

EFFETS DE LA 5-6 DIHYDROXYTRYPTAMINE SUR LES MECANISMES DE TRANSPORT DE DIVERS NEUROTRANSMETTEURS OU DE LEURS PRECURSEURS AU NIVEAU DES SYNAPTOSOMES DU MESENCEPHALE DE RAT.

Marie-Françoise Belin, Jean-Claude Kouyoumdjian, Josiane Bardakdjian et Pierre Gonnard.

Département de Biochimie, CHU Henri Mondor, 94010 CRETEIL CEDEX

(Received 8 July 1975; accepted 12 September 1975)

L'administration de 5-6 Dihydroxytryptamine ( 5-6 DHT ) dans les ventricules cérébraux entraîne une diminution importante et prolongée du taux de sérotonine ( 5 HT ) et provoque une destruction des terminales sérotoninergiques (1) (2) (3). Les effets neurotoxiques de la 5-6 DHT semblent spécifiques des neurones sérotoninergiques, leur dégénérescence est maximale 10 jours après le traitement ; cependant, la modification du métabolisme de la sérotonine intervient rapidement après l'injection (3) (5). Dans ce travail, nous avons abordé l'étude des mécanismes de transport de certains neurotransmetteurs : la 5 HT, la Dopamine ( DA ), l'acide  $\gamma$  aminobutyrique ( GABA ) ou de leurs précurseurs : le tryptophane ( TRP ), la tyrosine ( TYR ), l'acide glutamique ( GLU ) au niveau des synaptosomes après modification du métabolisme de la sérotonine par le traitement avec la 5-6 DHT.

Sous une légère anesthésie au nembutal ( 30 mg/kg i.p. ) des rats femelles ( 200 g ) reçoivent une injection intraventriculaire de 75  $\mu$ g de 5-6 DHT ( calculé " en base libre " du complexe créatinine-sulfate- $H_2O$  ) dissous dans 20  $\mu$ l d'une solution de Ringer contenant 0,1 mg d'acide ascorbique/ml. 8 rats traités sont tués 4 jours après l'injection ( Groupe 2 ), 8 autres, 10 jours après ( Groupe 4 ). 16 rats témoins ( Groupes 1 et 3 ) reçoivent dans les mêmes conditions 20  $\mu$ l de la solution Ringer contenant 0,1 mg/ml d'acide ascorbique.

Les captations de la  $^{14}C$  - 5 HT (58 mCi/m mol), du L  $^{14}C$  - TRP (54 mCi/m mol), de la L  $^{14}C$  - TYR (10 mCi/m mol), de la  $^{14}C$  DA ( 54 mCi/m mol) du L  $^{14}C$  - GLU (200 mCi/m mol) et du  $^{14}C$  - GABA (21 mCi/m mol) sont mesurées *in vitro* dans les synaptosomes pour des concentrations correspondant aux systèmes de transport de haute affinité (6) (7) (8) (9). Les fractions purifiées de synaptosomes sont préparées à partir du mésencéphale de rat d'après la technique de Gray et Whittaker (10)

	5 HT 0,42 $\mu$ M/l	TRP 1,6 $\mu$ M/l	DA 4,65 $\mu$ M/l	TYR 11,7 $\mu$ M/l	GABA 1 $\mu$ M/l	GLU 0,89 $\mu$ M/L
Témoins Groupe 1	100 $\pm$ 2 (0,014)	100 $\pm$ 0,5 (0,192)	100 $\pm$ 3,5 (0,070)	100 $\pm$ 3,5 (0,365)	100 $\pm$ 9 (0,255)	100 $\pm$ 8 (0,095)
5-6 DHT 4 jours avant Groupe 2	68,2 $\pm$ 2,9  **	98 $\pm$ 1,1	122,8 $\pm$ 4  **	115 $\pm$ 1  *	125,5 $\pm$ 3  **	120 $\pm$ 6  *
Témoins Groupe 3	100 $\pm$ 1,3 (0,0162)	100 $\pm$ 2,4 (0,143)	100 $\pm$ 2,5 (0,070)	100 $\pm$ 2,2 (0,301)	100 $\pm$ 2 (0,20)	100 $\pm$ 1 (0,081)
5-6 DHT 10 jours avant Groupe 4	58 $\pm$ 3,3  **	96 $\pm$ 1,2	90 $\pm$ 1	86 $\pm$ 4  *	115 $\pm$ 5  *	119 $\pm$ 6,7  *

EFFETS DE L'INJECTION INTRAVENTRICULAIRE DE LA 5-6 DHT SUR  
DIVERS MECANISMES DE TRANSPORTS

La captation de la  $^{14}\text{C}$  5 HT, de la  $^{14}\text{C}$  DA, de la  $^{14}\text{C}$  TYR, du  $^{14}\text{C}$  GABA et du  $^{14}\text{C}$  Glu est mesurée *in vitro* sur des fractions purifiées de synaptosomes préparées à partir du mésencéphale de 8 rats témoins ( Groupes 1 et 3 ) et de 16 rats traités par la 5-6 DHT, 4 jours avant le sacrifice ( Groupe 2 ), 10 jours avant le sacrifice ( Groupe 4 ). Les résultats sont exprimés en pourcentage par rapport aux témoins  $\pm$  SEM. Chaque mesure représente la moyenne de 4 échantillons. Entre parenthèses figurent les taux de captation des composés en nM par mg de protéine par minute.

\*\* p < 0,01      \* p < 0,05

Les incubations à 37°C de 2 min pour la 5 HT et la DA et de 1 min pour les autres composés sont effectuées suivant les méthodes précédemment décrites (6). Les taux de protéines de la suspension synaptosomale sont mesurés par la méthode de Lowry (11).

Dans ces conditions, 4 jours après le traitement par la 5-6 DHT, il existe une inhibition de 32 % de l'accumulation de la 5 HT dans les synaptosomes ; cette diminution est renforcée 10 jours après le traitement ( 42 % ) Par contre il n'existe aucune modification de la captation du TRP. L'inhibition des mécanismes de transport " haute affinité " de la 5 HT confirme la destruction des terminales sérotoninergiques ; un tel résultat a déjà été mis en évidence au niveau de coupes de tissus dans différentes structures (12). Après la lésion du raphé ( qui provoque la destruction d'un grand nombre de terminales sérotoninergiques ), d'autres auteurs (13) ont trouvé également une importante diminution de la captation de la 5 HT sans modification du transport du TRP dans les synaptosomes.

Dans nos conditions expérimentales, il existe une stimulation des mécanismes de transport de la TYR ( 15 % ) et de la DA ( 22,8 % ), 4 jours après le traitement par la 5-6 DHT. Par contre, 10 jours après l'injection, il apparaît une légère inhibition de ces mécanismes de transport. Ces résultats pourraient s'expliquer par une régulation mise en jeu, *in vivo*, quelques jours après le traitement, entraînant une hypersensibilité de certains neurones. Des travaux récents (14) ont montré, en effet, au niveau du locus coeruleus une importante augmentation de l'activité de la TYR hydroxylase 4 à 6 jours après le traitement par la 5-6 DHT. Les projections du locus coeruleus dans le mésencéphale pourraient être stimulées dans ces conditions ; il existerait alors une augmentation de la captation de la DA et de la TYR par les synaptosomes qui disparaît 10 jours après le traitement, parallèlement à la diminution de l'activité de la TYR hydroxylase.

Il existe également, 4 jours après l'injection de 5-6 DHT, une stimulation des mécanismes de transport du GABA ( 25,5 % ) et du GLU ( 20 % ) dans les synaptosomes. Ces stimulations, bien que moins importantes ( 15 % et 19 % ) sont maintenues 10 jours après le traitement. Ces régulations mises en jeu *in vivo* pourraient être dues à des interrégulations entre neurones sérotoninergiques et GABAminergiques (15). Toutefois, 14 jours après la lésion du raphé (13) il n'existe pas de modification des mécanismes de transport du GABA et du GLU dans les synaptosomes. Si dans certains cas l'administration de 5-6 DHT provoque les mêmes effets que la lésion du raphé ( 5 HT, TRP ), il n'en est pas de même en ce qui concerne le GABA et le GLU. On peut considérer que les mécanismes de régulation mis en jeu ne sont pas toujours identiques.

## REFERENCES

- I. H.G. Baumgarten, A. Björklund, L. Lachenmayer, L. Nobin et U. Stenevi, *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 373, I ( 1971 )
2. H.G. Baumgarten, K.D. Evetts, R.B. Holman, L.L. Iversen, M. Vogt et G. Wilson, *J. Neurochem.* 19, 1587 (1972 )
3. A. Björklund, A. Nobin et U. Stenevi, *Brain Res.* 53, 117 (1973)
4. A. Nobin, H.G. Baumgarten, A. Björklund, L. Lachenmayer et U. Stenevi *Brain Res.* 56, I, (1973)
5. S.J. Victor, H.G. Baumgarten et W. Lovenberg, *J. Neurochem.* 22, 541 (1974)
6. M.F. Belin, G. Chouvet et J.F. Pujol, *Biochem. Pharmacol.* 23, 587 (1973)
7. G. Levi et M. Raiteri, *Life Sciences* 12, 81 (1973)
8. D.T. Wong, J.S. Horng et R.W. Fuller, *Biochem. Pharmacol.* 22, 311 (1973)
9. S.H. Snyder, H.I. Yamamura, C.B. Pert, W.J. Logan et J.P. Bennett in A.J. Mandelle (ed.) *New Concepts in Neurotransmitter regulation*. Plenum Press. New York 195 (1973)
10. E.G. Gray et V.P. Whittaker, *J. Anat.* 96, 79 (1962)
11. O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, F. Farra et R.S. Randall, *J. Biol. Chem.* 193, 265 (1951)
12. A. Björklund, H.G. Baumgarten et A. Nobin, *adv. In Bioch. Psychopharmacol.* 10, 13 (1974) Raven Press New York
13. M.J. Kuhar, R.H. Roth et G.K. Aghajanian, *J. Pharm. and Exp. Ther.* 181, 36, (1972)
14. B. Renaud, M. Buda, B. Douglas Lewis et J.F. Pujol, *Biochem. Pharmac.* in press
15. W.J. Nicklas, S. Berl et D.D. Clarke, *J. Neurochem.* 23, 149 (1974)