

# TRANSPORT SYNAPTOSOMAL DU TRYPTOPHANE ET DE LA TYROSINE CEREBRALE. STIMULATION DE LA VITESSE DE CAPTURE APRES RESERPINE OU INHIBITION DE LA MONOAMINE OXYDASE

MARIE-FRANÇOISE BELIN, GUY CHOUVET et JEAN-FRANÇOIS PUJOL

Département de Médecine Expérimentale, Université Claude-Bernard-Lyon I, 8, avenue Rockefeller  
69373 Lyon Cedex 2, France

(Reçu 15 mai 1973; accepté 30 juillet 1973)

**Abstract** Transport of tryptophan (Trp) and tyrosine (Tyr) across synaptosomal membranes was studied *in vitro* after administration of reserpine or monoamine oxydase inhibitor (MAO). A long-lasting stimulation of the high and low affinity uptake of the two aminoacids was observed in different brain structures. Moreover, no direct effect of these drugs was observed *in vitro*. Kinetic study of the high affinity systems showed different mechanisms of regulation for Trp and Tyr uptake after reserpine administration. According to these results the increase of cerebral amounts of Trp and Tyr after reserpine or MAO treatment previously described could be induced by a stimulation of transport of these aminoacids by central nerve endings. However, mechanism or inducing factors of these regulations remain unknown.

## INTRODUCTION

DES TRAVAUX récents ont démontré que l'administration de réserpine ou d'un inhibiteur de la monoamine oxydase (MAO) entraîne chez le rat une augmentation des concentrations tissulaires du tryptophane (Trp) et de la tyrosine (Tyr) cérébrale.<sup>1,2</sup> Si de multiples mécanismes peuvent être la cause de ce phénomène,<sup>1,3-6</sup> il est possible d'envisager une stimulation des processus de transport actif qui contrôlent les concentrations de ces deux acides aminés au niveau des terminaisons nerveuses centrales. Un tel transport a déjà été étudié sur des préparations purifiées de synaptosomes isolés à partir du cerveau de rat.<sup>3,7-11</sup> Il est donc intéressant d'examiner la possibilité de la mise en jeu *in vivo*, sous l'action de ces deux drogues, de mécanismes membranaires modifiant les concentrations intraneuronales du Trp et de la Tyr.

Le présent travail consiste en une étude des variations de la vitesse de transport du Trp ou de la Tyr, réalisée *in vitro* sur des fractions de synaptosomes provenant de différentes structures du cerveau de rats traités *in vivo* par la réserpine ou un MAO.

## MATERIEL ET METHODES

**Solutions utilisées.** Le-L-(méthylène <sup>14</sup>C) tryptophane (Trp) (46-58 mCi/mM) et la L-(<sup>14</sup>C) tyrosine (Tyr) (10 mCi/mM) (The Radiochemical Center, Amersham) sont utilisés après dissolution dans un volume approprié du milieu d'incubation. Les concentrations de ces deux acides aminés sont parfois ajustées avec du L-Trp et de la L-Tyr non radioactifs (Calbiochem). Le sulfate de phenelzine (10 mg/kg) (Laboratoires Substancia, Suresnes, France), la réserpine (10-12 mg/kg) (Serpasil CIBA) et

la nialamide (500 mg/kg, Pfizer) sont injectés en solution dans 1 ml de sérum physiologique par voie intra-péritonéale ou sont dissous dans un volume approprié du milieu d'incubation.

*Préparation des tissus.* Ces expériences sont réalisées sur des rats mâles de souche OFA pesant 200 à 250 g. Les animaux sont placés par groupe de cinq à 10 dans des cages métalliques et reçoivent eau et nourriture *ad lib.* La température ambiante est de  $24 \pm 1^\circ$ , les conditions d'éclairement sont de 12 hr d'obscurité et de 12 hr de lumière.

Tous les animaux sont sacrifiés par décapitation à 10 hr. Leur cerveau immédiatement prélevé est disséqué à  $4^\circ$  en différentes structures (bulbe, pont, mésencéphale, hypothalamus, thalamus, hippocampe, cortex et noyau caudé).<sup>12</sup>

A partir de chaque structure ou à partir de 3-5 structures rassemblées, une fraction de synaptosomes est préparée par centrifugation sur gradient de densité de saccharose.<sup>7</sup>

Après son isolement, la fraction synaptosomale est mise en suspension dans un milieu physiologique à  $4^\circ$  et à pH 7,4 contenant NaCl 0,12 M; KCl: 2,4 mM; CaCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O: 1,1 mM; MgCl<sub>2</sub>, 6H<sub>2</sub>O: 0,83 mM; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0,5 mM; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 0,51 mM; acide ascorbique: 0,56 mM; glucose: 5,35 mM; NaHCO<sub>3</sub>: 0,03 mM pour 1 litre d'eau bi-distillée. Ce milieu est saturé d'O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> (96-4 v/v).

Un mélange de 500 µl de cette suspension et d'un égal volume de la solution physiologique contenant, éventuellement la réserpine ou l'IMAO est préincubé une minute à  $37^\circ$ .

Après addition de 50 µl de milieu contenant le Trp <sup>14</sup>C ou la Tyr <sup>14</sup>C, les synaptosomes sont incubés 1 min et séparés du milieu par filtration sur filtres Millipore d'une porosité de 0,65 µm.<sup>7</sup> Les filtres sont lavés par deux fois 2 ml de la solution physiologique à  $2^\circ$ . La radioactivité des filtres est déterminée par scintillation liquide.<sup>7</sup> Les blancs sont réalisés en mesurant la diffusion du Trp ou de la Tyr dans des échantillons identiques incubés à  $2^\circ$ .

La détermination du taux de protéines s'effectue par fluorimétrie sur des quantités aliquotes de la suspension de synaptosomes.<sup>13</sup>

Une analyse chromatographique réalisée à partir des filtres après extraction dans un mélange méthanol, HCl 0,1 N (95-5 v/v)<sup>14</sup> montre que plus de 90 pour cent de la radioactivité mesurée correspond effectivement au Trp ou à la Tyr.

Les concentrations tissulaires de Trp endogène sont déterminées par spectrofluorimétric après séparation sur une colonne de Dowex (AG 50 X<sub>4</sub>)<sup>13,15</sup>

## RESULTATS

(1) *Variation régionale du transport synaptosomal du tryptophane et de la tyrosine.* Le Tableau 1 exprime les résultats obtenus en mesurant la capture du tryptophane et de la tyrosine pour des concentrations extracellulaires initiales de  $4 \times 10^{-6}$  M/l. dans des fractions particulées provenant des différentes régions du cerveau. Des variations régionales peuvent être mises en évidence entre des structures à capacité de capture plus intense (thalamus, hypothalamus, hippocampe, mésencéphale, noyau caudé) et des structures à capacité plus faible (cortex, pont, bulbe). Les variations de capture d'une structure à l'autre sont pratiquement parallèles pour les deux acides aminés.

TABLEAU 1. VARIATIONS REGIONALES DE LA VITESSE DE TRANSPORT SYNAPOTOSOMAL DU Trp ET DE LA Tyr CEREBRALE

	Tryptophane	Tyrosine
Caudé	0.11 ± 0.01 (52)	0.091 ± 0.07 (52)
Hypothalamus	0.126 ± 0.008 (48)	0.095 ± 0.007 (44)
Bulbe-Pont	0.059 ± 0.002 (28)	0.051 ± 0.004 (28)
Mésencéphale	0.101 ± 0.005 (32)	0.093 ± 0.009 (36)
Hippocampe	0.129 ± 0.008 (24)	0.139 ± 0.009 (16)
Thalamus	0.14 ± 0.04 (8)	0.15 ± 0.03 (8)
Cortex	0.074 ± 0.009 (12)	0.11 ± 0.01 (4)

La vitesse de capture est mesurée *in vitro* sur les synaptosomes provenant de différentes structures cérébrales. La concentration moyenne extracellulaire initiale des deux aminoacides est de  $4 \times 10^{-6}$  M/l. Les résultats sont exprimés en nmoles d'acide aminé captées par mg de protéines et par minute d'incubation ± S.E. de la moyenne (SEM). Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de mesures.

(2) *Activation de la capture synaptosomale du tryptophane et de la tyrosine après administration de réserpine.* Une étude de la capture de ces deux aminoacides est réalisée 1 hr 30 min après administration de réserpine (10 à 12 mg/kg i.p.) sur des fractions particulées contenant les synaptosomes de deux structures cérébrales (noyau caudé et mésencéphale) (Tableau 2). Dans ces conditions, une augmentation significative des concentrations de Trp endogène est observée dans les deux structures étudiées (+22 et +39 pour-cent respectivement). Au niveau du noyau caudé on observe une activation simultanée (+36 et +21 pour-cent) de la vitesse de transport du Trp et de la Tyr mesurées *in vitro* pour des concentrations extracellulaires initiales respectives de  $0.6 \times 10^{-5}$  et  $3 \times 10^{-5}$  M/l (Tableau 2).

TABLEAU 2. VARIATION DE LA VITESSE DE CAPTURE SYNAPOTOSOMALE DU Trp ET DE LA Tyr 1 hr 30 min APRES ADMINISTRATION DE LA RESERPINE

	Vitesse de capture du Trp (nM/mg de pr./min)		Vitesse de capture de la Tyr (nM/mg de pr./min)		Concentration tissulaire du Trp (µg/g)
	A	B	A	B	
<b>Noyau caudé</b>					
Gr 1	100 ± 3 (0,123)	100 ± 4 (0,80)	100 ± 3 (0,43)	100 ± 6 (1,10)	100 ± 3 (6,43)
Gr 2	136 ± 4* 136 ± 4*	145 ± 8* 145 ± 8*	121 ± 3* 121 ± 3*	140 ± 5* 140 ± 5*	122 ± 7† 122 ± 7†
<b>Mésencéphale</b>					
Gr 1	100 ± 2 (0,12)		100 ± 3 (0,35)		100 ± 2 (5,0)
Gr 2	112 ± 2† 112 ± 2†		100 ± 2		139 ± 4* 139 ± 4*

Les animaux sont sacrifiés 1 hr 30 min après une injection intrapéritonéale de sérum physiologique (Groupe 1) ou de réserpine (10 à 12 mg/kg) (Groupe 2). Après isolement d'une fraction synaptosomale purifiée, les vitesses de capture sont mesurées *in vitro* pour des concentrations respectives de Trp et de Tyr de  $6 \times 10^{-6}$  et  $3 \times 10^{-5}$  M/l. (colonne A). La colonne B correspond aux résultats obtenus lorsque la concentration extracellulaire initiale des deux aminoacides est respectivement de  $2.5 \times 10^{-4}$  et  $1 \times 10^{-4}$  M/l. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la valeur moyenne déterminée dans le groupe témoin correspondant ± SEM. Les chiffres entre parenthèses indiquent la valeur moyenne de la vitesse de capture mesurée dans le groupe témoin et exprimée en nM/mg de protéines/min. Chaque valeur correspond à la moyenne de 4-8 échantillons.

\* P < 0,01.

† P < 0,05.

TABLEAU 3. TRANSPORT SYNAPOTOSOMAL DU Trp ET DE LA Tyr MESURÉ 24 hr APRÈS ADMINISTRATION DE RÉSERPINE

	Vitesse de capture du Trp (nM/mg de pr./min)	Vitesse de capture de la Tyr (nM/mg de pr./min)
Noyau caudé		
Gr 1	100 $\pm$ 1 (0,110)	100 $\pm$ 2 (0,100)
Gr 2	122 $\pm$ 7*	128 $\pm$ 4†
Mésencéphale		
Gr 1	100 $\pm$ 4 (0,101)	100 $\pm$ 3 (0,100)
Gr 2	98 $\pm$ 3	96 $\pm$ 3

Vingt-quatre heures après une injection intra-péritonéale de sérum physiologique (Gr 1) ou de réserpine (10-12 mg/kg) (Gr 2), les rats sont sacrifiés et la vitesse de transport synaptosomal du Trp et de la Tyr est mesurée *in vitro* pour des concentrations extracellulaires initiales respectives de  $4 \times 10^{-6}$  et  $6 \times 10^{-6}$  M/l. Les résultats sont exprimés de la même manière que pour le Tableau 2. Chaque chiffre représente la moyenne de 13-24 échantillons.

\* P < 0,05.

† P < 0,01.

Une augmentation de la capture du Trp (+45 pour-cent) et de la Tyr (+40 pour-cent) est également mise en évidence pour des concentrations de ces deux acides aminés de  $2,5 \times 10^{-4}$  et  $1 \times 10^{-4}$  M/l. (Fig. 2b), c'est-à-dire dans des conditions expérimentales où le système de capture présente une basse affinité.

Au niveau du mésencéphale une élévation légère mais significative de la vitesse de capture du Trp est également observée (+12 pour-cent P < 0,05) (Tableau 2A).

Une étude identique réalisée 24 hr après l'administration de la drogue révèle également une stimulation de la capture du Trp et de la Tyr par les synaptosomes provenant du noyau caudé (+22 et +28 pour-cent respectivement). Par contre, aucune augmentation ne s'observe au niveau mésencéphalique (Tableau 3).

Quand les synaptosomes provenant du noyau caudé sont incubés *in vitro* en présence de réserpine ( $5 \times 10^{-5}$  M/l.) aucune variation significative du transport du Trp et de la Tyr n'est observée (Tableau 4).

TABLEAU 4. EFFET DE LA RÉSERPINE, *in vitro*, SUR LE TRANSPORT DU Trp ET DE LA Tyr PAR LES SYNAPOTOSOMES ISOLÉS DU NOYAU CAUDÉ

	Vitesse de capture (nM/mg de pr./min)	
	Trp	Tyr
Solution Physiologique	100 $\pm$ 4 (0,102)	100 $\pm$ 3 (0,092)
Réserpine	92 $\pm$ 4	92 $\pm$ 6

Le transport du Trp et de la Tyr est mesuré en l'absence (solution physiologique) ou en présence de réserpine ( $5 \times 10^{-5}$  M/l.). Les concentrations de Trp et de Tyr sont de  $3 \times 10^{-6}$  M/l. Les résultats sont exprimés de la même manière que pour le Tableau 2. Chaque valeur est la moyenne de huit échantillons.

TABLEAU 5. EFFET DE L'ADMINISTRATION DE PHENELZINE SUR LA VITESSE DE TRANSPORT SYNAPTO SOMAL DU Trp ET DE LA Tyr

	Vitesse de capture du Trp (nM/mg de pr./min)		Vitesse de capture de la Tyr (nM/mg de pr./min)	
	A	B	A	B
Noyau caudé				
Gr 1	100 ± 1 (0,110)		100 ± 2 (0,105)	
Gr 2	122 ± 4*		132 ± 5†	
Mésencéphale				
Gr 1	100 ± 1 (0,101)	100 ± 6 (5,4)	100 ± 1 (0,110)	100 ± 2 (1,01)
Gr 2	130 ± 5†	132 ± 1†	134 ± 5†	122 ± 6*
Bulbe-Pont				
Gr 1	100 ± 2 (0,060)		100 ± 2 (0,065)	
Gr 2	118 ± 3		129 ± 3†	
Hypothalamus				
Gr 1	100 ± 2 (0,130)		100 ± 3 (0,120)	
Gr 2	107 ± 4		120 ± 3*	

Deux injections intrapéritonéales de sérum physiologique (Gr 1) ou de Phénélzine (10 mg/kg) (Gr 2) sont effectuées 24 et 18 hr avant le sacrifice. Les résultats sont exprimés de la même manière que pour le Tableau 2. La colonne A correspond aux résultats obtenus pour des concentrations extracellulaires respectives de Trp et de Tyr de  $4 \times 10^{-6}$  et  $6 \times 10^{-6}$  M/l. Les résultats de la colonne B sont mesurés pour des concentrations respectives de  $2 \times 10^{-3}$  et  $1 \times 10^{-4}$  M/l. Chaque chiffre représente la moyenne de 15-24 échantillons.

\* P < 0,05.

† P < 0,01.

(3) *Augmentation du transport synaptosomal du tryptophane et de la tyrosine après inhibition des monoamines oxydases.* Après administration de phenelzine (10 mg/kg i.p. 24 hr et 17 hr avant le sacrifice), une augmentation simultanée du transport du Trp et de la Tyr est mesurée *in vitro* au niveau du noyau caudé, du mésencéphale,

TABLEAU 6. EFFET DE L'ADMINISTRATION DE NIALAMIDE SUR LA VITESSE DE TRANSPORT DU Trp OU DE LA Tyr PAR LES SYNAPOTOSOMES ISOLÉS DU MÉSENCÉPHALE

	Vitesse de capture (nM/mg de pr./min)	
	Trp	Tyr
Gr 1	100 ± 5 (0,14)	100 ± 2 (0,20)
Gr 2	143 ± 6*	130 ± 4†

Les animaux sont sacrifiés 18 hr après l'injection intrapéritonéale de sérum physiologique (Gr 1) ou de nialamide (500 mg/kg; Gr 2). La vitesse de transport synaptosomal est mesurée pour des concentrations respectives de Trp et de Tyr de  $7,2 \times 10^{-6}$  et  $1,6 \times 10^{-5}$  M/l. Les résultats sont exprimés de la même façon qu'en Tableau 2. Chaque valeur est la moyenne de cinq échantillons.

\* P < 0,01.

† P < 0,05.

et du bulbe pont pour des concentrations extracellulaires initiales de Trp et de Tyr de  $4 \times 10^{-6}$  et  $6 \times 10^{-6}$  M/l. Au niveau de l'hypothalamus scule la capture de la Tyr est augmentée de façon significative (Tableau 5A).

Au niveau du mésencéphale, un effet identique est observé pour des concentrations du Trp et de la Tyr de  $2 \times 10^{-3}$  et  $1 \times 10^{-4}$  M/l (Tableau 5B), pour lesquelles les systèmes de capture présentent une basse affinité. Dans cette même structure, il existe une stimulation analogue des processus de transport 18 hr après l'injection i.p. de 500 mg/kg de nialamide (Tableau 6).

Lorsque la phénelzine est dissoute directement dans le milieu d'incubation ( $10^{-4}$  M/l.) aucune stimulation de la capture n'est observée (Tableau 7).

(4) *Variations des caractéristiques cinétiques du transport du Tryptophane et de la tyrosine après administration de réserpine et de phénelzine.* Au niveau du noyau caudé, pour des concentrations initiales de Trp comprises entre  $0,23$  et  $1,2 \times 10^{-5}$  M/l., la capture synaptosomale procède d'un système à haute affinité caractérisé par 1  $k_m$  apparent de  $2 \times 10^{-5}$  M/l. et 1 Vm de 30 nM/mg de protéines/hr. 1 hr 30 min après administration de réserpine, l'affinité du système augmente ( $P < 0,02$ ) sans variation significative de la vitesses maximum (Fig. 1a).

Dans les mêmes conditions expérimentales, la capture de la tyrosine résulte également d'un système à haute affinité ( $k_m = 4,6 \times 10^{-5}$  M/l.). Le traitement par la réserpine induit une augmentation de la vitesse maximum ( $P < 0,05$ ), alors que l'affinité du système est peu modifiée (Fig. 1b).

Au niveau du mésencéphale et pour des concentrations voisines en aminoacides les systèmes de capture du Trp et de la Tyr présentent une haute affinité (Fig. 2

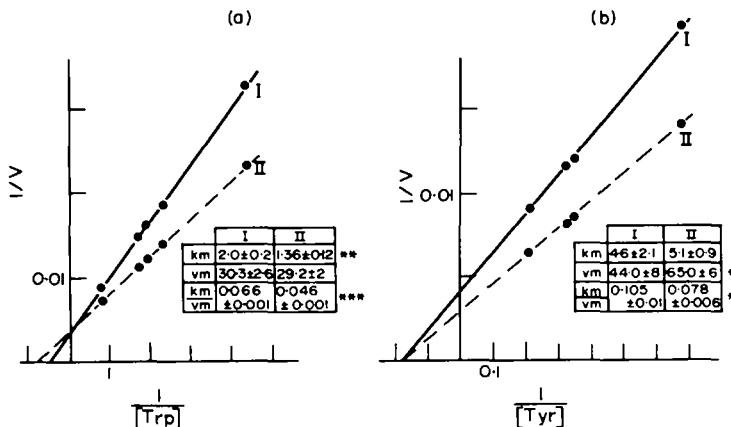


FIG. 1. Une heure 30 min après administration intraperitoneale de sérum physiologique (Groupe témoin 1) ou de réserpine (10 mg/kg) (Groupe témoin 2), les animaux sont sacrifiés et leur noyau caudé rapidement disséqué. L'analyse des cinétiques de capture du Trp (a) et de la Tyr (b) est réalisée pour des concentrations extracellulaires initiales inférieures à  $5 \times 10^{-5}$  M/l. Les vitesses de capture sont exprimées en nmoles de substrat captées par mg de protéine dans la fraction incubée et par heure. Les concentrations de substrats sont données en M/l.  $\times 10^{-5}$ . Les résultats sont portés en coordonnées de Lineweaver et Burck. La détermination statistique des paramètres cinétiques de la fonction hyperbolique  $v = f(s)$  est réalisée par itérations successives par la méthode des moindres carrés selon les procédés décrits par Clealand<sup>41</sup> et Aivazian.<sup>42</sup> La comparaison des paramètres cinétiques entre les deux situations expérimentales I et II est effectuée à l'aide d'un test *t* de "Student". Chaque point représente la moyenne de cinq déterminations. Les chiffres inscrits dans chaque tableau représentent les valeurs moyennes de ces paramètres cinétiques  $\pm$  l'écarttype.

\*  $P < 0.05$ ; †  $P < 0.02$ ; ‡  $P < 0.001$ .

TABLEAU 7. EFFET DE LA PHÉNÉLZINE *in vitro* SUR LA CAPTURE DU Trp ET DE LA Tyr PAR LES SYNAPOTOSMES

	Vitesse de capture	
	Trp	Tyr
Noyau caudé		
Solution physiologique	100 ± 4 (0,11)	100 ± 5 (0,91)
Phénélzine	94 ± 4	95 ± 5
Mésencéphale		
Solution physiologique	100 ± 4 (0,101)	100 ± 4 (0,93)
Phénélzine	99 ± 5	95 ± 4
Bulbe-Pont		
Solution physiologique	100 ± 4 (0,59)	
Phénélzine	106 ± 2	
Hypothalamus		
Solution physiologique	100 ± 5 (0,125)	
Phénélzine	95 ± 2	

Le transport du Trp et de la Tyr est mesuré en l'absence (solution physiologique) ou en présence de phénélzine ( $1 \times 10^{-4}$  M/l). Les concentrations de Trp et de Tyr sont de  $4 \times 10^{-6}$  M/l. L'expression des résultats est identique à le Tableau 2. Chaque valeur est la moyenne de cinq échantillons.

$a_1$  et  $b_1$ ). Après administration de phénélzine (10 mg/kg 24 hr et 18 hr avant le sacrifice), les cinétiques de capture du Trp et de la Tyr sont également modifiées. En coordonnées de Lineweaver et Burk, les pentes des cinétiques du transport varient en effet de façon significative ( $p \leq 0,001$ ) et la modification semble porter essentiellement dans les deux cas sur une variation de la vitesse maximum (Fig. 2 a<sub>II</sub> et b<sub>II</sub>).

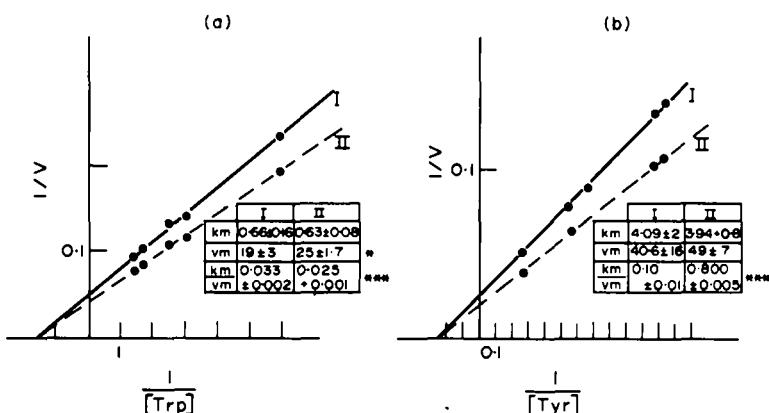


FIG. 2. Vingt-quatre et 17 hr après administration intraperitoneale de sérum physiologique (Groupe témoin 1) ou de phénélzine (10 mg/kg) (Groupe témoin 2), les animaux sont sacrifiés et leur mésencéphale rapidement disséqué. L'analyse des cinétiques de capture du Trp (a) et de la Tyr (b) est réalisée pour des concentrations extra-cellulaires initiales inférieures à  $5 \times 10^{-5}$  M/l. L'expression des résultats et les calculs statistiques sont effectués de la même manière que pour la Fig. 1.

### DISCUSSION

Le transport synaptosomal du Trp<sup>9-11</sup> et de la Tyr<sup>10</sup> cérébrale s'effectue chez le rat par l'intermédiaire de systèmes enzymatiques présentant des affinités différentes. Pour des concentrations extracellulaires initiales inférieures à  $5 \times 10^{-5}$  M/l., les systèmes de transport du Trp et de la Tyr par les synaptosomes isolés du noyau caudé et du mésencéphale présentent une haute affinité. Dans ces conditions expérimentales, des variations significatives de la vitesse de capture de ces deux amino-acides sont observées entre différentes régions cérébrales. Cependant, aucune corrélation directe ne peut être établie ni avec les modifications des concentrations endogènes du Trp ou de la Tyr qui, chez le rat,<sup>16,17</sup> comme chez le chat<sup>18,19</sup> varient peu d'une structure à l'autre, ni avec la densité plus ou moins grande de terminaisons nerveuses monoaminergiques de ces structures.<sup>17,19-23</sup> Finalement, le cortex mis à part, ces variations régionales sont parallèles pour les deux acides aminés.

*In vitro*, la réserpine n'a aucun effet direct sur le transport synaptosomal du Trp ou de la Tyr. Par contre, l'administration *in vivo* de cette drogue entraîne au niveau du noyau caudé une activation du système de capture du Trp et de la Tyr mesurée *in vitro* sur une préparation synaptosomale purifiée. Cette stimulation du transport membranaire constitue vraisemblablement l'un des mécanismes responsables de l'augmentation des concentrations tissulaires du Trp et de la Tyr déjà observée après administration de cette drogue.<sup>1,2</sup> Il s'agit d'une régulation de longue durée qui persiste 24 hr après l'injection.

Il faut remarquer que ce phénomène n'apparaît pas de façon évidente au niveau de mésencéphale où une augmentation significative des concentrations tissulaires du Trp est cependant mesurée. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce phénomène. La régulation mise en jeu pourrait être spécifique du noyau caudé; cependant 1 hr 30 min après l'injection une augmentation faible mais significative du transport du Trp peut être mise en évidence au niveau mésencéphalique. Il est également possible d'envisager cette stimulation du transport comme une conséquence directe de l'activation de la synthèse de la 5 HT et des CA qui résulte de l'action réserpinique.<sup>24,25</sup> De nombreux résultats ont en effet montré l'augmentation fréquente des concentrations tissulaires cérébrales du Trp dans des conditions expérimentales où la synthèse de la 5 HT est stimulée par des facteurs pharmacologiques<sup>1,17</sup> ou physiologiques.<sup>26-29</sup> Dans ce cas, la diminution de l'effet membranaire au niveau de mésencéphale *in vitro* pourrait s'expliquer par l'action de facteurs non spécifiques liés aux processus de purification des synaptosomes. La persistance d'un effet au niveau du striatum résulterait de la plus forte densité de cette structure en terminales aminergiques.

Une inhibition pharmacologique spécifique du système de capture à haute affinité du Trp a été démontrée récemment chez le rat.<sup>11</sup> Dans nos conditions expérimentales cependant, les phénomènes de régulation mis en jeu après administration de réserpine affectent également les systèmes de haute et basse affinité responsables du transport du Trp et de la Tyr.

Il est démontré que le Trp et la Tyr sont des inhibiteurs compétitifs réciproques de leur propre système de capture. Ceci laisse supposer l'existence d'un même système de transport pour ces deux aminoacides. L'analyse des caractéristiques cinétiques des systèmes à haute affinité démontre cependant la mise en jeu, après réserpine, de modifications cinétiques différentes pour le Trp et la Tyr (Fig. 1). Ceci permet d'envi-

sager l'existence de sites régulateurs spécifiques au niveau des systèmes de transport de ces deux acides aminés. Une observation analogue a déjà été faite au niveau du mésencéphale lors de l'étude de l'inhibition de ces deux systèmes de capture par la chlorimipramine.<sup>30</sup>

L'inhibition de l'activité MAO par la phénélzine<sup>1,2</sup> le catron,<sup>4</sup> la tranylcypromine<sup>31</sup> entraîne également chez le rat une élévation des concentrations cérébrales du Trp. Dans nos conditions expérimentales, l'administration *in vivo* de phénélzine est suivie d'une activation des systèmes à haute affinité responsables de la capture du Trp et de la Tyr par les synaptosomes provenant de plusieurs structures cérébrales étudiées. Les systèmes de capture à basse affinité sont également activés (Tableau 5, colonne B). La mise en jeu de cette régulation apparaît bien comme une conséquence de l'inhibition des MAO intracérébrales *in vivo*, puisqu'une augmentation similaire du processus de capture est observée 17 hr après l'injection d'un autre inhibiteur : la nialamide. D plus, la phénélzine dissoute directement dans le milieu d'incubation ne présente aucune action sur les phénomènes de transport. Ceci confirme des données récentes montrant l'absence d'effet de la phéniprazine, *in vitro*, sur la capture membranaire du Trp.<sup>3</sup> Contrairement aux observations faites après réserpine, la régulation mise en jeu semble affecter l'ensemble des structures étudiées. Elle intéresse les systèmes de transport des deux acides aminés. Au niveau de l'hypothalamus cependant, seule la capture de la tyrosine est augmentée de façon significative.

L'analyse des cinétiques enzymatiques réalisée au niveau du mésencéphale sur les systèmes à haute affinité montre ici une modification analogue du transport du Trp et de la Tyr, la variation significative des cinétiques de capture provenant d'une augmentation de la vitesse maximale (Fig. 2).

Finalement, les variations des concentrations cérébrales du Trp et de la Tyr observées après administration de réserpine ou d'un IMAO s'interprètent facilement par la mise en jeu, *in vivo*, au niveau des membranes synaptosomales d'une activation de la vitesse de transport de ces deux acides aminés.

La régulation qui s'établit sous réserpine pourrait représenter un facteur supplémentaire de l'activation de la synthèse des monoamines<sup>24,25</sup> dont le Trp et la Tyr sont des précurseurs. Une telle hypothèse ne se justifie pas après inhibition des MAO puisque l'on sait qu'elle entraîne une rétroaction négative sur la synthèse des monoamines.<sup>4,32</sup> Par contre, il pourrait s'agir de la stimulation des systèmes de transport par un phénomène métabolique général mis en jeu sous inhibition des MAO. Il a été démontré en effet que le traitement par la pargyline entraînait une augmentation transitoire et simultanée du taux de corticostéroïdes plasmatiques et de la vitesse d'hydroxylation du Trp cérébral.<sup>33</sup> D'autres travaux ont montré l'influence des corticostéroïdes sur l'activité de la tryptophane hydroxylase cérébrale.<sup>34,35</sup> De plus, l'administration d'ACTH semble stimuler la synthèse protéique au niveau du système nerveux central.<sup>36</sup> Un tel mécanisme pourrait expliquer une activation globale de la vitesse maximum du transport des deux aminoacides au niveau des terminaisons nerveuses cérébrales.

Quoiqu'il en soit, la complexité anatomique et fonctionnelle des systèmes aminergiques centraux, les multiples phénomènes d'interrégulation de ces systèmes entre eux<sup>17,37,38</sup> et avec d'autres systèmes de neurones<sup>39,40</sup> rend difficile l'établissement d'une relation directe entre les phénomènes membranaires observés et des mécanismes régulateurs spécifiques aux neurones monoaminergiques. La connais-

sance des mécanismes contrôlant les concentrations intra-neuronales de leurs précurseurs reste cependant un des problèmes fondamentaux de toute étude de la régulation de la synthèse de ces amines. Notre travail démontre que la modification pharmacologique du métabolisme des monoamines entraîne au niveau de plusieurs structures cérébrales des modifications importantes et durables du transport membranaire de leurs précurseurs qui peuvent être mises en évidence, *in vitro*, sur des fractions particulières purifiées contenant les terminaisons nerveuses.

#### REFERENCES

1. A. TAGLIAMONTE, P. TAGLIAMONTE, J. PEREZ CRUET, S. STERN and G. GESSA, *J. Pharmac. exp. Ther.* **177**, 475 (1971).
2. A. TAGLIAMONTE, P. TAGLIAMONTE, J. PEREZ CRUET and G. GESSA, *Nature New Biol.* **229**, 125 (1971).
3. M. KAROBATH, *Biochem. Pharmac.* **21**, 1253 (1972).
4. J. B. MACON, L. SOKOLOFF and J. GLOWINSKI, *J. Neurochem.* **18**, 323 (1971).
5. D. G. GRAHAME-SMITH, *J. Neurochem.* **18**, 1053 (1971).
6. R. J. WURTMAN, *Sciences* **172**, 411 (1972).
7. D. G. GRAHAME-SMITH and G. PARFITT, *J. Neurochem.* **17**, 1339 (1970).
8. M. KAROBATH, J. L. DIAZ and M. HUTTUNEN, *Biochem. Pharmac.* **21**, 1245 (1972).
9. M. F. BELIN et J. F. PUJOL, *C. R. hebdo. Seanc. Acad. Sci., Paris* **275**, 2271 (1972).
10. M. F. BELIN et J. F. PUJOL, *Experientia* (in press).
11. S. KNAPP and A. MANDELL, *Science* **177**, 1209 (1972).
12. J. GLOWINSKI and L. L. IVERSEN, *J. Neurochem.* **13**, 655 (1966).
13. S. UDENFRIEND, *Molecular Biology* (Eds. N. O. KAPLAN and H. A. SHERAGA), Vol. 3, p. 191. Academic Press, London (1962).
14. R. HAKANSON and G. J. HOFFMAN, *Biochem. Pharmac.* **16**, 1677 (1967).
15. J. F. PUJOL, Thèse de Doctorat ès-Sciences, Paris (1970).
16. J. SHUBERT and G. SEDVALL, *Eur. J. Pharmac.* **17**, 75 (1972).
17. C. BLONDAUX, A. JUGE, F. SORDET, G. CHOUVET, M. JOUVET et J. F. PUJOL, *Brain Res.* **50**, 101 (1973).
18. L. BATTISTINI and A. LAJTHA, *J. Neurol. Sci.* **10**, 313 (1970).
19. F. PETITJEAN, R. LAGUZZI, F. SORDET, M. JOUVET et J. F. PUJOL, *Brain Res.* **48**, 281 (1972).
20. J. GLOWINSKI, L. IVERSEN and J. AXELROD, *J. Pharmac. exp. Ther.* **151**, 385 (1965).
21. T. J. CICERO, L. G. SHARI, E. ROBINS and S. S. GROTE, *J. Neurochem.* **19**, 2241 (1972).
22. J. T. COYLE, *Biochem. Pharmac.* **21**, 1935 (1972).
23. E. G. MCGEER, S. GIBSON, J. A. WADA and P. L. MCGEER, *Can. J. Biochem.* **45**, 1943 (1967).
24. R. A. MUELLER, H. THOENEN and J. AXELROD, *J. Pharmac. exp. Ther.* **169**, 74 (1969).
25. T. M. TOZER, N. H. NEFF and B. Z. BRODIE, *J. Pharmac. exp. Ther.* **153**, 177 (1966).
26. F. PETITJEAN et M. JOUVET, *C. R. hebdo. Seanc. Soc. Biol., Paris* **164**, 2288 (1970).
27. F. HERY, J. F. PUJOL, M. LOPEZ, J. MACON and J. GLOWINSKI, *Brain Res.* **21**, 391 (1970).
28. G. CURZON, M. H. JOSEPH and P. J. KNOTT, *J. Neurochem.* **19**, 1967 (1972).
29. P. J. KNOTT, M. H. JOSEPH and G. CURZON, *J. Neurochem.* **20**, 249 (1973).
30. M. F. BELIN et J. F. PUJOL, *C. R. hebdo. Seanc. Acad. Sci., Paris* **275**, 3017 (1972).
31. D. G. GRAHAME SMITH, *J. Neurochem.* **18**, 1053 (1971).
32. M. HAMON, S. BOURGOIN, Y. MOROT-GAUDRY et J. GLOWINSKI, *Nature, Lond.* **237**, 184 (1972).
33. S. A. MILLARD and E. M. YAL, *Int. J. Neurosci.* **1**, 211 (1971).
34. E. C. AZMITIA, J. R. BRUCE and S. McEWEEN, *Science, N.Y.* **166**, 1274 (1969).
35. E. C. AZMITIA, J. S. ALGERI and E. COSTA, *Science, N.Y.* **169**, 201 (1970).
36. B. SEMIGINOVSKY and B. JAKOUBEK, *Brain Res.* **35**, 319 (1971).
37. G. A. JOHNSON, E. G. KIM and S. J. BOUKMA, *J. Pharmac. exp. Ther.* **180**, 539 (1972).
38. J. JESTER and W. HORST, *Biochem. Pharmac.* **21**, 333 (1972).
39. A. K. S. HO, G. SNIGER and S. GERSHON, *Psychopharmacologia* **21**, 238 (1971).
40. H. CORRODI, K. FUXE and P. LIDBRINK, *Brain Res.* **43**, 397 (1972).
41. W. W. CLELAND, *Adv. Enzymol.* **29**, 1 (1967).
42. S. AIVAZIAN, Etude statistique des Dépendances, pp. 236, MIRS, URSS (1970).

**Résumé**—Une étude des systèmes de transport à haute et basse affinité du Tryptophane (Trp) et de la Tyrosine (Tyr) est réalisée *in vitro* sur des fractions purifiées de synaptosomes, après administration de réserpine ou d'un inhibiteur de la monoamine oxydase. Dans ces conditions, une stimulation de longue durée des systèmes de capture de ces deux acides aminés est observée, au niveau de certaines structures cérébrales. La dissolution directe de

ces drogues dans le milieu d'incubation est sans effet sur la vitesse de transport. L'étude des cinétiques de capture des systèmes à haute affinité permet de mettre en évidence après réserpine des mécanismes de régulation différents au niveau des systèmes de transport du Trp et de la Tyr. Ces résultats permettent d'interpréter l'augmentation des concentrations cérébrales du Trp et de la Tyr déjà observées après l'administration de ces drogues par une stimulation des processus membranaires du transport de ces acides aminés au niveau des terminaisons nerveuses centrales. Les mécanismes et les facteurs de mise en jeu de cette stimulation restent cependant inconnus.

Ce travail a bénéficié de l'aide de l'I.N.S.E.R.M. (Groupe U 52), du C.N.R.S. (L.A. N° 162) et de la D.R.M.E. (Contrat 72-108).