des membranes des cellules gliales n'apparaît qu'en présence d'un activateur (isoproterenol ou VIP) et uniquement sur les cellules issues du mésencéphale et du striatum. Aucun effet de la somatostatine n'est constaté sur les cellules gliales issues du cortex cérébral, ce qui confirme l'hétérogénéité des cellules gliales cérébrales (H. Chneiweiss, J. Glowinski, J. Prémont, en préparation).

— Des récepteurs du VIP ont été mis en évidence dans les trois structures étudiées aussi bien au niveau des cellules neuronales que gliales, l'action du VIP se traduisant dans tous les cas par une activation de l'adénylate cyclase. Des expériences d'additivité ont révélé une co-localisation des récepteurs du VIP et des récepteurs d'une des monoamines ou de la somatostatine quels que soient la structure et le type cellulaire étudiés (H. Chneiweiss, J. Glowinski, J. Prémont, en préparation).

3.2. Récepteurs sérotoninergiques (Responsable de l'équipe : M. HAMON)

L'étude approfondie des caractéristiques de liaison d'un agoniste de la sérotonine, le 8-hydroxy-N,N-dipropyl-2-aminotétraline tritié ou $^3\text{H-PAT}$, sur des membranes de cerveau de rat a permis de montrer que les récepteurs sérotoninergiques de type S_1 (affinité nanomolaire pour la sérotonine) sont en fait constitués de deux sous-classes S_{1A} et S_{1B} . Seule la sous-classe S_{1A} présente une forte affinité pour le $^3\text{H-PAT}$. L'étude en microscopie optique des sites marqués par le $^3\text{H-PAT}$ (détection autoradiographique sur coupes, collaboration avec M. Marcinkiewicz et D. Vergé, Faculté des Sciences, Paris VI) révèle une distribution préférentielle dans les zones limbiques : hippocampe, septum, amygdale, cortex frontal. Une étude pharmacologique des sites S_{1A} marqués par le $^3\text{H-PAT}$ a été entreprise. Elle a notamment conduit à la synthèse de deux ligands dérivés du PAT : un agent alkylant, le chloro-PAT et un agent photosensible, le nitro-azido-phényl-PAT (collaboration avec A. Marquet et M. Emerit, Faculté des Sciences, Paris VI). Ces deux composés bloquent irréversiblement les récepteurs de la sérotonine dans des membranes de diverses structures cérébrales (hippocampe, striatum, cortex cérébral). L'identification des protéines qui fixent le $^3\text{H-nitroazidophényl-PAT}$ est en cours (H. Gozlan, S. El Mestikawy, L. Pichat, J. Glowinski, M. Hamon, *Nature*, 1983 ; M. Marcinkiewicz, D. Vergé, H. Gozlan, L. Pichat, M. Hamon, *Brain Res.*, 1984 ; M. Hamon, S. Bourgoïn, H. Gozlan, M.D. Hall, C. Goetz, F. Artaud, A.S. Horn, *Eur. J. Pharmacol.*, sous presse ; M.B. Emerit, H. Gozlan, M.D. Hall, M. Hamon, A. Marquet, soumis à *Biochem. Pharmacol.*).

3.3. Récepteurs des tachykinines (Responsable de l'équipe : J.C. BEAUJOUAN)

A l'aide d'un analogue de l'élédoisine, le dérivé iodé $^{125}\text{I-Bolton Hunter}$ couplé à l'élédoisine ($^{125}\text{I-BHE}$), synthétisé au laboratoire, nous avons pu mettre en évidence une liaison spécifique de ce ligand au niveau d'une préparation synaptosomale (fraction P_2) obtenue à partir du cortex cérébral de rat. Dans cette structure, l'affinité de ces sites pour le ligand est de 13,5 nM et leur nombre est particulièrement élevé (M_{max} : 297 fmoles/mg prot.). La liaison spécifique est saturable, réversible, température-dépendante et n'est pas inhibée par l'ouabaïne excluant un transport actif au sein des synaptosomes.

Diverses tachykinines inhibent compétitivement la liaison de ^{125}I -BHE, l'élédoisine et la kassinine étant les plus efficaces alors que la substance P et la physalaemine le sont nettement moins. Une étude régionale a ensuite révélé une distribution hétérogène de ces sites. Leur nombre élevé dans le cortex cérébral et l'hypothalamus, atteint une valeur intermédiaire dans l'hippocampe, le striatum et le thalamus, et est plus faible dans le mésencéphale et le septum. Le cervelet en est dépourvu. Ces données démontrent l'existence dans le cerveau d'une classe nouvelle de récepteurs des tachykinines distincte de celle de la substance P. En effet, les sites spécifiques de liaison de ^{125}I -BHE et de ^{125}I -BHSP diffèrent non seulement par leurs caractéristiques biochimiques et pharmacologiques mais aussi par leur distribution régionale (J.C. Beaujouan, Y. Torrens, A. Viger, J. Glowinski, *Mol. Pharmacol.*, sous presse).

4. RÉGULATIONS PRÉSYNAPTQUES ET RÉGULATIONS BILATÉRALES DE CERTAINS SYSTÈMES NEURONAUX DES GANGLIONS DE LA BASE

4.1. Mécanismes présynaptiques impliqués dans la régulation de la libération de dopamine au niveau des terminaisons des neurones dopaminergiques nigro-striataux chez le chat (Responsable de l'équipe : A. CHERAMY)

Dans des études précédentes, nous avons montré que divers noyaux thalamiques moteurs et intralaminaires sont impliqués dans des régulations bilatérales de la libération de dopamine au niveau des terminaisons ou des dendrites des neurones dopaminergiques nigro-striataux.. L'étude du rôle des noyaux thalamiques moteurs (VM-VL) innervés par les neurones nigro-thalamiques GABAergiques a été poursuivie chez des chats anesthésiés avec de l'halothane. Plus précisément, les mécanismes intervenant dans les régulations bilatérales résultant de l'application unilatérale de GABA (10^{-5} M) dans le VM-VL ont été étudiés. Ce traitement induit une augmentation de la libération de dopamine dans les deux noyaux caudés. Cet effet doit être attribué à une facilitation présynaptique, l'activité unitaire des neurones dopaminergiques étant inhibée dans les deux substances noires. Il résulte vraisemblablement de la mise en jeu des neurones cortico-striataux glutamatergiques qui se projettent bilatéralement. En effet, l'augmentation de la libération de dopamine dans le noyau caudé contralatéral est supprimée à la suite de la section du corps calleux par où transitent les fibres cortico-striatales glutamatergiques. De plus, l'augmentation de la libération de dopamine dans le noyau caudé ipsilatéral disparaît en présence d'un antagoniste des récepteurs glutamatergiques mais persiste après section des fibres dopaminergiques nigro-striatales. Ces données démontrent que la libération de dopamine au niveau des terminaisons ne dépend pas obligatoirement de l'activité des cellules dopami-

nergiques. Celle-ci peut être contrôlée *in vivo* par des afférences striatales impliquées dans une régulation présynaptique (R. Romo, A. Chéramy, G. Godeheu, J. Glowinski, *Brain Research*, sous presse ; *Nature*, sous presse).

4.2. *Régulation bilatérale de la libération de sérotonine au niveau des deux noyaux caudés et des deux substances noires chez le chat*
(Responsable de l'équipe : P. SOUBRIE)

Le rôle des noyaux moteurs thalamiques (VM-VL) dans les régulations bilatérales de la libération de sérotonine a été étudié chez le chat anesthésié avec de l'halothane. L'application unilatérale de GABA (10^{-5} M) dans le VM-VL provoque une réduction de la libération de sérotonine au niveau des deux noyaux caudés et des deux substances noires. Dans ces conditions, la libération de sérotonine est accrue dans le noyau raphé dorsal. Ceci suggère que les effets observés au niveau des terminaisons des neurones sérotoninergiques résultent d'une inhibition de leur activité. La voie habénulo-raphé dorsal pourrait intervenir dans ces régulations bilatérales, puisque son activation produit des effets analogues (R. Romo, P. Soubrié, J. Glowinski, en préparation).

4.3. *Régulation bilatérale de la libération de l'acétylcholine au niveau des deux noyaux caudés chez le chat* (Responsable de l'équipe : A. CHERAMY)

Une méthode a été mise au point pour mesurer la libération *in vivo* de l'acétylcholine au niveau du noyau caudé chez le chat anesthésié avec de l'halothane (collaboration entreprise avec le laboratoire du D^r M. Israel, Gif-sur-Yvette, C.N.R.S.). En présence d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, la libération spontanée du médiateur peut être mise en évidence en dépit de la réduction de l'activité des interneurons cholinergiques striataux induite par l'anesthésie. Le rôle des noyaux moteurs thalamiques (VM-VL) dans le contrôle bilatéral de la régulation de la libération de l'acétylcholine au niveau des deux noyaux caudés a ensuite été étudié. L'application unilatérale de GABA (10^{-5} M) dans le VM-VL réduit la libération de l'acétylcholine dans les deux noyaux caudés. Ce résultat confirme l'influence inhibitrice des neurones dopaminergiques nigro-striataux sur l'activité des interneurons cholinergiques striataux puisque le même traitement facilite la transmission dopaminergique dans les deux noyaux caudés (Y. Morot-Gaudry, R. Romo, M. Lesbats, A. Chéramy, G. Godeheu, J. Glowinski, M. Israel, en préparation).

4.4. *Régulation de la libération de GABA au niveau des voies GABA-ergiques striato-nigrales et nigro-thalamiques chez le chat*
(Responsable de l'équipe : M.J. BESSON)

Précédemment, nous avons montré qu'une application unilatérale de muscimol (10^{-6} M) dans une substance noire modifie la libération de ³H-GABA

(néosynthétisé à partir de ^3H -glutamine) dans le noyau caudé (réduction) et dans la substance noire (augmentation) de l'hémisphère contralatéral chez le chat anesthésié avec de l'halothane. Les noyaux thalamiques ipsilatéraux interviennent dans ces régulations. La réponse observée dans le noyau caudé contralatéral étant inversée (augmentation) après lésion des noyaux moteurs (ventro-médian, ventro-latéral) ou intralaminaires (centralis lateralis, paracentralis). Seule la lésion des noyaux intralaminaires inverse la réponse dans la substance noire contralatérale (réduction) (M.L. Kemel, C. Gauchy, J. Glowinski, M.J. Besson).

La dopamine libérée à partir des dendrites des neurones dopaminergiques nigro-striataux régule l'activité des neurones nigro-thalamiques GABAergiques. En effet, la facilitation ou l'interruption de la transmission dopaminergique nigrale induite par des applications locales d'amphétamine (10^{-6} M) ou d' α -methylparatyrosine (10^{-4} M) pratiquées à différents niveaux de la pars reticulata ou de la pars compacta provoquent des modifications de la libération de ^3H -GABA dans les noyaux thalamiques moteurs ou intralaminaires ipsilatéraux. Les effets observés (augmentation ou diminution) dépendent d'une part du site d'application des agents pharmacologiques et d'autre part des noyaux thalamiques considérés. De plus, l'organisation topographique des voies nigro-thalamiques mises en jeu a été étudiée par analyse autoradiographique du matériel radioactif transporté dans les sites de projection après injection d'un mélange d'acides aminés- ^{14}C dans diverses zones de la substance noire. Les noyaux moteurs (VM et VL) sont marqués ipsilatéralement et les noyaux intralaminaires (centralis lateralis) bilatéralement après une injection effectuée dans la pars reticularis. Ces noyaux sont peu marqués lorsque les injections sont localisées dans la pars compacta (C. Gauchy, M.L. Kemel, M. Desban, J. Glowinski, M.J. Besson, en préparation).

4.5. *Libération in vivo de dopamine et de GABA dans le striatum chez le rat* (Responsable de l'équipe : M.J. BESSON)

La méthode de superfusion locale à l'aide d'une canule « push-pull » a été adaptée chez le rat afin de mesurer la libération de ^3H -dopamine (synthétisée à partir de ^3H -tyrosine) ou de ^3H -GABA (synthétisé à partir de ^3H -glutamine) au niveau du striatum.

Chez le rat anesthésié avec le l'halothane, l'amphétamine (10^{-6} M) ou la benzotropine (10^{-6} M) appliquées localement augmentent la libération de ^3H -dopamine. De même, les quantités de ^3H -dopamine dans les superfusats sont accrues après l'injection intraveineuse de pargyline, un inhibiteur de la monoamine oxydase. Inversement, l'injection d'apomorphine réduit la libération de ^3H -dopamine et cet effet est antagonisé par un neuroleptique (halopéridol). Des résultats identiques ont été obtenus chez le rat éveillé maintenu en contention légère, préparation qui par ailleurs a permis de vérifier l'action

inhibitrice de l'acide gamma-hydroxybutyrique sur la libération de ^3H -dopamine.

Les effets de certains agonistes dopaminergiques sur la libération de ^3H -GABA ont été examinés. Appliqué localement, le Ru 24926, un agoniste de type D_2 inhibe la libération de ^3H -GABA dans le striatum, cet effet étant antagonisé par le S-sulpiride, un antagoniste sélectif des récepteurs D_2 . De plus, l'effet du Ru 25926 est amplifié en présence d'acétylcholine et d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase. L'ADTN, un agoniste D_1 et D_2 s'étant révélé inefficace, nous avons entrepris d'explorer l'action spécifique des agonistes D_1 (H. Savaki, J.A. Girault, U. Spampinato, M.J. Besson, en préparation).

4.6. Effets de la lésion ipsilatérale du noyau ventro-médian du thalamus sur les variations métaboliques induites dans différentes structures cérébrales chez le rat par la stimulation électrique de la substance noire
(Responsable de l'équipe : M.J. BESSON)

Comme nous l'avons montré précédemment, des modifications importantes du métabolisme du glucose (mesurées par la méthode au ^{14}C -2-déoxyglucose) sont observées dans diverses structures cérébrales ipsi- et contralatérales après stimulation électrique unilatérale de la substance noire. Cette stimulation devient inefficace huit jours après la lésion du noyau ventro-médian, les noyaux activés antidromiquement (noyau sous-thalamique, noyau entopédonculaire, globus pallidus) présentant seuls une activation métabolique. En revanche, 30 jours après la lésion unilatérale du noyau thalamique des activations unilatérales réapparaissent dans différentes aires corticales (cortex sensorimoteur, préfrontal et frontal) et dans de nombreux noyaux thalamiques (moteurs, intralaminaires et antérieurs). Des activations bilatérales sont également observées dans le système extrapyramidal (striatum, globus pallidus, noyau entopédonculaire, substance noire) et dans plusieurs structures limbiques à l'exception toutefois de l'hippocampe et du gyrus dentelé. Il est remarquable de constater que les activations contralatérales sont en général supérieures à celles décelées ipsilatéralement (phénomène n'intervenant pas chez les rats intacts). Ceci pourrait traduire une réorganisation des efférences nigrales en réponse à la lésion d'une structure de projection importante.

5. PROPRIÉTÉS DES NEURONES DOPAMINERGIQUES MÉSOCORTICO-PRÉFRONTAUX ET MÉSOLIMBIQUES ET DE CERTAINES DE LEURS CELLULES CIBLES

5.1. Etudes biochimique (Responsable de l'équipe : J.P. TASSIN)

L'étude des propriétés des voies dopaminergiques mésocortico-préfrontale

et mésolimbiques et celle des récepteurs dopaminergiques couplés à une adénylate cyclase (récepteurs D₁) se poursuit dans trois directions :

— Précédemment nous avons montré que la lésion des neurones cortico-noyau accumbens facilitait l'apparition de l'hypersensibilité de dénervation des récepteurs D₁ du noyau accumbens chez le rat. Des études récentes indiquent que l'hypersensibilité de dénervation des récepteurs D₁ de la partie rostrale du striatum est également sous le contrôle des efférences corticales (M. Reibaud, G. Blanc, J.M. Studler, J. Glowinski, J.P. Tassin, *Brain Research*, sous presse ; J.P. Tassin, G. Blanc, J.M. Studler, D. Hervé, en préparation).

— Un modèle animal a été développé afin de préciser les rôles respectifs des neurones mésocortico-préfrontaux et mésolimbiques dopaminergiques. Chez des rats prétraités avec de la desmethylimipramine (un inhibiteur de la capture catécholamines dans les fibres noradrénergiques), l'injection de 6-hydroxydopamine dans l'aire tegmentale ventrale détruit sélectivement les neurones dopaminergiques innervant le noyau accumbens, ceux se projetant dans le cortex préfrontal sont épargnés. Ces données suggèrent que la présence des fibres noradrénergiques innervant l'aire tegmentale ventrale protège les fibres mésocortico-préfrontales dopaminergiques de l'effet neurotoxique de la 6-hydroxydopamine. Dans ces conditions, les fibres dopaminergiques mésoséptales et les fibres mixtes dopaminergiques-cholecystokinine 8.S (CCK 8) semblent également être protégées (D. Hervé, J.M. Studler, G. Blanc, J.P. Tassin, en préparation).

— L'innervation CCK 8 du noyau accumbens chez le rat est complexe, la partie postérieure étant innervée par des fibres dopaminergiques-CCK 8 et la partie antérieure par des fibres CCK 8 non dopaminergiques dont l'origine est encore inconnue. Celle-ci a été recherchée en pratiquant différents types de lésion. Une baisse faible des taux de CCK 8 a été observée dans la partie antérieure du noyau accumbens après des lésions électrolytiques bilatérales de l'amygdale et du noyau supra-optique. Par contre diverses sections frontale ou sagittale unilatérales pratiquées autour du noyau accumbens se sont révélées inefficaces. Il en fut de même à la suite de lésions induites par des injections locales d'acide kainique ou d'acide iboténique excluant la présence d'interneurones. Des connexions interhémisphériques pourraient compenser les effets induits par les lésions unilatérales.

5.2. *Etudes électrophysiologiques* (Responsable de l'équipe : A.M. THIERRY)

L'étude de l'influence inhibitrice du système dopaminergique mésocortical sur l'activité des neurones du cortex préfrontal médian a été poursuivie chez le rat et complétée par une analyse pharmacologique. Paradoxalement, l'inhibition de l'activité spontanée des cellules corticales induite par la stimulation électrique du tegmentum mésencéphalique ventro-médian (VMT) n'est pas

bloquée par les neuroleptiques, les antagonistes des récepteurs dopaminergiques. Ceci a pu être observé après administration périphérique de divers types de neuroleptiques, quelle que soit la dose utilisée ou la durée du traitement (aigu, chronique 5 à 12 jours). Par contre l'inhibition de l'activité spontanée des cellules cibles des neurones dopaminergiques innervant le noyau accumbens provoquée par la stimulation électrique du VMT peut être antagonisée par l'injection systémique des neuroleptiques (A. Ferron, A.M. Thierry, C. Le Douarin, J. Glowinski, *Brain Research*).

6. IMPLICATIONS FONCTIONNELLES DES SYSTÈMES ENKÉPHALINERGHIQUES ET SÉROTONINERGHIQUES SPINAUX DANS LE CONTRÔLE DE LA NOCICEPTION (Responsable de l'équipe : M. HAMON, collaboration avec l'unité I.N.S.E.R.M. 161, D. LEBARS et J.M. BESSON)

La perfusion de l'espace sous-arachnoïdien spinal avec du LCR synthétique a permis de montrer une libération spontanée tonique de met-enképhaline à partir de la moelle épinière chez le rat anesthésié. Certaines stimulations nociceptives (pincement du museau, injection intrapéritonéale d'acide acétique) provoquent une augmentation importante mais transitoire de la libération du peptide. En revanche, d'autres comme par exemple un choc thermique appliqué au niveau de la queue ou des pattes antérieures ou postérieures n'ont aucun effet. Les stimulations efficaces font intervenir une boucle spino-cérébro-spinale puisque la transection de la moelle épinière au niveau cervical supprime leurs effets sur la libération de met-enképhaline.

Grâce à la mise au point d'une méthode de dosage très sensible de la sérotonine (HPLC couplée à la détection électrochimique), une étude parallèle sur les systèmes sérotoninergiques spinaux a pu être entreprise. Elle a révélé en particulier que la stimulation inefficace sur les systèmes enképhalinergiques — un choc thermique appliqué au niveau de la queue — induit une forte augmentation de la libération de la sérotonine à partir de la moelle épinière.

Ces résultats indiquent que les neurones sérotoninergiques bulbo-spinaux et les interneurons enképhalinergiques spinaux ne jouent pas le même rôle dans le contrôle du message nociceptif. Cette distinction est d'ailleurs illustrée par des expériences *in vitro* qui démontrent clairement que les systèmes sérotoninergiques et enképhalinergiques sont fonctionnellement distincts au niveau de la corne dorsale de la moelle.

En association avec le groupe de B. Roques (laboratoire de Chimie Organique, Faculté de Pharmacie, Paris), un nouveau bloquant de la dégradation des enképhalines, le chelatorphan, a été étudié en 1983. Ce composé est aussi efficace que l'association thiorphan-bestatine pour inhiber le catabolisme

de la ^3H -metenképhaline par les peptidases (enképhalinase et aminopeptidases). *In vitro* et *in vivo*, la perfusion de la moelle épinière de rat avec cette substance provoque une forte augmentation de la libération apparente de metenképhaline. Cette action au niveau spinal pourrait être directement en relation avec les propriétés analgésiques du chélatorphan (F. Cesselin, S. Bourgoïn, F. Artaud, M. Hamon, *J. Neurochem.*, sous presse ; F. Cesselin, D. Le Bars, S. Bourgoïn, F. Artaud, H. Gozlan, R.M. Clot, J.M. Besson, M. Hamon, soumis à *Brain Research*).

PUBLICATIONS

J. PREMONT, M.C. DAGUET-DE MONTETY, A. HERBET, J. GLOWINSKI, J. BOCKAERT et A. PROCHIA NTZ, A., *Biogenic amines and adenosine-sensitive adenylyate cyclase in primary cultures of striatal neurons (Developmental Brain Research, 9, 1, 53-62, 1983).*

M.L. KEMEL, C. GAUCHY, R. ROMO, J. GLOWINSKI et M.J. BESSON, *In vivo release of ^3H -GABA in cat caudate nucleus and substantia nigra. I. Bilateral changes induced by a unilateral nigral application of muscimol (Brain Research, 222, 331-340, 1983).*

V. MOURA, M. MALLAT, C. JEANTET et A. PROCHIA NTZ, *Microheterogeneity of tubulin proteins in neuronal and glial cells from the mouse brain in culture (The E.M.B.O. Journal, 2, 8, 1243-1248, 1983).*

P. SOUBRIE, C. BLAS, A. FERRON et J. GLOWINSKI, *Chlordiazepoxide reduces in vivo serotonin release in the basal ganglia of « encéphale isolé » but not anesthetized cats : evidence for a dorsal raphe site of action (J. Pharmacol. expt. Ther., 226, 2, 526-532, 1983).*

C. GOETZ, S. BOURGOÏN, F. CESSÉLIN, A. BRANDI, D. BRESSION, M. MARTINET, F. PEILLON et M. HAMON, *Alterations in central neurotransmitter receptor binding sites following estradiol implantation in female rats (Neurochem. Intern., 5, 375-383, 1983).*

H. GOZLAN, S. EL MESTIKAWY, L. PICHAT, J. GLOWINSKI et M. HAMON, *Identification of presynaptic serotonin autoreceptors using a new ligand (Nature, 305, 140-142, 1983).*

C. POUJADE, S. LAVIELLE, Y. TORRENS et A. MARQUET, *Synthesis and biological activity of glycosylated analogs of the C-terminal hexapeptide and heptapeptide of substance P. (Int. J. Peptide Protein Res., 21, 254-257, 1983).*

Y. TORRENS, J.C. BEAUJOUAN, A. VIGER et J. GLOWINSKI, *Properties of a ^{125}I -substance P derivative binding to synaptosomes from various brain structures and the spinal cord of the rat (Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 324, 134-139, 1983).*

C. GAUCHY, M.L. KEMEL, R. ROMO, A. CHERAMY, J. GLOWINSKI et M.J. BESSON, *Effects of nigral application of muscimol on release of (^3H) gamma-aminobutyrate and on multi-unit activity in various cat thalamic nuclei (Neuroscience, 10, 781-788, 1983).*

M. HAMON, C. GOETZ, C. EUVRARD, C. PASQUALINI, M. LE DAFNIET, B. KERDELHUE, F. CESSÉLIN et F. PEILLON, *Biochemical and functional alterations of central GABA receptors during chronic estradiol treatment (Brain Research, 279, 141-152, 1983).*

M.F. CHESSELET, A. CHERAMY, R. ROMO, M. DESBAN et J. GLOWINSKI, *GABA in thalamic motor nuclei modulates dopamine release from the two dopaminergic nigrostriatal pathways in the cat (Experimental Brain Research, 51, 275-282, 1983).*

S. DENIS-DONINI, J. GLOWINSKI et A. PROCHIANTZ, *Specific influence of striatal target neurons on the in vitro outgrowth of mesencephalic dopaminergic neurites : A morphological quantitative study (The Journal of Neuroscience, 3, 2292-2299, 1983).*

R. ROMO, A. CHERAMY, M. DESBAN, G. GODEHEU et J. GLOWINSKI, *GABA in the intralaminar thalamic nuclei modulates dopamine release from the two dopaminergic nigrostriatal pathways in the cat (Brain Res. Bull., 11, 671-680, 1983).*

M. ARLUISON, M. CONRATH-VERRIER, M. TAUC, P. MAILLY, I.S. DE LA MANCHE, F. CESSÉLIN, S. BOURGOIN et M. HAMON, *Different localizations of met-enkephalin-like immunoreactivity in rat forebrain and spinal cord using hydrogen peroxide and Triton X 100. Light microscopic study (Brain Res. Bull. 11, 557-571, 1983).*

M. ARLUISON, M. CONRATH-VERRIER, M. TAUC, P. MAILLY, I.S. DE LA MANCHE, M. DIETL, F. CESSÉLIN, S. BOURGOIN et M. HAMON, *Different localizations of met-enkephalin-like immunoreactivity in rat forebrain and spinal cord using hydrogen peroxide and Triton X 100. Ultrastructural microscopic study (Brain Res. Bull., 11, 573-586, 1983).*

M. CONRATH-VERRIER, M. DIETL, M. ARLUISON, F. CESSÉLIN, S. BOURGOIN et M. HAMON, *Localization of met-enkephalin-like immunoreactivity within pain-related nuclei of cervical spinal cord, brain stem and midbrain in the cat (Brain Res. Bull., 11, 587-604, 1983).*

D. BRESSION, A.M. BRANDI, M. LE DAFNIET, F. CESSÉLIN, M. HAMON, M. MARTINET, B. KERDELHUE et F. PEILLON, *Modifications of the high and low affinity pituitary domperidone-binding sites in chronic estrogenized rats (Endocrinology, 113, 1789-1805, 1983).*

P. GASPARD, B. BERGER, M. GAY, M. HAMON, F. CESSÉLIN, A. VIGNY, F. JAVOY-AGID et Y. AGID, *Tyrosine hydroxylase and methionine-enkephalin in the human mesencephalon. Immunocytochemical localization and relationships (J. Neurol. Sci., 58, 247-267, 1983).*

H. TAQUET, F. JAVOY-AGID, J.C. LEGRAND, Y. AGID et F. CESSÉLIN, *Parkinson's disease affects differently Met⁵- and Leu⁵-enkephalin in the human brain (Brain Research, 280, 379-382, 1983).*

M.H. THIEBOT, M. HAMON et P. SOUBRIE, *The involvement of nigral serotonin innervation in the control of punishment-induced behavioral inhibition in rats (Pharmacol. Biochem. Behav., 19, 225-229, 1983).*

P. TRACQUI, P. BREZILLON, J.F. STAUB, Y. MOROT-GAUDRY, M. HAMON et A.M. PERAULT-STAUB, *Model of brain serotonin metabolism. I. Structure determination-parameter estimation (Am. J. Physiol., 244, R 193-R 205, 1983).*

P. TRJCQUI, Y. MOROT-GAUDRY, J.F. STAUB, P. BREZILLON, A.M. PERAULT-STAUB, S. BOURGOIN et M. HAMON, *Model of brain serotonin metabolism. II. Physiological interpretation (Am. J. Physiol., 244, R 206-R 215, 1983).*

S. DENIS-DONIN, J. GLOWINSKI et A. PROCHIANTZ, *Glial heterogeneity may define the three-dimensional shape of mouse mesencephalic dopaminergic neurones (Nature, 307, 641-643, 1984).*

L. NOWAK, P. BREGESTOVSKI, P. ASCHER, A. HERBET et A. PROCHIANTZ, *Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones (Nature, 307, 462-465, 1984).*

J. VUILLET, M.C. DAUGUET-DE MONTETY, A. AUTILLO-TOUATI, J. GLOWINSKI, A. PROCHIANTZ et R. SEITE, *A combined light and electron microscopic method for the visualization of the same in vitro neuron by radioautography and serial sections (J. Microscopy, 133, 171-176, 1984).*

M. SEBBEN-PEREZ, C. EBERSOLT, G. BLANC et J. BOCKAERT, *Alpha₁- and alpha₂-adrenergic receptors in rat corpus striatum (Neurochem. Int., 6, 103-108, 1984).*

J.M. STUDLER, M. REIBAUD, G. TRAMU, G. BLANC, J. GLOWINSKI et J.P. TASSIN, *Pharmacological study on the mixed CCK8/DA meso-nucleus accumbens pathway : Evidence for the existence of storage sites containing the two transmitters (Brain Research, 298, 91-97, 1984).*

A. CHERAMY, R. ROMO, G. GODEHEU et J. GLOWINSKI, *Effects of electrical stimulation of various midline thalamic nuclei on the bilateral release of dopamine from dendrites and nerve terminals of neurons in the nigro-striatal dopaminergic pathway* (*Neuroscience Lett.*, 44, 193-198, 1984).

A. FERRON, A.M. THIERRY, C. LE DOUARIN et J. GLOWINSKI, *Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic system on spontaneous activity on excitatory response induced from the thalamic mediodorsal nucleus in the rat medial prefrontal cortex* (*Brain Research*, 302, 257-265, 1984).

H. CHNEIWEISS, A. PROCHIANTZ, J. GLOWINSKI et J. PREMONT, *Biogenic amine-sensitive adenylate cyclase in primary culture of neuronal of glial cells from mesencephalon* (*Brain Research*, 302, 363-370, 1984).

PARTICIPATION A DES CONGRÈS

Jacques GLOWINSKI a participé aux symposia suivants :

— « Neurotransmetteurs cérébraux et Psychiatrie », 22 octobre 1983, Québec (Canada) : « The mesocortico-prefrontal dopaminergic system ».

— « Functions of the Basal Ganglia » (The CIBA Foundation), 21-24 novembre 1983, Londres, UK : « Role of the thalamus in the bilateral regulation of dopaminergic and GABAergic neurons in the basal ganglia » (J. Glowinski, A. Chéramy, M.J. Besson).

De plus, il a donné plusieurs conférences à :

- L'Institut de Pharmacologie à Shanghai (Chine) (septembre 1983) ;
- L'Université de McGill (Canada) (20 octobre 1983) ;
- L'Université de Montréal (Canada) (21 octobre 1983) ;
- Département de Pharmacologie, Oxford (UK) (24 mai 1984) ;
- Département de Physiologie, Oxford (UK) (25 mai 1984) ;
- NIMH, Bethesda (U.S.A.), réception en l'honneur du D^r J. Axelrod (29 mai 1984).

*
**

Différents chercheurs ont présenté leurs travaux dans les congrès suivants :

M.J. BESSON, *Basal ganglia interhemispheric interactions studies by neurotransmitters release and ¹⁴C-deoxyglucose method*. 4th Eur. Winter Conf. on Brain Research, Courchevel, 11-17 mars 1984.

H. SAVAKI, *Functional interhemispheric relations of basal ganglia components studies by the autoradiographic ¹⁴C-deoxyglucose method.* 4th Eur. Winter Conf. on Brain Research, Courchevel, 11-17 mars 1984.

J.P. TASSIN, M. REIBAUD, G. BLANC, J.M. STUDLER et J. GLOWINSKI, *Regulation of the dopaminergic receptors stimulating and adenylyclase (D1 receptors) in the rat : evidences for the role of nondopaminergic fibers.* 4th Eur. Winter Conf. on Brain Research, Courchevel, 11-17 mars 1984.

F. ARTAUD, S. BOURGOIN, F. CESSÉLIN, S. EL MESTIKAWY, H. GOZLAN, M. HAMON et D. LEBARS, *Nociceptive stimuli activate spinal enkephalinergic and serotonergic systems in the rat.* 4th eur. Winter Conf. on Brain Research, Courchevel, 11-17 mars 1984.

C. LE DOUARIN, A.M. THIERRY, A. FERRON et J. GLOWINSKI, *The prefrontal cortex : a target site for neuroleptics in the rat ?* Le médicament analyseur des comportements, Paris, 3-4 mai 1984.

U. SPAMPINATO, J.A. GIRAULT, J. GLOWINSKI, H. SAVAKI et M.J. BESSON, *Etude in vivo des modifications de libération de ³H-GABA induites par différents agonistes dopaminergiques dans le striatum du rat.* Réunion franco-italienne des pharmacologistes, Paris, 7-9 juin 1984.

N. LANTIN, A. TRUONG-NGOC, C. GAUCHY, M.L. KEMEL, J.M. DENIAU, G. CHEVALIER et M.J. BESSON, *Etude de la libération de ³H-GABA au niveau de la voie nigro-colliculaire chez le rat.* Réunion franco-italienne des pharmacologistes, Paris, 7-9 juin 1984.

A. CHERAMY, R. ROMO et J. GLOWINSKI, *In vivo demonstration of pre-synaptic facilitation of dopamine release by striatal afferences in the cat.* 14th C.I.N.P. Congress, Florence, June 19-23 1984.

R. ROMO, A. CHERAMY et J. GLOWINSKI, *Role of motor thalamic nuclei in the control of dopamine release from neurons of the two dopaminergic nigro-striatal pathways in the cat.* 14th C.N.P. Congress, Florence, June 19-23 1984.

A.M. THIERRY, C. LE DOUARIN, A. FERRON et J. GLOWINSKI, *Influence of the mesocortical DA system on the activity of prefrontal cortical neurons in the rat.* 14th C.I.N.P. Congress, Florence, June 19-23 1984.

M.D. HALL, H. GOZLAN, M.B. EMERIT, S. EL MESTIKAWY et M. HAMON, *Differential properties of pre- and post-synaptic 5-HT binding sites in the rat brain.* 14th C.I.N.P. Congress, Florence, June 19-23 1984.

H. GOZLAN, M.B. EMERIT, M.D. HALL, M. HAMON et A. MARQUET, *Irreversible blockade of 5-HT receptors of the rat brain using a cloro-derivative of PAT.* 14th C.I.N.P. Congress, Florence, June 19-23 1984.

M.J. BESSON, J.A. GIRAULT, N.A. TRUONG, J. GLOWINSKI et H. SAVAKI, *Change of 3H -DA and 3H -GABA release in the rat basal ganglia induced by pharmacological manipulation of dopaminergic transmission*. 14th C.I.N.P. Congress, Florence, June 19-23 1984.

J. GLOWINSKI, *Information provided by nigrostriatal dopaminergic neurons, respective role of nerve activity and presynaptic influences in dopaminergic transmission*. 5th Int. Meeting of the I.S.D.N., Chieti, June 24-28 1984.

LISTE DES DIPLOMÉS - 1984

Michel REIBAUD : Etude de la régulation des récepteurs dopaminergiques D₁ par des fibres non-dopaminergiques : rôle des efférences fronto-corticales sur les récepteurs D₁ du noyau accumbens.

— Diplôme d'Ingénieur C.N.A.M., soutenu le 14 mai 1984.

Yvette TORRENS : Propriétés des neurones striato-nigraux substance P-ergiques étudiés chez le rat.

— Thèse de Doctorat d'Université, soutenue le 22 mai 1984.

Jean-Antoine GIRAULT : Conséquences métaboliques cérébrales de la lésion du noyau ventromédian du thalamus. Etude par la méthode au ^{14}C -dé-oxyglucose.

— Thèse de Doctorat en Médecine, Paris, soutenue le 28 mai 1984.

François CESSÉLIN : Etude biochimique et fonctionnelle des neurones enképhalinerigiques centraux.

— Thèse de Doctorat d'Etat, Paris, soutenue le 14 juin 1984.

Marie-Christine DAGUET-DE MONTÉTY : Etude *in vitro* du développement des neurones dopaminergiques mésencéphaliques chez la souris.

— Thèse de Doctorat d'Etat, Paris, soutenue le 29 juin 1984.

Michel MALLAT : Transformation de cellules nerveuses par le virus de singe SV 4 (SV 40). Application à l'étude *in vitro* de la maturation des neurones dopaminergiques du mésencéphale de la souris.

— Thèse de 3^e cycle, Paris, soutenance prévue pour le 2 juillet 1984.