

Suppression, chez le Lapin, des effets locomoteurs de la DOPA par le diethyldithiocarbamate

La locomotion «fictive» telle qu'elle est étudiée chez le Lapin décortiqué ou décérébré en préparation aiguë non anesthésiée et curarisée¹ se traduit par des décharges en bouffées, se répétant spontanément à faible cadence (0,1/sec) et alternant sur les nerfs du tibial antérieur (fléchisseur, Fl) et du gastrocnémien médian (extenseur, Ex). Sur ce type de préparation, la DOPA provoque un accroissement important du nombre des décharges «spontanées» (c'est à dire apparaissant en l'absence de stimulation périphérique) essentiellement sur nerf d'Ex; l'effet est plus spécifique encore sur les décharges provoquées par stimulation sous-cutanée électrique répétitive (10/sec) de l'une ou l'autre des pattes: comparée aux témoins, l'augmentation de densité et de durée des décharges sur nerf d'Ex s'accompagne alors sous DOPA d'un raccourcissement des décharges sur nerf de Fl² (Figure 1).

Nous avons tenté de déterminer quelle était l'amino acide directement responsable de cet effet central de la DOPA. Nous avons pu exclure, à l'aide d'un inhibiteur de la DOPA-décarboxylase, une action directe du précurseur, ou une action par des substances dérivant de la DOPA par des voies métaboliques autres que celles provenant de la décarboxylation³. La DOPA administrée doit donc être décarboxylée en dopamine (DA) dans les neurones dopaminergiques et noradrénériques; la DA à son tour est transformée en noradrénaline (NA) par la DA-β-hydroxylase dans les neurones noradrénériques. Dans le présent travail, nous cherchons à savoir laquelle des deux amines, DA ou NA, est responsable des effets observés.

Des données indirectes laissaient déjà penser à une action de la DOPA par synthèse de NA plutôt que la DA. En effet, la DOPA en présence de nialamide est également active sur préparation spinale aiguë⁴. Or DAHLSTRÖM et FUXE⁵ n'ont décrit, au niveau médullaire, que des terminaisons catécholaminergiques de nature noradrénérique. Un argument plus direct est obtenu ici à l'aide d'un inhibiteur de la DA-β-hydroxylase, le diéthyldithiocarbamate (DDC) qui cause une déplétion de la NA cérébrale sans diminuer le taux de DA⁶⁻⁸.

Matériel et méthodes. Ces expériences furent réalisées sur préparation décérébrée à un niveau précolliculaire. Le DDC était administré en 2 fois, 22.00 h et 04.00 h avant le

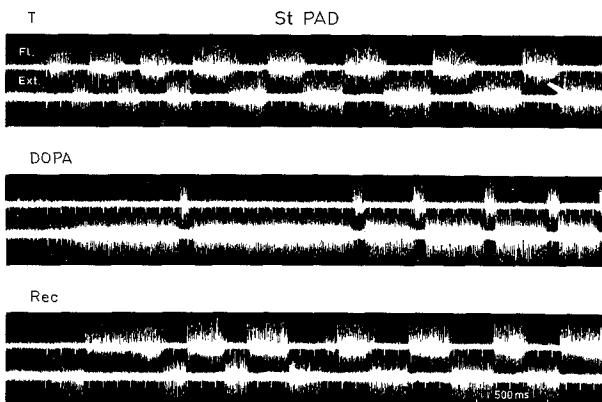


Fig. 1. Effet de l'injection de DOPA sur les activités efférentes rythmiques provoquées par stimulation sous-cutanée électrique. Enregistrement des activités des nerfs du tibial antérieur (Fl) et du gastrocnémien médian (Ext) droits. Stimulation de la patte antérieure droite (St PAD) à 10/sec (les artefacts de stimulation sont visibles sur le tracé). T, activités témoins. DOPA: 15 min après le début de l'injection i.v. de 100 mg/kg de L-DOPA. Rec. récupération presque totale 1 h.30 après injection.

début des enregistrements, chaque fois à la dose de 300 mg/kg i.p. La L-DOPA (100 mg/kg i.v.) était injectée lentement. Les activités locomotrices étaient provoquées par stimulation sous-cutanée électrique répétitive de la patte antérieure ipsilatérale (PAD) ou de la patte postérieure contralatérale (PPG) à la dérivation, ces stimulations faisant habituellement apparaître chez l'animal non traité une séquence de décharges alternées sur Fl et Ex, d'importance à peu près égale.

Résultats. Après traitement par le DDC, la stimulation électrique cutanée ne fait apparaître que des décharges sur nerf de Fl, le nerf d'Ex demeurant silencieux (Figure 2). Dans un seul cas (sur 10 animaux expérimentés) des décharges persistèrent également sur Ex. Après l'injection subséquente de DOPA nos résultats furent les suivants:

¹ G. VIALA et P. BUSER, J. Physiol., Paris 57, 287 (1965).

² D. VIALA et P. BUSER, Brain Res. 72, 437 (1969).

³ D. VIALA et P. BUSER, à paraître.

⁴ D. VIALA et P. BUSER, Brain Res. 35, 151 (1971).

⁵ A. DAHLSTRÖM et K. FUXE, Acta physiol. scand. suppl. 64, 247 (1965).

⁶ J. MUSACCHIO, I. J. KOPIN et S. SNYDER, Life Sci. 3, 769 (1964).

⁷ M. GOLDSTEIN, Pharmac. Rev. 18, 77 (1966).

⁸ A. CARLSSON, K. FUXE, T. HÖKFELT et M. LINDQVIST, J. Pharm. Pharmac. 18, 60 (1966).

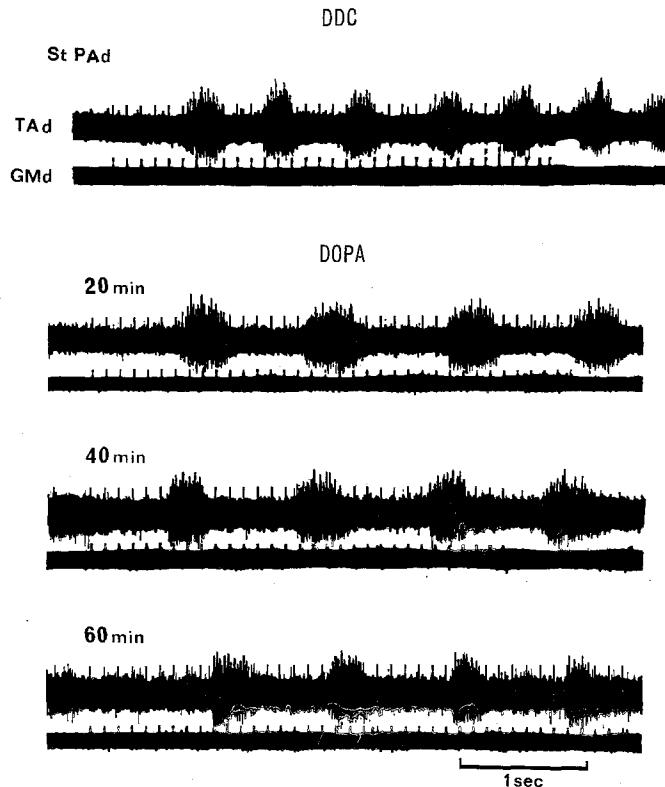


Fig. 2. Effet du traitement par le DDC sur les activités locomotrices rythmiques provoquées par stimulation sous-cutanée électrique. Enregistrement des activités sur les nerfs du tibial antérieur (TAd) et du gastrocnémien médian (GMd) droits. Stimulation de la patte antérieure droite (PAD) à 10/sec. DDC: tracés obtenus après 2 injections de 300 mg/kg i.p. de DDC. DOPA: tracés enregistrés 20, 40 et 60 min après l'administration de L-DOPA (100 mg/kg i.v.). Noter l'absence d'activité sur nerf GMd avant traitement par la DOPA et le manque d'effet de ce précurseur sur ce nerf.

dans 75% des cas, aucune modification n'a cette fois marqué les décharges provoquées par stimulation; en particulier il n'est pas apparu de décharge sur nerf d'Ex alors que ce précurseur les favorise normalement, sans traitement par le DDC. Dans les 25% restants, l'effet de la DOPA ne s'est trouvé que diminué par rapport à la normale mais non absent, de petites décharges apparaissant encore sur les Ex après injection. Dans un cas isolé enfin, des décharges importantes en amplitude se sont développées sur Ex.

Ces expériences montrent que l'inhibition de la DA- β -hydroxylase par le DDC entraîne, sur le plan locomoteur, a) la disparition des décharges rythmiques sur nerf d'Ex, b) une absence d'effet de la DOPA, qui, sans prétraitement favorise les décharges sur cette même catégorie de nerfs. L'existence d'activités locomotrices sur Ex (ou leur accroissement) paraît en conséquence liée à la biosynthèse de NA à partir du précurseur endogène ou de la DOPA exogène. Cette biosynthèse de la NA s'effectuerait au niveau des terminaisons lombo-sacrées de voies bulbo-spinales noradrénérégiques, l'effet de la DOPA étant encore présent chez le Lapin spinal aigu prétraité par le nialamide⁴.

L'effet parfois moins net du DDC, et même absent dans un cas, paraît suggérer l'existence de différences individuelles du degré d'inhibition enzymatique par le DDC.

Ces résultats sont enfin à rapprocher d'autres faisant état de la réduction d'activité motrice spontanée chez le Rat après traitement au DDC⁹. En revanche il a été signalé la persistance, avec ce même traitement, du comportement stéréotypé induit par la DOPA^{10,11}; ce compor-

tement stéréotypé, qui consiste en reniflements, léchages ou morsures continues, semble par conséquent lié à des mécanismes dopaminergiques, alors que la locomotion telle que nous l'analysons dépendrait de mécanismes noradrénérégiques.

Summary. Mesencephalic, curarized rabbits can develop 'locomotor' discharges with alternating phases of flexions and extensions in hind limb nerves. Moreover, DOPA was shown to exaggerate the extensor activity as compared to that in the flexor. It is shown here that diethyl-dithiocarbamate, a dopamine- β -hydroxylase inhibitor, suppresses discharges in extensor nerves and that a subsequent injection of DOPA is generally no more active. It is concluded that the supraspinal extensor activation in locomotion is depending upon synthesis of norepinephrine and not that of dopamine.

J. L. COIGNET, D. VIALA et P. BUSER

*Laboratoire de Neurophysiologie comparée,
Université Paris VI, 9, Quai Saint-Bernard,
F-75 Paris 5e (France), 31 août 1972.*

⁹ K. E. MOORE, Biochem. Pharmac. 18, 1627 (1969).

¹⁰ A. RANDRUP et I. MUNDVÅD, Acta Psychiatr. scand. suppl. 42, 191 (1966).

¹¹ J. SCHEEL-KRÜGER et A. RANDRUP, Acta pharmac. toxic., suppl. 25, 4, 61 (1967).

Some Characteristics of *Ochromonas* Hemolysins¹

Following the isolation of toxins from *Ochromonas* strains, HALEVY et al.², their biological characteristics were further investigated. Attempts to test the toxic effect of *Ochromonas malhamensis* toxins, using mice or rats as experimental animals, have generally been unsuccessful unless very large doses of toxins were injected. Toxins injected either i.p. or i.v. in amounts which, according to calculations from in vitro experiments, would have hemolysed most of the blood cells of the mice or rats, generally failed to kill the animals or even to produce an appreciable reduction in their erythrocyte count. It was suspected that the toxins were inactivated in the body. This possibility was further investigated in this report.

Table I. The protective effect of serum proteins and albumin against *O. malhamensis* EA fraction hemolysins

Tube No.	μg Toxin/ 5 ml RBC	μl Serum/ 5 ml RBC	Extent of hemolysis	μl Albumin/ 5 ml RBC	Extent of hemolysis
1	31	25.0	0	12.5	0
2	31	12.5	0	6.2	0
3	31	6.2	++	3.1	++
4	31	3.1	++	1.6	++
5	31	—	++	—	++
6	—	25.0	0	12.5	0

0.4% washed rat erythrocytes (RBC) were used. 0, no hemolysis; ++, complete hemolysis. Serum protein and albumin content was 67 and 70 mg/ml respectively. Erythrocytes, toxins and supplements were incubated at 37°C for 1 h. EA fraction toxin was eluted from silica gel G column with ethyl acetate.

Materials and methods. Various techniques used in this study were similar to ones reported previously². Toxins that were isolated from *O. malhamensis* ethyl acetate (EA) fraction were studied². Hemolysis was performed using rat erythrocytes suspension of 0.4%. Incubation was done at 37°C for 1 h and the result recorded³. Fish toxicity was determined with a small fish *Danio malabaricus* suspended in volume of 50 ml tap water. Experiments were repeated several times. One set of data is presented.

Source of materials. Liver was obtained from white rats, rinsed with cold saline, homogenized with equal amounts of Hanks balanced salt solution pH 7. Packed washed rat erythrocytes (RBC) were diluted with equal volume of Hanks. Rat serum was diluted with equal amount of Hanks. Albumin prepared at concentration of 70 mg/ml and diluted with equal amounts of Hanks (Table II).

Incubation and extraction. Into a series of test tubes in duplicate were added 2 ml suspension of each tissue or albumin, 500 μg of *O. malhamensis* EA toxic fraction mixed and incubated with shaking at 37°C for 60 min. Incubation of toxin in 2 ml Hanks served as a control. At the end of the incubation period to each test tube were added 9 volumes of methanol and the toxin was extracted with shaking at room temperature for 1 h. At the end of the extraction the suspension was filtered, brought to volume, an aliquot was evaporated under reduced pressure and

¹ This research has been financed in part by Grant No. FG-IS-176 made by the United States Department of Agriculture under P.L. 480.

² S. HALEVY, R. SALITERNIK and L. AVIVI, Int. J. Biochem. 2, 185 (1971).

³ J. YARIV and S. HESTRIN, J. gen. Microbiol. 24, 165 (1961).