

## Neuropharmacologie

M. Jacques GLOWINSKI, professeur

Le cours de l'année dernière avait été consacré aux récepteurs centraux et périphériques de la dopamine (DA). Nous avons insisté sur le problème général de la multiplicité des récepteurs DA et sur certaines propriétés des récepteurs D<sub>1</sub> et D<sub>2</sub>, notamment celles concernant leur couplage à l'adénylate cyclase. D'autres aspects des propriétés fonctionnelles des récepteurs D<sub>2</sub> (et éventuellement D<sub>1</sub>) ont été abordés cette année en tenant compte de données obtenues au niveau des ganglions de la base. Après une analyse détaillée des propriétés des récepteurs présynaptiques D<sub>2</sub> impliqués dans le contrôle de la libération de la DA, diverses interactions entre les neurones DA nigro-striataux et leurs neurones cibles ont été décrites. Dans la seconde partie du cours, les mécanismes mis en jeu dans les phénomènes d'hypersensibilité ou d'hyposensibilité des récepteurs DA intervenant à la suite de la dégénérescence des fibres DA ou de traitements pharmacologiques ont été envisagés.

### CONTRÔLE PRÉSYNAPTIQUE DE LA LIBÉRATION DE DA

Les neurones DA ascendants possèdent des autorécepteurs sur leurs corps cellulaires ou leurs dendrites et sur leurs terminaisons axonales. Les premiers sont impliqués dans le contrôle de l'activité des neurones et les seconds dans la régulation de la biosynthèse et de la libération du médiateur. Mis en évidence dès 1971 par Farnebo et Hamberger, le contrôle présynaptique de la libération de DA a fait l'objet de nombreuses études, le modèle de référence étant la voie nigro-striatale DA. *In vitro*, la DA et les agonistes DA inhibent la libération évoquée de <sup>3</sup>H-DA préalablement captée ou nouvellement synthétisée à partir de <sup>3</sup>H-tyrosine et les antagonistes exercent un effet inverse, la libération du médiateur étant induite par une stimulation électrique ou par une dépolarisation provoquée par le potassium ou la vératridine. *In vivo*, une augmentation de la libération de DA évoquée par la stimulation électrique des fibres DA a pu être observée à la suite de l'injection périphérique de neuroleptiques.

Les études biochimiques *in vitro* effectuées sur des coupes de striatum de diverses espèces (rat, lapin, chat) autorisent plusieurs conclusions. Le contrôle présynaptique de la libération de DA est un mécanisme calcium-dépendant, les agonistes DA agissant vraisemblablement en modulant la conductance des canaux calcium voltage-dépendants. L'effet des agonistes et celui des antagonistes DA est toujours visible en présence de tétrodontoxine (libération évoquée par le potassium) ce qui milite en faveur d'une localisation sur les fibres DA des récepteurs impliqués. Toutefois ceci n'a pu être confirmé de façon satisfaisante sur des préparations synaptosomales. L'importance des effets des agonistes et antagonistes DA dépend de la fréquence et de la durée de la stimulation électrique. Si la sensibilité des récepteurs DA est accrue à la suite d'un traitement répété par les neuroleptiques, une désensibilisation rapide peut être évoquée par la DA, mais curieusement celle-ci n'intervient pas avec l'apomorphine.

La comparaison des effets de divers agonistes et antagonistes DA de type D<sub>1</sub> et D<sub>2</sub> indique sans ambiguïté que les récepteurs intervenant dans le contrôle de la libération de DA sont de type D<sub>2</sub> et que leurs propriétés sont voisines, sinon identiques, à celles des récepteurs impliqués dans la régulation de la biosynthèse de DA ou de ceux localisés sur les corps cellulaires. Par ailleurs, la comparaison des efficacités relatives de divers agonistes vis-à-vis des autorécepteurs DA (corps cellulaires) et de certains récepteurs D<sub>2</sub> postsynaptiques a permis de révéler des différences importantes. Ainsi, les concentrations efficaces de DA (ou d'apomorphine) inhibant l'activité des neurones cibles striataux sont dix fois plus élevées que celles nécessaires pour inhiber l'activité des neurones DA. De même à forte concentration, l'apomorphine induit des stéréotypies et augmente l'activité locomotrice (effet postsynaptique) alors qu'une sédation intervient avec de faibles concentrations de l'agoniste (effet présynaptique). Ces différences sont vraisemblablement liées à des efficacités intrinsèques distinctes des agonistes DA vis-à-vis des récepteurs pré- ou postsynaptiques, une réponse biologique maximale intervenant lorsqu'un nombre limité (récepteurs présynaptiques) ou important (récepteurs postsynaptiques) de sites récepteurs sont occupés respectivement. Ces données électrophysiologiques et comportementales ont suscité la recherche d'agonistes DA ayant une action préférentielle sur les récepteurs présynaptiques DA. De telles substances pourraient éventuellement exercer un effet antipsychotique comparable à celui des neuroleptiques (interruption de la transmission DA) et produire des effets secondaires plus limités. Dans ce contexte, nous avons examiné les propriétés du chloro-2-ethyl-norapomorphine (agoniste réversible des récepteurs présynaptiques qui selon des données comportementales se comporte comme un antagoniste irréversible des récepteurs D<sub>2</sub> postsynaptiques), du TL 99 (agoniste puissant des récepteurs présynaptiques ayant une faible efficacité intrinsèque au niveau des récepteurs postsynaptiques D<sub>2</sub>) et enfin des formes énantiomères du 3-PPP (le + 3 PPP étant un agoniste faible

des récepteurs pré- et postsynaptiques et le - 3 PPP agissant selon les cas comme un agoniste partiel ou un antagoniste).

Par ailleurs, des données électrophysiologiques de Groves et de ses collaborateurs ont été décrites. En mesurant les variations de l'intensité du courant nécessaire pour évoquer une stimulation antidromique des neurones DA, ces auteurs ont pu montrer que la stimulation des récepteurs présynaptiques DA (induite par la DA endogène ou par des agonistes DA injectés localement ou à la périphérie) provoque une diminution de l'excitabilité des arborisations terminales. Une hyperpolarisation des fibres terminales ou une diminution de la conductance des canaux calcium voltage-dépendants intervient dans ces conditions. Inversement, les neuroleptiques augmentent l'excitabilité (dépolari-sation) des fibres terminales. Ces modifications d'excitabilité, tributaires des différences de concentrations de DA au voisinage des récepteurs présynapti-ques DA, peuvent ainsi réguler la quantité de médiateur libérée par chaque potentiel d'action.

### *INTERACTIONS ENTRE LES NEURONES DA ET LEURS CELLULES CIBLES*

Les interactions entre les neurones DA et leurs cellules cibles ont été abordées après avoir envisagé des données anatomiques récentes soulignant la structure en mosaïque du striatum et la localisation de fibres afférentes (d'origine corticale ou nigrale) et des cellules efférentes au sein des compartiments (matrice, striosomes ou « patchs ») la constituant. Différentes popula-tions de cellules cibles ont été examinées : interneurons cholinergiques, neurones cortico-striataux glutamatergiques, neurones GABAergiques effé-rents, neurones riches en cholecystokinine (CCK8S) afférents.

#### *Interneurones cholinergiques*

Le striatum est une des structures cérébrales les plus riches en acetylcholine (ACh). Très tôt, il apparut que l'ACh était présente dans des interneurons, les taux striataux d'ACh n'étant pas affectés par la destruction des diverses voies afférentes. Toutefois, chez le chat certains neurones cholinergiques striataux innerveraient le cortex cérébral et l'existence d'une voie thalamo-striatale cholinergique a été envisagée. Nous disposons maintenant de données ultra-structurales précises concernant les interneurons cholinergiques. Bien que trois populations d'interneurones striataux contiennent de l'acetylcholinés-térase (ceux riches en ACh, en somatostatine, en GABA), les interneurons cholinergiques se caractérisent par leur plus grande richesse en acetylcholinés-térase, la taille de leur soma (cellules géantes), leur noyau indenté, l'aspect de leurs longs dendrites ramifiés à leur extrémité ne portant pas ou peu d'épines dendritiques et leurs nombreuses collatérales d'axone. Comme les neurones

riches en somatostatine (interneurones ou d'origine corticale), les interneurones cholinergiques innervent principalement la « matrice » du striatum. Leur distribution semble homogène. Toutefois, selon des données biochimiques, les parties latérales du striatum seraient innervées plus massivement par des interneurones cholinergiques. Des études autoradiographiques récentes effectuées avec le  $^3\text{H}$ -spiropéridol et la  $^3\text{H}$ -norapomorphine suggèrent une certaine analogie dans la répartition des récepteurs  $\text{D}_2$  trouvés en plus grande densité dans les zones latérales (mais également médiales), répartition qui se distingue de celles des récepteurs  $\text{D}_1$  (zone rostrale la plus riche).

Envisagée initialement en fonction de données cliniques (la DOPA et les substances anticholinergiques étant efficaces dans le traitement de la maladie de Parkinson), l'interaction entre les neurones DA nigro-striataux et les neurones cholinergiques a tout d'abord été mise en évidence *in vivo* par Bartholini et ses collaborateurs (1974). Pendant longtemps il fut considéré que les interneurones cholinergiques constituaient un maillon obligatoire de la boucle nigro-striatonigrale. Chez le chat, la DA et les agonistes DA réduisent la libération *in vivo* de l'ACh et un effet opposé est observé lors de l'interruption de la transmission DA (neuroleptiques, gammahydroxybutyrate). Ces données ont été confirmées chez le rat par diverses approches : mesure de la vitesse de renouvellement de l'ACh (technique isotopique), de l'utilisation de l'ACh après inhibition locale de sa synthèse par l'hémicholinium et plus simplement encore par la détermination des taux du médiateur, ceux-ci augmentant lorsque la vitesse de l'utilisation de l'ACh est diminuée (agonistes DA) et vice versa (antagonistes DA). De plus, la destruction des neurones DA provoque une augmentation transitoire de l'utilisation de l'ACh et s'oppose aux effets de l'amphétamine et de la picrotoxine, substances qui par des mécanismes distincts accroissent les taux de l'ACh dans le striatum en facilitant la transmission DA. Cette interaction entre les neurones DA et cholinergiques, visible dès que les fibres DA envahissent le striatum au cours de l'ontogenèse, persiste chez l'animal adulte après lésion des fibres cortico-striatales suggérant un contact direct entre les fibres DA et les interneurones cholinergiques.

Certaines tentatives ont été effectuées pour étudier *in vitro* l'effet de la DA et des agonistes DA sur le transport à haute affinité de la choline ou sur la libération spontanée ou évoquée de l'ACh endogène. Toutefois, la méthode utilisée le plus couramment consiste à préincuber des coupes de striatum de rat ou de lapin avec de la  $^3\text{H}$ -choline (ou de la  $^3\text{H}$ -methylcholine) et à mesurer ensuite les modifications de la libération évoquée (champ électrique, potassium, vétratridine) de l'ACh tritiée. Celle-ci étant rapidement hydrolysée, la radioactivité déterminée est celle de la  $^3\text{H}$ -choline. Dans ces conditions, confirmant des données obtenues *in vivo*, la DA endogène et les agonistes DA de type  $\text{D}_2$  inhibent la libération évoquée de l'ACh et ces effets sont bloqués sélectivement par les antagonistes de type  $\text{D}_2$ . L'importance des effets

dépend de la fréquence et de la durée de la stimulation électrique utilisée, les meilleures conditions n'étant pas exactement semblables à celles décelées dans le cas de la régulation présynaptique de la libération de DA. L'ensemble des données obtenues dans diverses études autorise deux conclusions : 1) L'action des agonistes et des antagonistes DA sur la libération de l'ACh évoquée par le potassium persistant en présence de tétradotoxine, les récepteurs  $D_2$  ont très vraisemblablement une localisation présynaptique sur les neurones cholinergiques. 2) Bien que la sensibilité de ces récepteurs  $D_2$  semble dans certains cas plus faible que celle des récepteurs localisés sur les fibres DA, la comparaison des efficacités relatives de divers agonistes et antagonistes DA indique que les propriétés pharmacologiques des récepteurs  $D_2$  situés sur les neurones cholinergiques sont voisines sinon identiques à celles des autorécepteurs DA.

#### *Neurones cortico-striataux glutamatergiques*

Bien que l'identité du médiateur qu'ils contiennent soit encore discutée, plusieurs données biochimiques et électrophysiologiques suggèrent que les neurones cortico-striataux qui innervent massivement le striatum sont de nature glutamatergique. Ainsi, chez le rat, des lésions importantes du cortex cérébral diminuent considérablement la libération évoquée de glutamate, mais également celle d'aspartate à partir du striatum. En fonction de leur lieu d'origine corticale, ces neurones se projettent préférentiellement dans les « patches » ou striosomes (cortex préfrontal) ou dans la matrice (cortex cingulaire et autres aires corticales), zones du striatum également innervées par les neurones DA localisés dans la substance noire et à moindre degré dans l'aire tegmentale ventrale.

Plusieurs données obtenues *in vitro* ou *in vivo* indiquent que les fibres cortico-striatales « glutamatergiques » exercent un contrôle présynaptique facilitateur sur la libération de DA, les récepteurs impliqués étant localisés sur les fibres DA. Ce contrôle est réciproque. En effet, les agonistes DA de type  $D_2$  inhibent la libération évoquée de glutamate au niveau de coupes ou de synaptosomes striataux et leur action est bloquée par des antagonistes  $D_2$ . La persistance de ces effets à la suite d'une destruction des neurones striataux effectuée à l'aide de l'acide kainique indique que les récepteurs DA sont effectivement localisés sur les fibres « glutamatergiques ». *In vitro*, les agonistes DA diminuent également le transport à haute affinité du glutamate (réduction de l'affinité) et cet effet est antagonisé par les neuroleptiques. De plus l'activation de ce transport induite par une stimulation électrique préalable des neurones corticaux est amplifiée lorsque les animaux ont été préalablement traités par des neuroleptiques. Ces données intéressantes sont également en faveur d'un contrôle présynaptique exercé par les neurones DA car cette stimulation corticale augmente la libération de DA.

### *Neurones GABAergiques*

Les interneurones GABAergiques et les nombreuses collatérales récurrentes des neurones GABAergiques efférents sont responsables de la riche innervation GABAergique du striatum. Paradoxalement, l'effet des agonistes et des antagonistes DA sur la libération évoquée de GABA n'a pas encore été étudié *in vitro* sur des coupes de striatum. Toutefois, la présence des récepteurs  $D_1$  et un effet facilitateur de la DA (et de l'amphétamine) sur la libération de GABA ont été démontrés *in vitro* au niveau de la substance noire, structure riche en afférences GABAergiques d'origine striatale.

Des données récentes obtenues dans notre laboratoire ont révélé des interactions complexes entre les neurones DA et GABAergiques striataux. Ainsi, la mesure *in vivo* chez le rat de la libération de  $^3\text{H}$ -GABA synthétisé à partir de  $^3\text{H}$ -glutamine a permis de montrer que les agonistes  $D_1$  stimulent la libération de  $^3\text{H}$ -GABA alors que les agonistes  $D_2$  exercent un effet opposé. Ces modifications de la libération de  $^3\text{H}$ -GABA sont bloquées par les antagonistes respectifs. De plus, ces expériences ont fourni une autre illustration de l'hétérogénéité striatale, les effets décrits ci-dessus observés dans la partie dorsale du striatum n'ayant pas été retrouvés dans la partie ventrale. A ce niveau, les agonistes  $D_1$  diminuent la libération de  $^3\text{H}$ -GABA et les agonistes  $D_2$  sont sans action. Aucune donnée n'est encore disponible en ce qui concerne la localisation précise des récepteurs  $D_1$  et  $D_2$  impliqués dans les interactions mises en évidence.

Des études électrophysiologiques suggérant des interactions entre les neurones DA et GABAergiques au sein des ganglions de la base ont également été signalées. Ainsi la DA (appliquée localement) et l'amphétamine (injectée à la périphérie) réduisent les inhibitions de l'activité des neurones du globus pallidus et de la pars reticularis de la substance noire induites par le GABA. Antagonisés par les neuroleptiques, ces effets sont sélectifs car les inhibitions évoquées par la glycine ne sont pas affectées. Bien que la caractérisation pharmacologique des récepteurs mis en jeu soit encore imprécise, des récepteurs de type  $D_2$  pourraient être responsables des effets observés car des agonistes  $D_2$  (appliqués localement ou injectés à la périphérie) stimulent l'activité de certaines populations cellulaires dans les deux structures considérées.

### *Neurones CCK8*

Parmi les données concernant les interactions entre neurones DA et neurones peptidergiques, celles consacrées aux neurones cholecystokinergiques (CCK8) sont les plus illustratives. L'innervation CCK8 striatale est originaire du claustrum et du cortex pyriforme (partie dorsale) et de l'aire tegmentale ventrale ou de la substance noire (partie ventrale). Ainsi, tout effet des agonistes DA sur la libération de CCK8 ne peut mettre en jeu que des

régulations présynaptiques directes ou indirectes. Comme dans le cas de la libération de GABA une hétérogénéité des réponses apparaît. Dans la partie dorsale du striatum, les agonistes  $D_1$  diminuent la libération *in vitro* de CCK8 évoquée par le potassium alors que les agonistes  $D_2$  exercent un effet opposé, ces modifications de la libération de CCK8 étant bloquées par des antagonistes sélectifs. Seuls les agonistes  $D_2$  agissent dans la partie dorsale du striatum.

### *MODIFICATIONS DE LA SENSIBILITÉ DES RÉCEPTEURS DA*

De nombreuses études ont été consacrées à l'analyse des modifications de la sensibilité des récepteurs  $D_1$  et  $D_2$  striataux. Les effets induits par la dénervation des fibres DA afférentes, par des traitements répétés, effectués avec des antagonistes et agonistes DA ou l'influence de certaines hormones et du lithium ont été particulièrement envisagés.

#### *Effets de la dénervation*

La destruction unilatérale massive des neurones DA nigro-striataux provoque très rapidement une « hypersensibilité » des récepteurs DA qui a pu être mise en évidence par des études comportementales, électrophysiologiques et biochimiques. Cette hypersensibilité qui résulte en fait d'une augmentation du nombre des récepteurs peut être observée quelques jours après la lésion dans les études comportementales et électrophysiologiques. Elle est aisément quantifiable chez le rat, les agonistes DA tel que l'apomorphine provoquant une rotation des animaux du côté opposé à la lésion, rotation d'autant plus prononcée que l'hypersensibilité de dénervation est importante. Elle peut être également appréciée par la détermination des effets inhibiteurs des agonistes DA sur l'activité des neurones striataux, préalablement stimulés par une application microiontophorétique de glutamate, ou par la mesure de la fréquence des potentiels d'action spontanés des cellules préalablement repérées par stimulation de la voie cortico-striatale. Les données comportementales et électrophysiologiques indiquent que l'hypersensibilité de dénervation des récepteurs DA est un phénomène réversible mais de longue durée puisqu'il peut être observé pendant plusieurs mois après la lésion.

Les études biochimiques effectuées en mesurant la liaison de ligands radioactifs (agonistes ou antagonistes), ou la stimulation de l'activité de l'adénylate cyclase par la DA, ont également permis de mettre en évidence une hypersensibilité de dénervation des récepteurs  $D_1$  et  $D_2$ , hypersensibilité qui résulte d'une augmentation du nombre de sites récepteurs sans changement appréciable de leur affinité. De fait, une accélération de la vitesse de synthèse des récepteurs  $D_2$  a pu être démontrée dans le striatum d'animaux lésés. Toutefois, ces expériences se sont heurtées à plusieurs difficultés que

nous avons soulignées. Celles-ci résident dans la variabilité des effets liés à la plus ou moins grande importance et sélectivité des lésions, à la faible amplitude des modifications observées lorsque celles-ci sont comparées aux réponses comportementales ou électrophysiologiques, et surtout à des différences temporelles prononcées. En effet, l'hypersensibilité des récepteurs DA déterminée au niveau de préparations membranaires ne peut être détectée que trois ou quatre semaines après la lésion des fibres DA. A cet égard, nous avons insisté sur la validité d'autres approches biochimiques telles que la mesure quantitative des sites de liaison des agonistes DA radioactifs après leur visualisation autoradiographique sur des sections de tissu cérébral ou la détermination des effets des agonistes DA sur la libération de l'acétylcholine, ces méthodes permettant de déceler plus rapidement l'hypersensibilité de dénervation des récepteurs DA.

L'hypersensibilité de dénervation des récepteurs DA peut également être étudiée en mesurant les effets des agonistes DA sur la vitesse de l'utilisation du glucose (méthode autoradiographique de Sokoloff) dans les structures innervées par les voies efférentes du striatum telles que le noyau entopédunculaire ou la pars reticularis de la substance noire. Cette approche présente l'avantage de distinguer plus nettement les propriétés fonctionnelles des récepteurs D<sub>1</sub> et D<sub>2</sub>.

#### *Effets des neuroleptiques et des agonistes dopaminergiques*

Des effets secondaires apparaissent chez les schizophrènes soumis à des traitements chroniques par les neuroleptiques. Il en est de même chez les sujets atteints de la maladie de Parkinson traités de façon répétée avec des agonistes DA. Ces observations sont à l'origine de nombreuses études consacrées aux modifications de la sensibilité des récepteurs DA induites par l'administration répétée de ces agents pharmacologiques.

Le phénomène de tolérance observé au niveau de la voie DA nigro-striatale à la suite d'une injection aiguë d'un neuroleptique a été brièvement évoqué. Il résulte d'un blocage réversible de l'activité des neurones DA lié à un excès de dépolarisation des neurones. Nous nous sommes ensuite intéressés aux modifications de la sensibilité des récepteurs DA striataux intervenant quelques jours après l'arrêt d'un traitement répété et de plus ou moins longue durée (1 semaine à 1 ou 2 mois en moyenne) effectué avec des neuroleptiques. Bien qu'une grande variabilité dans l'amplitude des effets apparaisse dans la littérature, une hypersensibilité des récepteurs DA striataux a été décelée dans la plupart des cas, celle-ci étant appréciée par des études comportementales, électrophysiologiques ou biochimiques selon des modalités identiques à celles décrites pour l'hypersensibilité de dénervation.

Les approches comportementales et électrophysiologiques sont plus sensibles et l'hypersensibilité est décelée plus rapidement. La mesure de la liaison des

agonistes ou antagonistes DA tritiés sur des préparations membranaires indique que cette hypersensibilité est liée à un accroissement du nombre des sites récepteurs et qu'elle est sélective : les neuroleptiques agissant sur des récepteurs de type  $D_2$  n'induisent qu'une hypersensibilité des récepteurs  $D_2$  sans affecter les récepteurs  $D_1$  et la situation inverse peut être observée à la suite de l'administration répétée d'un antagoniste sélectif des récepteurs  $D_1$ . Des données très variables et souvent contradictoires ont été obtenues en mesurant l'activité de l'adénylate cyclase sensible à la DA. Ceci résulte très vraisemblablement de l'utilisation d'agonistes non spécifiques des récepteurs  $D_1$  et  $D_2$ . Si des modifications de l'intensité de phosphorylation de la DARPP 32 induites par la DA (ou des agonistes DA) n'ont pas été recherchées, une phosphorylation accrue de protéines a été observée sous l'action des agonistes DA de type  $D_2$  quelques jours après l'arrêt de l'administration répétée d'un neuroleptique. Celle-ci fait intervenir une protéine kinase calcium-calmoduline-dépendante. Ajoutons enfin que l'hypersensibilité des récepteurs  $D_2$  a également pu être mise en évidence en appréciant les effets inhibiteurs des agonistes DA ( $D_2$ ) sur la libération évoquée de DA ou de l'acétylcholine au niveau de coupes de striatum.

Les traitements répétés par les neuroleptiques ne semblent pas affecter la sensibilité des récepteurs de médiateurs chimiques autres que ceux de la DA. Par ailleurs, l'hypersensibilité des récepteurs DA est visible et persiste à l'issue de ces traitements quelle que soit leur durée, mais ce phénomène est réversible et disparaît progressivement. Selon certains auteurs, les mécanismes impliqués dans l'hypersensibilité de dénervation et celle induite par l'administration répétée de neuroleptiques seraient distincts, une additivité des effets ayant été observée. Toutefois ces données doivent d'être confirmées.

L'administration répétée de neuroleptiques, sans interruption du traitement, entraîne dans certains cas chez les malades, l'apparition de dyskinésies tardives suggérant une facilitation paradoxale de la transmission DA. Certains auteurs ont donc tenté de reproduire cette situation chez l'animal en étudiant les effets provoqués par des traitements de très longue durée (> 12 mois). Dans ces conditions, sans arrêt des traitements, des stéréotypies sont observées lorsque des agonistes DA sont injectés, toutefois, l'activité locomotrice n'est pas augmentée. Divers paramètres biochimiques révèlent le développement d'une hypersensibilité des récepteurs DA striataux en présence du neuroleptique dans les tissus, l'effet le plus persistant étant observé au niveau des récepteurs  $D_1$ . Ces données ont incité ces auteurs à suggérer que les effets antipsychotiques des neuroleptiques résultaient non pas d'un blocage des récepteurs DA, mais inversement d'une facilitation de la transmission DA. Des expériences effectuées au niveau des structures limbiques sous-corticales ou du cortex préfrontal sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse intéressante.

Une hyposensibilité des récepteurs DA peut être mise en évidence par diverses approches expérimentales (comportementales, électrophysiologiques et biochimiques) quelques jours après l'arrêt d'un traitement répété effectué avec l'apomorphine (ester dipivaloyl) ou l'amphétamine. Le phénomène réversible paradoxal de facilitation de la transmission DA décelé par de nombreux auteurs qui apparaît dans la phase initiale de ces traitements a été évoqué. Il résulte d'une désensibilisation rapide des autorécepteurs DA et donc d'une augmentation de la libération de DA.

#### *Effets des hormones et du lithium sur la sensibilité des récepteurs dopaminergiques*

L'analyse des mécanismes responsables de l'hypersensibilité des récepteurs DA striataux de type D<sub>2</sub> induite par les neuroleptiques a fait l'objet de nombreux travaux. Par ailleurs, plusieurs tentatives ont été effectuées pour modifier cette hypersensibilité par des traitements pharmacologiques, le but étant de s'opposer aux effets secondaires des neuroleptiques et particulièrement à l'apparition des dyskinésies tardives.

Hruska et ses collaborateurs (1980-1982) ont suggéré que l'élévation des taux de prolactine plasmatique était responsable de l'hypersensibilité des récepteurs DA striataux observée après l'administration répétée de neuroleptiques. Selon ces auteurs, l'hypophysectomie empêche le développement de cette hypersensibilité et la prolactine injectée à forte dose augmente la sensibilité des récepteurs DA. Toutefois, des données plus récentes ne permettent pas de retenir cette hypothèse, certaines d'entre elles révélant notamment une augmentation du nombre de sites D<sub>2</sub> chez des animaux hypophysectomisés ou une absence de corrélation entre l'hypersensibilité des récepteurs et les taux de prolactine plasmatique.

L'administration aiguë ou répétée d'œstrogènes peut induire des effets extrapyramidaux et modifier les effets secondaires provoqués par les neuroleptiques. De plus, les œstrogènes augmentent les concentrations de prolactine plasmatique. Ceci explique les nombreuses études consacrées aux effets des œstrogènes sur la sensibilité des récepteurs DA. De fait, deux situations doivent être distinguées : 1) A faible dose, à la suite d'un traitement répété, les œstrogènes provoquent pendant, ou quelques heures après l'arrêt du traitement, des effets comparables à ceux observés après une injection aiguë d'un neuroleptique, c'est-à-dire un antagonisme de la transmission DA. Ceci a été particulièrement bien étudié *in vivo* en analysant les effets des œstrogènes sur les récepteurs D<sub>2</sub> localisés sur les neurones cholinergiques striataux. Ainsi, selon des modalités de traitement identiques à celles évoquées précédemment, les œstrogènes exercent un effet antagoniste vis-à-vis de l'inhibition de la libération de l'ACh induite par l'apomorphine. Cet effet qui apparaît rapide-

ment est de courte durée. De plus, il disparaît chez des animaux hypophysectomisés et est de nouveau observé lorsque ces animaux sont porteurs d'implants hypophysaires suggérant une intervention de la prolactine ou d'un autre facteur hypophysaire. Toutefois, des expériences plus récentes indiquent que les œstrogènes peuvent agir directement puisqu'une désensibilisation des récepteurs  $D_2$  a été observée sur des populations neuronales embryonnaires du striatum en culture primaire en présence d'œstrogènes. Ajoutons enfin que les œstrogènes administrés à la fin d'un traitement répété effectué avec des neuroleptiques peuvent s'opposer à l'apparition de l'hypersensibilité induite par les neuroleptiques. 2) A plus forte dose, et quelques jours après une injection aiguë ou répétée d'œstrogènes, une hypersensibilité des récepteurs DA ( $D_2$ ) peut être mise en évidence. Cette hypersensibilité qui est liée à une augmentation du nombre de sites  $D_2$  n'apparaît pas après hypophysectomie. Elle mettrait en jeu un dérivé hydroxylé de l'œstradiol formé dans le striatum, le 2-hydroxy-œstradiol.

L'hypersensibilité des récepteurs DA ( $D_2$ ) induite par les neuroleptiques peut également être antagonisée par l'administration répétée d'insuline. Cet effet dont le mécanisme n'a pas été complètement élucidé pourrait résulter d'une action facilitatrice de cette hormone sur la transmission DA. En effet, inversement l'hyperglycémie qui provoque une diminution de l'activité des neurones DA induit, par un phénomène compensateur, une augmentation du nombre de sites  $D_2$ .

L'action du MIF, un tripeptide (proline, leucine, glycinamide) présent dans l'hypothalamus et qui inhibe la libération de MSH, a également été évoquée. En effet, ce peptide qui a été utilisé dans le traitement de la maladie de Parkinson, semble également améliorer les dyskinésies tardives observées chez les patients recevant des neuroleptiques. De fait, administré à la fin d'un traitement répété effectué avec un neuroleptique, le MIF s'oppose à l'apparition de l'hypersensibilité des récepteurs  $D_2$  qui intervient normalement quelques jours après l'arrêt du traitement. Le MIF pourrait être un régulateur endogène des récepteurs DA puisque des sites de liaison de ce peptide ont pu être mis en évidence au niveau du striatum et de la substance noire.

Enfin, révélant une fois encore les difficultés rencontrées dans l'analyse des mécanismes pouvant intervenir dans la régulation de la sensibilité des récepteurs DA, nous avons signalé des expériences récentes indiquant que l'administration répétée de lithium ne diminue pas l'hypersensibilité des récepteurs DA observée à la suite d'un traitement répété par les neuroleptiques. Ainsi, ces données contredisent des résultats antérieurs en faveur de cette hypothèse d'autant plus attrayante qu'il avait été proposé que l'effet bénéfique du lithium dans la psychose maniaco-dépressive résultait d'une réduction de l'hypersensibilité des récepteurs DA.

J. G.

TRAVAUX DE 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. *INTERACTIONS CELLULAIRES AU COURS DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DES NEURONES CENTRAUX* (Responsable de l'équipe : A. PROCHIANTZ)

1.1. *Approche morphologique de l'étude des interactions entre neurones et astrocytes chez le rat et la souris*

La morphologie des neurones dopaminergiques (DA) mésencéphaliques est affectée par l'origine des cellules gliales astrocytaires avec lesquelles ils sont en contact. En particulier, nous avons montré que l'interaction avec les astrocytes mésencéphaliques stimule la maturation des neurones DA et provoque une croissance importante de l'arborisation dendritique, branchée et variquée. Au contraire, un prolongement majeur fin et peu branché est observé au contact d'astrocytes striataux.

La nature dendritique des neurites DA se développant sur les astrocytes mésencéphaliques a pu être confirmée par des études de microscopie électronique effectuées en collaboration avec l'équipe du P<sup>r</sup> R. Seité. Par contre, l'aspect ultrastructural des fibres observées sur des astrocytes striataux évoque celui d'axones immatures, mais ne permet pas de l'affirmer avec certitude. Les neurones mésencéphaliques non DA présents dans les cultures se comportent comme les neurones DA. Ils présentent un degré de maturation supérieur sur les glias astrocytaires mésencéphaliques que sur les astrocytes striataux.

Ces observations suggèrent que les astrocytes mésencéphaliques secréteraient ou exprimeraient à leur surface des facteurs de maturation et/ou de poussée dendritique, absents dans les cultures d'astrocytes striataux. Nous avons donc étudié le comportement de neurones striataux en culture sur des astrocytes originaires des deux régions suscitées. Dans ces conditions, la maturation et la croissance dendritique des neurones striataux sont stimulées par les astrocytes striataux, mais pas par les astrocytes mésencéphaliques. Ces données permettent de conclure que les astrocytes des deux régions étudiées synthétisent des facteurs neuronotrophiques locaux agissant spécifiquement sur des neurones de la même région (homotopiques) mais pas sur des neurones d'une autre région (hétérotopiques).

Ces résultats ont été confirmés par des études en microscopie optique, les neurones étant visualisés par coloration argentique et par immunocytochimie à l'aide d'un anticorps dirigé contre la protéine MAP 2 (microtubule associated protein 2), protéine plus spécifique des arborisations dendritiques. Dans des conditions de co-cultures neuroastrogliales homotopiques (neurones et astrocytes de la même région), le nombre de cellules et d'arborisations positives est très supérieur à celui observé dans des co-cultures hétérotopiques. Ce travail a été accompli par B. Chamak en collaboration avec A. Fellous et par L. Fetler et A. Rousselet.

### 1.2. *Approche biochimique de l'étude des interactions entre neurones et astrocytes*

Cette approche a pour but de donner une base biochimique aux phénomènes de maturation observés en culture neuroastrogliales homotopiques.

Une première démarche consiste à rechercher d'éventuelles différences entre les composants glycoprotéiques membranaires des astrocytes des régions mésencéphaliques et striatales (G. Barbin et F. Amblard). Ces glycoprotéines peuvent être séparées par gel bidimensionnel après marquage isotopique à l'aide d'un sucre ou d'un acide aminé radioactif. Dans les conditions où toutes les glycoprotéines sont observées en respectant leurs proportions respectives, certaines différences apparaissent entre les populations astrocytaires des deux régions considérées. Afin d'éviter que des glycoprotéines mineures n'échappent à l'analyse, celles reconnues par certaines lectines (en fonction de la nature de la partie glucidique de l'apoprotéine) ont été concentrées par précipitation des extraits astrocytaires à l'aide des lectines biotynilées couplées à la streptavidine agarose. Dans ces conditions, des différences quantitatives très nettes ont été observées entre les astrocytes mésencéphaliques et striataux. Actuellement, nous analysons le rôle éventuel de ces glyco-protéines région-spécifiques dans la maturation des neurones mésencéphaliques et striataux.

La seconde démarche, principalement développée par A. Rousselet et L. Fetler, consiste à examiner le rôle des facteurs sécrétés dans la maturation et la morphogénèse neuronale. Il apparaît très clairement que le milieu conditionné d'astrocytes mésencéphaliques stimule la croissance de fibres branchées chez les neurones mésencéphaliques. Le milieu conditionné des astrocytes striataux est dépourvu d'effets maturants ou morphogénétiques quelle que soit la population neuronale étudiée. L'analyse préliminaire des milieux conditionnés démontre une fois encore, l'existence de différences qualitatives importantes dans certaines protéines sécrétées par les deux types de populations astrocytaires.

### 1.3. *Obtention de clones astrocytaires mésencéphaliques et striataux*

Le travail accompli par M. Mallat et V. Moura Neto avait conduit à la caractérisation de deux lignées astrocytaires mésencéphalique et striatale de cellules transformées par SV 40. Plus récemment, M. Mallat a tenté d'immortaliser des astrocytes par transfection du gène T de polyome, en collaboration avec P. Rouget et C. Euvrard (Institut J. Monod, Paris). Des résultats encourageants ont été obtenus avec les astrocytes mésencéphaliques et plusieurs clones sont en train d'être caractérisés.

## 2. *CARACTÉRISTIQUES ET RÉGULATIONS DES PROPRIÉTÉS FONCTIONNELLES DE CERTAINS RÉCEPTEURS CENTRAUX* (Responsables : J. PREMONT et J.C. BEAUJOUAN)

### 2.1. *Régulation par les œstrogènes des récepteurs de type D2 dopaminergiques couplés à une adénylate cyclase présents sur des neurones du striatum en culture primaire*

Les données obtenues indiquent que les neurones du striatum en culture primaire, originaires de l'embryon de souris, possèdent à leur surface des récepteurs de la DA de type D2. La liaison de la DA sur ces récepteurs induit une inhibition de l'activité de l'adénylate cyclase. Une incubation préalable de 24 heures des neurones striataux en présence de 17  $\beta$  œstradiol (1 nM) entraîne une disparition complète de l'effet inhibiteur de la DA sur l'activité de l'adénylate cyclase. D'autres stéroïdes telles que la progestérone, ou la dexaméthasone n'ont aucune influence sur les propriétés fonctionnelles des récepteurs D2 striataux. Par ailleurs, l'effet stimulant de la DA sur l'activité de l'adénylate cyclase médié par les récepteurs de type D1 n'est pas supprimé par le 17  $\beta$  œstradiol. Des catéchol-œstrogènes pouvant être synthétisés à partir des œstrogènes, des études sont en cours pour analyser l'effet éventuel des catéchol-œstrogènes sur les récepteurs D1 et D2. D'autre part, l'intervention ou non d'une synthèse protéique, induite par les œstrogènes et impliquée dans la suppression de l'effet de la DA sur les récepteurs D2 est également recherchée (M. Maus et J. Premont). Enfin, une étude similaire concernant les effets des œstrogènes sur les récepteurs D2 présents dans l'hypophyse est effectuée parallèlement en collaboration avec A. Enjalbert et J. Epelbaum (Unité I.N.S.E.R.M., C. Kordon).

### 2.2. *Recherche d'un couplage des récepteurs de la cholecystokinine (CCK8) avec une activité phospholipase C*

La méthodologie nécessaire pour étudier les effets des neuro-transmetteurs sur la production de dérivés phosphorylés de l'inositol médiée par la phospholipase C a été mise au point. Des données préliminaires obtenues en utilisant

des coupes de striatum de rat ou des neurones striataux de la souris en culture primaire suggèrent que la CCK8 modifie l'activité de la phospholipase C. Une analyse plus approfondie des caractéristiques pharmacologiques du récepteur impliqué a été entreprise (M. El Etr et J. Prémont).

### 2.3. *Tentative d'identification de protéines spécifiques phosphorylées sous l'action des monoamines et de certains neuropeptides au niveau neuronal et astrocytaire*

Précédemment, nous avons mis en évidence l'existence de plusieurs récepteurs des monoamines et de certains neuropeptides couplés à l'adénylate cyclase sur des neurones et/ou des cellules gliales en culture primaire (cellules originaires du striatum de l'embryon de souris). L'analyse des propriétés fonctionnelles de ces récepteurs peut être approfondie en identifiant certaines protéines phosphorylées, ces phosphorylations dépendant du taux intracellulaire de l'AMP cyclique et étant catalysées par une protéine kinase spécifique. L'étude des protéines phosphorylées en présence de l'AMP cyclique a donc été entreprise sur des homogenats cellulaires en achevant la phosphorylation à l'aide d'ATP radioactif (technique dite de « back phosphorylation ». L'extrait cellulaire solubilisé est ensuite soumis à une électrophorèse sur gel de polyacrilamide suivie d'une autoradiographie. Des données préliminaires indiquent que plusieurs protéines dont les poids moléculaires sont distincts (30 000, 20 000 et 16 000 daltons) sont phosphorylées et ont une localisation spécifiquement neuronale (H. Chneiweiss, S. Birman, J. Prémont).

### 2.4. *Récepteurs des tachykinines*

Les études sur les récepteurs centraux des tachykinines se sont poursuivies dans plusieurs directions :

— Précédemment, en utilisant les ligands  $^{125}\text{I}$ -Bolton-Hunter substance P ( $^{125}\text{I}$ -BHSP) et  $^{125}\text{I}$ -Bolton-Hunter élédoisine ( $^{125}\text{I}$ -BHE) et des préparations synaptosomales de cerveau de rat, nous avons démontré l'existence de deux types de sites de liaison des tachykinines dans le SNC. Ceux-ci diffèrent par leurs propriétés cinétiques et pharmacologiques et par leur distribution régionale. Les ligands endogènes des sites  $^{125}\text{I}$ -BHSP et  $^{125}\text{I}$ -BHE sont respectivement la substance P (SP) et la neurokinine B (NKB). L'utilisation de  $^3\text{H}$ -NKB (75 Ci/-mmole) synthétisée par G. Chassaing en liaison avec J.L. Morgat (CEA) a permis de confirmer que la NKB est effectivement le ligand endogène des sites  $^{125}\text{I}$ -BHE. Les propriétés cinétiques et pharmacologiques des sites de liaison spécifique de  $^{125}\text{I}$ -BHE et  $^3\text{H}$ -NKB sont identiques. De plus, des études autoradiographiques indiquent que les distributions régionales des sites  $^{125}\text{I}$ -BHE et  $^3\text{H}$ -NKB sont comparables (L. Bergström, M. Saffroy, Y. Torrens, J.C. Beaujouan).

— La collaboration entreprise depuis plusieurs années avec le groupe du Professeur A. Marquet (S. Lavielle, G. Chassaing et leurs collègues) (Université Paris VI) a été poursuivie. En fonction de données conformationnelles obtenues notamment à l'aide de la RMN, ces chercheurs ont synthétisé de nombreux analogues non cycliques de la SP et des dérivés cycliques de la SP et de la NKB. Des études de compétition indiquent que certains des analogues synthétisés se lient spécifiquement et avec une grande affinité sur l'un ou l'autre des deux types de sites étudiés ( $^{125}\text{I}$ -BHSP,  $^{125}\text{I}$ -BHE ou  $^3\text{H}$ -NKB). Ainsi, la (L.Ala<sup>9</sup>) SP et la (L.Pro<sup>9</sup>) SP ont une excellente affinité pour les sites reconnus par  $^{125}\text{I}$ -BHE (ou  $^3\text{H}$ -NKB). D'autre part, si le dérivé cyclique (Cys<sup>3</sup>, Cys<sup>6</sup>, Tyr<sup>8</sup>) SP a une affinité supérieure à celle de la SP vis-à-vis des sites  $^{125}\text{I}$ -BHSP et légèrement inférieur à celle de la NKB pour les sites  $^3\text{H}$ -NKB, le dérivé cyclique (Cys<sup>2</sup>, Cys<sup>5</sup>) NKB reconnaît spécifiquement les sites  $^3\text{H}$ -NKB.

— Des sites de liaison spécifique  $^{125}\text{I}$ -BHSP ont pu être mis en évidence sur des populations astrocytaires en culture primaire originaires de différentes structures cérébrales de la souris (1 jour post-natal). Les caractéristiques cinétiques et pharmacologiques de ces sites sont similaires sinon identiques à celles précédemment observées en utilisant des neurones intacts mésencéphaliques en culture primaire ou des préparations synaptosomales du cerveau du rat. La SP stimule la vitesse de renouvellement du phosphatidylinositol au niveau des préparations astrocytaires. Toutefois, les récepteurs impliqués dans cet effet doivent être caractérisés afin de vérifier ou non leur identité avec ceux liant le  $^{125}\text{I}$ -BHSP. Dans les conditions utilisées, aucun site de liaison de  $^{125}\text{I}$ -BHSP n'a pu être mis en évidence sur des populations astrocytaires originaires du striatum ou du cortex cérébral du rat (Y. Torrens, J.C. Beaujouan, L. Bergstrom, M. Saffroy, M.C. Daguët).

### 3. RÉGULATIONS PRÉSYNAPTiques ET RÉGULATIONS BILATÉRALES DE CERTAINS SYSTÈMES NEURONAUX DES GANGLIONS DE LA BASE (Responsable de l'équipe : A. CHÉRAMY, M.L. KEMEL, C. GAUCHY)

Les expériences ont été effectuées chez des chats anesthésiés avec de l'halothane et implantés avec des canules de superfusion selon une méthodologie décrite précédemment.

#### 3.1. Intervention des fibres cortico-striatales glutamatergiques dans le contrôle présynaptique de la libération de dopamine (DA)

Nous avons montré que l'application unilatérale de GABA ( $10^{-5}\text{M}$ ) dans les noyaux moteurs du thalamus (ventralis medialis et ventralis lateralis, VM-VL) provoque une augmentation bilatérale de la libération de DA à partir des

terminaisons DA du noyau caudé. Cet effet semble impliquer les neurones cortico-striataux glutamatergiques, ceux-ci exerçant un contrôle présynaptique facilitateur sur la libération de DA. Des études préliminaires suggèrent que l'application unilatérale de GABA ( $10^{-5}$ M) dans les noyaux VM-VL provoque une augmentation bilatérale de la libération de l'acide L-glutamique dans les deux noyaux caudé confirmant ainsi les hypothèses envisagées. L'acide L-glutamique libéré a été mesuré à l'aide d'une méthode HPLC après préderivation des acides aminés par l'orthophtaldehyde (L. Barbeito, J.A. Girault, G. Godeheu, A. Chéramy).

### 3.2. *Influence des tachykinines sur l'activité des neurones dopaminergiques nigro-striataux*

La mise en évidence récente de deux nouvelles tachykinines dans le SNC (neurokinines A et B, NKA et NKB) et la présence de NKA dans certaines fibres striato-nigrales substances P-ergiques (SP) nous ont conduit à comparer les effets de l'application de ces trois tachykinines dans la substance noire sur la libération de  $^3\text{H}$ -DA synthétisée à partir de  $^3\text{H}$ -tyrosine au niveau des terminaisons axonales et des dendrites des neurones DA nigro-striataux. Confirmant des données précédentes, la SP ( $10^{-8}$ M) stimule la libération de  $^3\text{H}$ -DA dans le noyau caudé ipsilatéral et réduit la libération dendritique de  $^3\text{H}$ -DA. La NKA ( $10^{-8}$ M) augmente la libération de  $^3\text{H}$ -DA dans les deux structures (noyau caudé et substance noire) alors que la NKB n'induit aucun effet.

Les effets de la SP ( $10^{-8}$ M) sur la libération de  $^3\text{H}$ -DA au niveau du noyau caudé et de la substance noire sont bloquées par l'application locale dans le noyau caudé de PK 26124 ( $10^{-5}$ M), un antagoniste de la transmission glutamatergique. Ces résultats suggèrent que la SP agit indirectement en activant une boucle neuronale nigro-thalamo-cortico-striatale. Plus précisément un contrôle présynaptique de la libération de  $^3\text{H}$ -DA médié par les neurones cortico-striataux glutamatergiques est mis en jeu. Inversement la NKA semble agir directement sur les neurones DA car ses effets sur la libération de  $^3\text{H}$ -DA ne sont pas bloqués par le dérivé PK 26124 ( $10^{-5}$ M). Ces données sont en accord avec des études électrophysiologiques effectuées par d'autres auteurs chez le rat indiquant que la SP agit préférentiellement sur les neurones efférents non DA de la pars reticularis, alors que la NKA stimule directement l'activité des neurones DA localisés dans la pars compacta de la substance noire (P. Baruch, F. Artaud, A. Chéramy).

### 3.3. *Etude de la co-localisation de dopamine et de cholecystokinine (DA/CCK8) dans les neurones nigro-striataux dopaminergiques chez le chat*

Selon Hökfelt et coll. (1985), la cholécystokinine (CCK8) se trouve présente dans la quasi-totalité des neurones DA nigro-striataux chez le chat. L'exis-

tence de cette voie mixte (DA/CCK 8) devrait faciliter l'étude de la co-transmission. Dans un premier temps, les taux de CCK 8 ont été déterminés dans des microdisques de tissu prélevés sur des coupes sériées au niveau de la substance noire et du noyau caudé. Un gradient rostro-caudal des taux du peptide a pu être démontré dans ces deux structures, une superposition apparaissant notamment entre la localisation des neurones DA et la distribution de CCK 8 au sein de la substance noire.

Par ailleurs, en utilisant un dosage radioimmunologique sensible mis au point par J.M. Studler, l'étude de la libération *in vivo* de CCK 8 a pu être entreprise chez le chat.

La libération spontanée du peptide et celle évoquée par le potassium (30 mM) selon un processus calcium-dépendant ont pu être démontrées dans le noyau caudé et la substance noire. Enfin, une augmentation de la libération de CCK 8 a été mise en évidence dans le noyau caudé à la suite de l'application de l' $\alpha$ -méthylparatyrosine dans la substance noire, traitement qui induit une activation des neurones DA nigro-striataux en inhibant la libération dendritique de DA.

Ces études ont été complétées par une analyse électrophysiologique et biochimique des effets de la CCK 8 sur l'activité des neurones DA. L'application nigrale de CCK 8 stimule spécifiquement l'activité des neurones DA selon un « pattern » particulier (en collaboration avec J.M. Stuzman) et provoque une augmentation de la libération de  $^3\text{H}$ -DA dans le noyau caudé et la substance noire. La DA et la CCK 8 vraisemblablement co-libérées à partir des dendrites des neurones mixtes DA/CCK 8 pourraient exercer des effets opposés sur l'activité de ces neurones. Des études complémentaires sont en cours pour confirmer cette hypothèse (F. Artaud, P. Baruch et A. Chéramy).

#### *3.4. Rôle de la dopamine libérée à partir des dendrites des neurones dopaminergiques nigro-striataux dans le contrôle de l'activité des neurones GABAergiques éfférents des ganglions de la base*

Nous avons montré que la facilitation de la libération dendritique de DA dans la pars reticularis de la substance noire, induite par l'application locale de l'amphétamine ( $10^{-6}\text{M}$ ), diminuait l'activité unitaire des neurones nigro-thalamiques innervant le noyau ventro-médian (VM) et la libération de  $^3\text{H}$ -GABA (synthétisée à partir de  $^3\text{H}$ -glutamine) dans ce noyau thalamique. De même, la facilitation de la libération dendritique de DA dans la pars compacta inhibe l'activité de ces neurones nigro-thalamiques identifiés par stimulation antidromique. Paradoxalement, dans ces conditions une augmentation de la libération de  $^3\text{H}$ -GABA est observée dans le noyau VM ipsilatéral. Des études électrophysiologiques complémentaires ont révélé que cet effet est lié à une activation des neurones GABAergiques pallidaux qui innervent le VM. Ainsi, la DA libérée à partir des dendrites proximaux et distaux exerce des

effets opposés sur la transmission GABAergique dans le VM selon des modalités distinctes. Une boucle nigro-striato-pallido-VM pourrait être responsable des effets produits par la facilitation de la libération de DA dans la pars compacta (M.L. Kemel, C. Gauchy).

### 3.5. *Analyse topographique des connexions entre la substance noire et le noyau caudé chez le chat*

Une analyse autoradiographique a été effectuée dans le noyau caudé à la suite d'une injection d'un mélange d'acides-aminés radioactifs ( $^{14}\text{C}$ -AA) dans la pars compacta (SNC) ou la pars reticularis (SNR) de la substance noire. Lorsque l'injection est pratiquée dans la SNC le matériel radioactif est transporté par le flux antérograde et se distribue de façon diffuse dans la partie latéro-dorsale du noyau caudé. Inversement, une distribution hétérogène apparaît dans le noyau caudé lorsque l'injection de ( $^{14}\text{C}$ -AA) est effectuée dans la SNR, ce marquage résultant d'un transport rétrograde du matériel radioactif. Une analyse plus fine (émulsion) a permis de montrer que le matériel radioactif observé dans les zones fortement marquées était accumulé dans des corps cellulaires. La comparaison sur des coupes adjacentes de la distribution de ces zones riches en matériel radioactif et de celle de l'acétylcholinesterase indique que les corps cellulaires des voies striato-nigrales (SNR) se trouvent localisés dans les zones du noyau caudé riches en acétylcholinesterase (M. Desban, M.L. Kemel, C. Gauchy).

## 4. PROPRIÉTÉS DES NEURONES DA MÉSOCORTICO-PRÉFRONTAUX ET MÉSOLIMBIQUES ET DE CERTAINES DE LEURS CELLULES CIBLES

### 4.1. *Etudes biochimiques* (Responsable de l'équipe : J.P. TASSIN)

— Précédemment nous avons montré que l'hypersensibilité de dénervation des récepteurs DA de type D1 (couplés positivement à l'adénylate cyclase) du noyau accumbens ne peut être mise en évidence chez le rat qu'à la suite de lésions bilatérales des fibres cortico-noyau-accumbens glutamatergiques. Des expériences ont été entreprises afin de rechercher l'existence éventuelle d'une hétérorégulation semblable au niveau du striatum. Elles ont nécessité différents types de lésions : lésions bilatérales des fibres DA nigro-striatales effectuées par microinjection de 6-hydroxydopamine dans le champ de Forel, ces lésions épargnant l'innervation DA corticale ; des lésions bilatérales de l'innervation DA corticale (cortex préfrontal) effectuées par microinjection de 6-hydroxydopamine et enfin dans certains cas des ablations bilatérales du cortex préfrontal. Les données obtenues indiquent que l'hypersensibilité de dénervation des récepteurs D1 observée trois semaines après les lésions ne peut être

mise en évidence dans les zones antéro-médiane et latéro-dorsale du striatum que si l'innervation DA corticale est intacte. De même l'apparition de l'hypersensibilité de dénervation des récepteurs D1 dans les zones suscitées est favorisée par une ablation bilatérale du cortex préfrontal. Les zones antéro-médiane et latéro-dorsale du striatum étant innervées par des projections originaires du cortex préfrontal ces données peuvent être comparées avec celles obtenues au niveau du noyau accumbens (D. Hervé, G. Blanc).

— L'hypersensibilité de dénervation des récepteurs D1 du cortex préfrontal n'étant plus observée à la suite de lésions simultanées des fibres DA et noradrénergiques ascendantes nous avons recherché une influence éventuelle des fibres DA sur le développement de l'hypersensibilité de dénervation des récepteurs  $\beta 1$  noradrénergiques corticaux (activité de l'adénylate cyclase stimulée par l'isoprotérénol). Une hypersensibilité importante des récepteurs  $\beta$  est observée à la suite de lésions sélectives bilatérales des fibres noradrénergiques ascendantes. Cet effet est considérablement diminué si les fibres DA qui innervent le cortex préfrontal sont également détruites par une microinjection de 6-hydroxydopamine effectuée dans le tegmentum mésencéphalique ventral (TMV). Les fibres DA semblent donc exercer un effet permissif sur l'apparition de l'hypersensibilité de dénervation des récepteurs  $\beta 1$  corticaux visible quelques semaines après la lésion des fibres noradrénergiques. D'autres fibres non-catécholaminergiques semblent exercer un effet inverse car l'hypersensibilité de dénervation des récepteurs  $\beta 1$  est amplifiée chez des animaux ayant subi des lésions électrolytiques du TMV, qui détruisent d'autres types de fibres non DA innervant le cortex préfrontal et dont l'identité doit être précisée (J.M. Studler, D. Hervé, G. Blanc et J.P. Tassin).

4.2. *Etudes comportementales* (J.P. TASSIN en collaboration avec H. SIMON, Unité I.N.S.E.R.M. du Prof M. LE MOAL, Bordeaux).

La lésion électrolytique du TMV où se trouvent localisés les corps cellulaires des neurones DA innervant les structures limbiques sous corticales et certaines aires corticales induit chez le rat un syndrome complexe. Celui-ci est caractérisé entre autre par une hyperactivité locomotrice et une suppression de l'alternance spontanée, processus faisant appel aux fonctions cognitives. Nos études sur les processus d'hétérorégulation des récepteurs DA (D1) et noradrénergiques ( $\beta 1$ ) suggérant des interactions fonctionnelles entre les systèmes DA et noradrénergiques ascendants, l'étude des effets de la destruction bilatérale des fibres noradrénergiques ascendantes sur les modifications de l'activité locomotrice et de l'alternance spontanée induites par la lésion électrolytique bilatérale du TMV a été entreprise. La destruction spécifique de l'innervation noradrénergique supprime le développement de l'hyperactivité locomotrice chez les animaux lésés dans le TMV et restaure le comportement d'alternance spontanée (J.P. Tassin en collaboration avec K. Taghzouti, H. Simon et M. Le Moal).

4.3. *Etudes anatomiques et électrophysiologiques* (Responsable de l'équipe : A.M THIERRY)

Chez le rat, le cortex préfrontal correspond à la région du néocortex qui reçoit des afférences convergentes issues du noyau médiodorsal du thalamus et du groupe cellulaire dopaminergique (A10) localisé dans le mésencéphale. Des études précédentes indiquent que certaines des cellules cibles des neurones dopaminergiques sont des neurones branchés qui innervent plusieurs structures sous-corticales. Cette année nous avons poursuivi l'analyse des relations neuroanatomiques entre le cortex préfrontal médian et les structures intra et sous-corticales.

En utilisant la technique d'activation antidromique et le test de collision réciproque nous nous sommes proposés de vérifier que certains neurones corticaux innervent par leurs collatérales axonales des cibles intra et sous-corticales. L'activation antidromique des cellules corticales a été évoquée par stimulation du cortex préfrontal contralatéral et du striatum ipsi et contralatéral au niveau des faisceaux de fibres des afférences sous-corticales. Celles-ci ont été préalablement visualisées par le transport axonal de protéines marquées après injection d'acides aminés  $^{14}\text{C}$  dans le cortex préfrontal. Les données obtenues indiquent qu'un nombre important (55 %) de neurones du cortex préfrontal médian qui se projettent sur le cortex homologue contralatéral innervent également des structures sous-corticales ipsi et/ou contralatérales.

Selon certains auteurs l'aire corticale infralimbique, adjacente à la partie ventrale du cortex préfrontal médian, recevrait une projection directe de la corne d'Ammon. La méthode de marquage rétrograde par le WGA-HRP et la technique de stimulation antidromique ont été utilisées afin de déterminer si le cortex préfrontal médian est également innervé par l'hippocampe. De nombreuses cellules marquées sont visibles dans l'hippocampe ipsilatéral à la suite d'une injection iontophorétique de WGA-HRP dans le cortex préfrontal médian. Les neurones marqués sont localisés au niveau du pôle temporal du champ CA1 de la corne d'Ammon ainsi que dans les zones de transition (dorsale et ventrale) séparant la région CA1 et le subiculum. D'autre part, parmi les 240 cellules enregistrées dans la région CA1, 85 d'entre elles ont pu être activées antidromiquement par la stimulation du cortex préfrontal médian ipsilatéral. Ces deux approches complémentaires ont donc permis de démontrer l'existence d'une projection directe ipsilatérale de la région temporale du champ CA1 de la corne d'Ammon sur le cortex préfrontal médian (F. Ferino, A.M. Thierry).

PUBLICATIONS

S. EL MESTIKAWY, H. GOZLAN, J. GLOWINSKI et M. HAMON, *Characteristics of tyrosine hydroxylase activation by  $K^+$ -induced depolarization and/or forskolin in rat striatal slices.* (*J. Neurochem.*, 45, 173-184, 1985).

H.E. SAVAKI, J.A. GIRAULT, M. DESBAN, J. GLOWINSKI et M.J. BESSON, *Local cerebral metabolic effects induced by nigral stimulation following ventro-medial thalamic lesions. II: Sensory motor, reticular and limbic systems.* (*Brain Res. Bull.*, 14, 287-296, 1985).

F. CESSÉLIN, D. LE BARS, S. BOURGOIN, F. ARTAUD, H. GOZLAN, A.M. CLOT, J.M. BESSON et M. HAMON, *Spontaneous and evoked release of methionine-enkephalin-like material from the rat spinal cord in vivo.* (*Brain Research*, 339, 305-313, 1985).

V. MOURA NETO, M. MALLAT, F. ALLIOT, B. PESSAC et A. PROCHIANTZ, *Astrocytic cerebellar cell clones synthesize the beta' isoforms of the beta-tubulin protein family.* (*Neuroscience*, 16 n° 2, 333-342, 1985).

P. BRUNDIN, G. BARBIN, O. ISACSON, M. MALLAT, B. CHAMAK, A. PROCHIANTZ, F.H. GAGE et A. BJORKLUND, *Survival of intracerebrally grafted rat dopamine neurons previously cultured in vitro.* (*Neuroscience Letters*, 61, 79-84, 1985).

S. BOURGOIN, F. ARTAUD, F. CESSÉLIN, J. GLOWINSKI et M. HAMON, *Local and remote effects of intra-caudate administration of GABA-related drugs on met-enkephalin release in the basal ganglia.* (*Brain Research*, 361, 361-372, 1985).

S. EL MESTIKAWY, J. GLOWINSKI et M. HAMON, *Presynaptic dopamine autoreceptors control tyrosine hydroxylase activation in depolarized striatal dopaminergic terminals.* (*J. Neurochem.*, 46, 12-22, 1986).

J.P. TASSIN, J.M. STUDLER, D. HERVE, G. BLANC et J. GLOWINSKI, *Contribution of noradrenergic neurons to the regulation of dopaminergic (DA) receptor denervation supersensitivity in rat prefrontal cortex.* (*J. Neurochem.*, 46, 243-248, 1986).

C. LE DOUARIN, J. PENIT, J. GLOWINSKI et A.M. THIERRY, *Effects of ventro-medial mesencephalic tegmentum (VMT) stimulation on the spontaneous activity of nucleus accumbens neurones: influence of the dopamine system.* (*Brain Res.*, 363, 290-298, 1986).

V. MOURA NETO, M. MALLAT, H. CHNEIWEISS, J. PREMONT, F. GROS et A. PROCHIANTZ, *Two simian virus 40 (SV 40)-transformed cell lines from the mouse striatum and mesencephalon presenting astrocytic characters. I. Immunological and pharmacological properties.* (*Dev. Brain Res.*, 26, 11-22, 1986).

M. MALLAT, V. MOURA NETO, F. GROS, J. GLOWINSKI et A. PROCHIANTZ, *Two simian virus 40 (SV 40)-transformed cell lines from the mouse striatum and mesencephalon presenting astrocytic characters. II. Interactions with mesencephalic neurons.* (*Dev. Brain Res.*, 26, 23-32, 1986)

A. AUTILLO-TOUATI, M. MALLAT, D. ARAUD, V. MOURA NETO, J. VUILLET, J. GLOWINSKI, R. SEITE et A. PROCHIANTZ, *Two simian virus 40 (SV 40)-transformed cell lines from the mouse striatum and mesencephalon presenting astrocytic characters. III. A light and electron microscopic study.* (*Dev. Brain Res.*, 26, 33-48, 1986).

S. LAVIELLE, G. CHASSAING, S. JULIEN, J. BESSEYRE et A. MARQUET, J.C. BEAUJOUAN, Y. TORRENS et J. GLOWINSKI, *Influence of the amino acids of substance P in the recognition of its receptor : affinities of synthesized SP analogues for the specific <sup>125</sup>I-BHSP binding site on rat brain synaptosomes.* (*Neuropeptides*, 7, 191-200, 1986).

U. SPAMPINATO, J.A. GIRAULT, J. DANGUIR, H. SAVAKI, J. GLOWINSKI et M.J. BESSON, *Apomorphine and haloperidol effects on striatal <sup>3</sup>H-dopamine release in anesthetized, awake restrained and freely moving rats.* (*Brain Res. Bull.*, 16, 161-166, 1986).

H.E. SAVAKI, J.A. GIRAULT, U. SPAMPINATO, N.A. TRUONG, J. GLOWINSKI, et M.J. BESSON, *Release of newly synthesized <sup>3</sup>H-dopamine in the striatum : An adaptation of the push-pull cannula method to awake restrained and anesthetized rats.* (*Brain Res. Bull.*, 16, 149-154, 1986).

A.M. THIERRY, C. LE DOUARIN, J. PENIT, A. FERRON et J. GLOWINSKI, *Variation in the ability of neuroleptics to block the inhibitory influence of dopaminergic neurons on the activity of cells in the rat prefrontal cortex.* (*Brain Res. Bull.*, 16, 155-160, 1986).

M. CONRATH, R. COVENAS, R. ROMO, A. CHERAMY, S. BOURGOIN et M. HAMON, *Distribution of met-enkephalin immunoreactive fibres in the thalamus of the cat (NSI O3834).* (*Neurosci. Lett.*, 65, 299-303, 1986).

Différents chercheurs ont présenté leurs travaux dans les congrès suivants :

J. GLOWINSKI et A. CHERAMY, *In vivo regulation of the dendritic release of dopamine in the substantia nigra : functional significance.* « *The Function of Dendrites* », I.B.R.O. symposium, Oxford, 8 sept. 1985.

D. HERVE, W. ROSTENE, J.M. STUDLER, C. DANA, P. KITABGI, J.P. VINCENT, J. GLOWINSKI et J.P. TASSIN, *Interactions between ascending DA fibers and neurotensin binding sites.* 9th Annual meeting E.N.A., Oxford, 8-12 sept. 1985.

D. HERVE, J.M. STUDLER, G. BLANC, J. GLOWINSKI et J.P. TASSIN, *Desipramine partly protects meso-cortical DA neurons from the neurotoxic action of 6-OHDA.* 9th Annual meeting E.N.A., Oxford, 8-12 sept. 1985.

D. PELAPRAT, Y. BROER, G. GACEL, J.M. STUDLER, J.P. TASSIN, W. ROSTENE, J. GLOWINSKI et B. ROQUES, *Brain cholecystokinin receptors : quantitative autoradiography with (<sup>3</sup>H) Boc (NeI<sup>28,31</sup>) CCK<sub>27-33</sub> and (<sup>125</sup>I) CCK<sub>8</sub>*. 9th Annual meeting E.N.A., Oxford, 8-12 sept. 1985.

J. GLOWINSKI *The mesocortical prefrontal dopaminergic neurons*. 15th Annual of the Japanese Sty of Neuropsychopharmacology, Kyoto, 27-28 sept, 1985.

P. BARUCH, A. CHERAMY, R. ROMO et J. GLOWINSKI, *Respective role of nerve activity and presynaptic regulation in the control of DA release in the cat caudate nucleus*. 9th Annual meeting E.N.A., Oxford, 8-12 sept. 1985.

A.M. THIERRY, C. LE DOUARIN, J. PENIT et J. GLOWINSKI, *Nucleus accumbens evoked responses by ventro-medial mesencephalic tegmentum stimulation : contribution of the DA system*. 9 th Annual meeting E.N.A., Oxford, 8-12 sept. 1985.

U. SPAMPINATO, J.A. GIRAULT, J. DANGUIR, J. GLOWINSKI, H. SAVAKI et M.J. BESSON, *In vivo release of <sup>3</sup>H-DA in the rat striatum : comparison of haloperidol and apomorphine effects in different experimental models*. 9th Annual meeting E.N.A., Oxford, 8-12 sept. 1985.

M.L. KEMEL, C. GAUCHY, R. ROMO, J. GLOWINSKI et M.J. BESSON, *Interaction between GABAergic and DA neurons in the cat substantia nigra : in vivo release studies on nigrothalamic efferents*. 9th Annual meeting E.N.A., Oxford, 8-12, sept. 1985.

A. CHERAMY, R. ROMO et J. GLOWINSKI, *Role of cortico-striatal glutamatergic neurones in the presynaptic control of dopamine release*. 10th Conference in Neurobiology, Gif/Yvette, 28-29/11/85.

C. GAUCHY, M.L. KEMEL, M. DESBAN, R. ROMO, J. GLOWINSKI et M.J. BESSON, *Topographic organisation of the nigro-thalamic pathway. Role of the dendritic release of dopamine in the control of the activity of the nigro-thalamic GABAergic neurons*. 6th E.W.C.B.R., Avoriaz, 09-15/03/86.

A. PROCHIAZTZ, G. BARBIN, M. MALLAT, O. ISACSON, P. BRUNDIN et A. BJÖRKLUND, *Culture and transplantation of C.N.S. dopaminergic neurons*. (Cell and Tissue Transplantation into the Adult Brain, New-York, 2 avril 1986).

M. MALLAT, G. BARBIN, A. AUTILLO-TOUATI, B. CHAMAK, A. ROUSSELET, R. SEITE, J. GLOWINSKI et A. PROCHIAZTZ, *Spécificité régionale des interactions neuro-astrocytaires*. (II<sup>e</sup> Colloque Neurosciences, Bordeaux, 21-26/04/86).

F. FERINO, A.M. THIERRY et J. GLOWINSKI, *Mise en évidence de l'existence de collatérales axonales intra- et sous-corticales des neurones du cortex préfrontal médian*. II<sup>e</sup> Colloque Neurosciences, Bordeaux, 21-26/04/86.

M. DESBAN, M.C. KEMEL, C. GAUCHY, J. GLOWINSKI et M.J. BESSON,

*Hétérogénéité du striatum : analyse des projections striato-nigrales et nigro-striatales.* II<sup>e</sup> Colloque Neurosciences, Bordeaux, 21-26/04/86.

P. BARUCH, F. ARTAUD, A. CHERAMY et J. GLOWINSKI, *Distribution et libération in vivo de CCK-8 dans le noyau caudé et la substance noire du chat.* II<sup>e</sup> Colloque Neurosciences, Bordeaux, 21-26/04/86.

M. MAUS, H. CHNEIWEISS, J. GLOWINSKI et J. PREMONT, *Effets des œstrogènes sur l'adénylate cyclase sensible à la dopamine présente sur des neurones de striatum en culture primaire.* Congrès de Pharmacologie Francophone, Rouen, 5-7/05/86.

F. ARTAUD, P. BARUCH, M. SAFFROY, A. CHERAMY et J. GLOWINSKI, *La cholecystokinine dans le noyau caudé et la substance noire chez le chat.* Congrès de Pharmacologie Francophone, Rouen, 5-7/05/86.

C. GAUCHY, M.L. KEMEL, M. DESBAN, R. ROMO et J. GLOWINSKI, *Rôle de la libération dendritique de dopamine dans le contrôle de l'activité de la voie nigro-thalamique GABAergique.* Congrès de Pharmacologie Francophone, Rouen, 5-7/05/86.

J. GLOWINSKI, *La dopamine : activités et perspectives.* Congrès de Pharmacologie Francophone, Rouen, 5-7/05/86.

J. GLOWINSKI, Y. TORRENS, M. SAFFROY, L. BERGSTROM, J.C. BEAUJOUAN, S. LAVIELLE, O. PLOUX, G. CHASSAING, A. MARQUET, *Tachykinins receptors in the C.N.S.* Neuropeptides and brain function, Utrecht, 28-30/05/86.

J. GLOWINSKI, Y. TORRENS, M. SAFFROY, L. BERGSTROM, J.C. BEAUJOUAN, S. LAVIELLE, O. PLOUX, G. CHASSAING, A. MARQUET, *Tachykinins receptors in the C.N.S.* Trends in Neurobiology, Association franco-suédoise pour la Recherche, Stockholm, 6-7/06/86.

B. CHAMAK, A. FELLOUS et A. PROCHIANTZ, *Régulation de l'expression de MAP-2 dans des neurones en culture.* Réunion annuelle du Club Français du Cytosquelette, Banyuls, 18-21/06/86.

#### LISTE DES DIPLÔMÉS - 1986

Jean-Antoine GIRAULT : Régulations de la libération de dopamine et d'acides aminés neurotransmetteurs dans le neostriatum : étude *in vivo* chez le rat.

— Thèse de Doctorat d'Université, Paris VI, soutenue le 20 janvier 1986.

Jeanne-Marie STUDLER : La cholecystokinine dans le système nerveux central. Co-localisation et inter-relations avec la dopamine du système méso-limbique.

— Thèse de Doctorat d'Etat, Paris VI, soutenue le 31 janvier 1986.

Hervé CHNEIWEISS : Récepteurs centraux des monoamines et de neuropeptides couplés à l'adénylate cyclase de populations neuronales et astrocytaires de l'embryon de souris en culture primaire.

— Thèse de Doctorat d'Université, Paris VI, soutenue le 17 avril 1986.