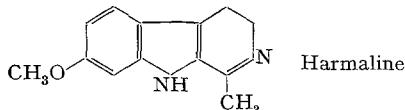


Pénétration intracérébrale de l'harmaline

L'harmaline, alcaloïde présent avec l'harmine dans les graines de *Peganum harmala*¹, est un inhibiteur réversible des monoamine oxydases (MAO) à courte durée d'action². Elle peut déclencher ou aggraver un tremblement de type parkinsonien³⁻⁸ et l'on considère généralement qu'elle a, comme l'harmine, des propriétés psychosomimétiques^{9, 10}. Ses actions pharmacologiques impliquent que l'harmaline puisse franchir la barrière hématoencéphalique (BHE).

Une propriété remarquable de l'harmaline consiste en la possibilité de la détecter dans les tissus par microscopie de fluorescence. En effet, elle appartient au groupe des β -carbolines, bases dont le noyau pyridine est partiellement déshydrogéné et montre une forte fluorescence en lumière UV¹¹.



Nous avons utilisé cette propriété pour rechercher s'il est possible de démontrer histochimiquement une fixation élective d'harmaline au niveau de certains neurones centraux. Par ailleurs, nous avons tenté d'apporter de

nouvelles données concernant la pénétration de l'harmaline dans le cerveau après administration i.p. ou après injection dans le liquide céphalorachidien par voie intraventriculaire.

Matériel et méthodes. Une cinquantaine de rats Wistar ont été utilisés pour ce travail. Certains animaux reçoivent

¹ J. A. GUNN, Trans. R. Soc. Edinburgh 48, 83 (1913).

² S. UDENFRIED, B. WITKOP, B. G. REDFIELD et H. WEISSBACH, Biochem. Pharmac. 7, 160 (1958).

³ L. J. POIRIER, T. L. SOURKES, G. BOUVIER, R. BOUCHER et S. CARABIN, Brain 89, 37 (1966).

⁴ J. S. KIM, R. HASSSLER, M. KUROKAWA et I. J. BAK, Expl. Neurol. 29, 189 (1970).

⁵ J. A. FUENTES et V. G. LONGO, Neuropharmacology 10, 15 (1971).

⁶ Y. LAMARRE, C. DE MONTIGNY, M. DUMONT et M. M. WEISS, Brain Res. 32, 246 (1971).

⁷ Y. LAMARRE et L. A. MERCIER, Rev. can. Biol. 31, Suppl. printemps, 181 (1972).

⁸ C. DE MONTIGNY et Y. LAMARRE, Brain Res. 53, 81 (1973).

⁹ D. F. DOWNING, Q. Rev. Psychiat. Neurol. 16, 133 (1962).

¹⁰ H. H. PENNES et P. H. HOCH, Am. J. Psychiat. 113, 887 (1957).

¹¹ R. H. F. MANSKE, dans *The Alkaloids: The Carboline Alkaloids* (Ed. R. H. F. MANSKE; Academic Press, New-York and London 1965), vol. 8, p. 47.

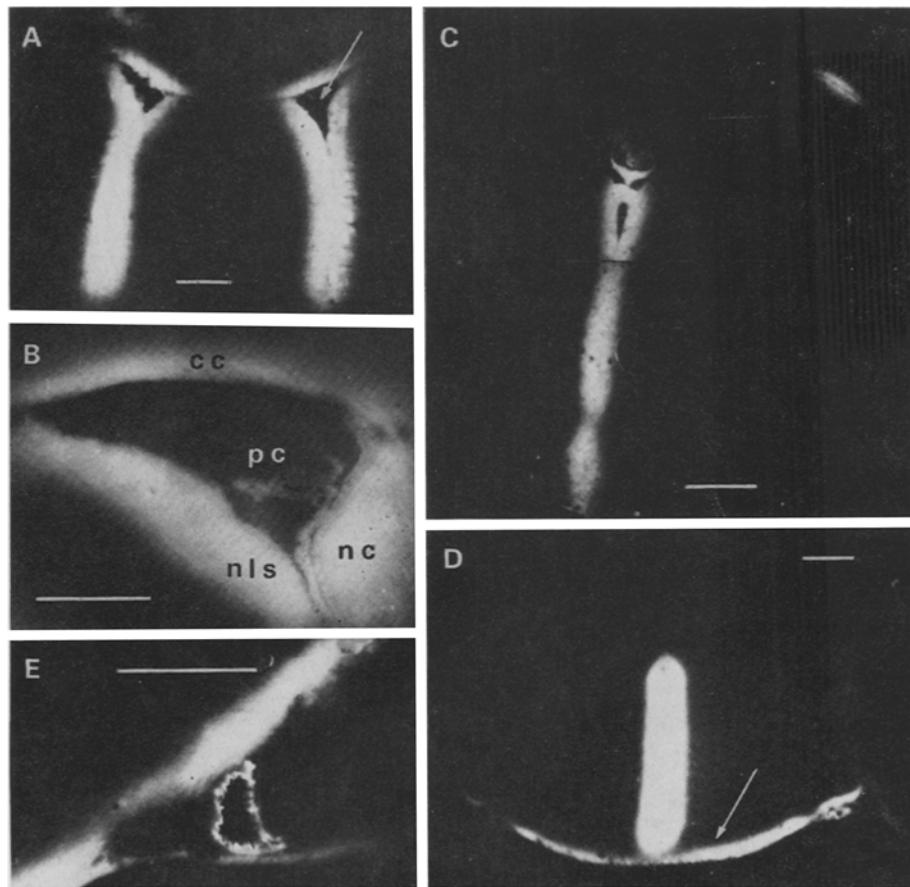


Fig. 1. Distribution cérébrale de l'harmaline après injection intraventriculaire (50 µg/10 µl). Microscopie de fluorescence. Fond noir. Chaque trait représente 500 µm. A) et B) Niveau des ventricules latéraux A) Le ventricule droit où s'est effectuée l'injection est légèrement distendu (flèche). B) A grossissement moyen, on observe la faible pénétration de l'harmaline dans la substance blanche (corpus callosum (cc) et les différences de pénétration entre diverses structures de substance grise, nucleus lateralis septi (nls) et nucleus caudatus (cd); le plexus choroïde (pc) est peu fluorescent. C) Niveau de l'habenula et du 3ème ventricule. D) Niveau de l'éminence médiane; remarquer la fluorescence intense du plancher de l'hypothalamus (flèche). E) détail d'une artère cérébrale fortement fluorescente dans l'espace sous-arachnoïdien ventral; diffusion de l'harmaline dans le parenchyme cérébral sous-jacent.

Diffusion de l'harmaline dans la substantia grisea periventricularis à partir de l'aqueductus cerebri

| Temps après injection (min) | Doses injectées (μ g) | Nombre de coupes | Moyenne des mesures | |
|--------------------------------|-------------------------------|------------------|---------------------|--------------------|
| | | | Dorsal (μ m) | Latéral (μ m) |
| 5 | 10 | 30 | 190 \pm 10 | 200 \pm 10 |
| | 50 | 16 | 305 \pm 10 | 300 \pm 10 |
| | 100 | 13 | 315 \pm 10 | 330 \pm 10 |
| | 200 | 16 | 365 \pm 10 | 390 \pm 20 |
| 30 | 10 | 19 | 280 \pm 20 | 275 \pm 20 |
| | 50 | 24 | 330 \pm 20 | 375 \pm 20 |
| | 100 | 17 | 440 \pm 10 | 480 \pm 10 |
| | 200 | 17 | 540 \pm 10 | 560 \pm 10 |
| 60 | 10 | 10 | 270 \pm 10 | 260 \pm 10 |
| | 50 | 22 | 430 \pm 20 | 440 \pm 30 |
| | 100 | 10 | 500 \pm 10 | 500 \pm 10 |
| | 200 | 13 | 670 \pm 10 | 650 \pm 20 |
| 120 | 10 | 20 | 0 | 0 |
| | 50 | 10 | 375 \pm 20 | 330 \pm 30 |
| | 100 | 10 | 400 \pm 20 | 400 \pm 20 |
| | 200 | 11 | 470 \pm 10 | 440 \pm 10 |

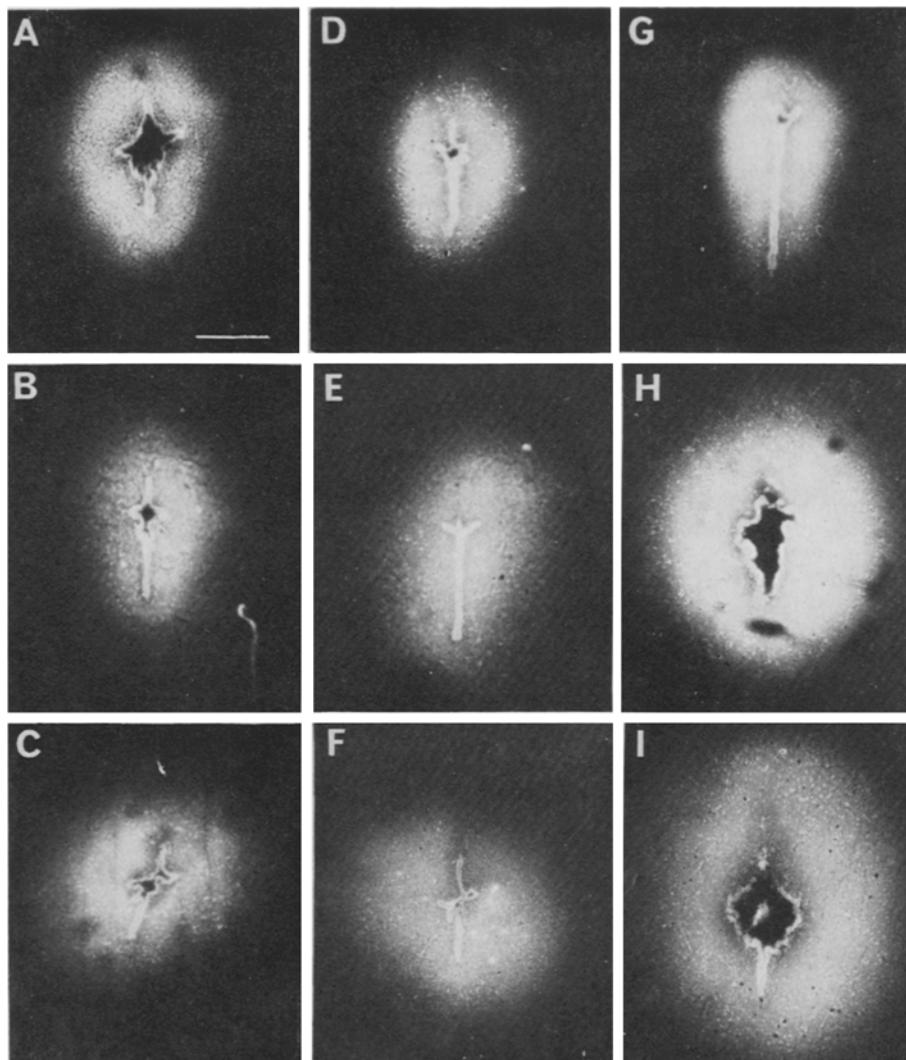


Fig. 2. Diffusion de l'harmaline dans le cerveau du Rat après administration intraventriculaire. Volume de chaque injection: 10 μ l. Trait horizontal: 500 μ m. A à C) Injection de 50 μ g d'harmaline. Animaux sacrifiés 5 min (A), 30 min (B), et 1 h. (C) après. D à F) Injection de 100 μ g d'harmaline. Animaux sacrifiés 5 min (D), 30 min (E) et 1 h. (F) après. G à I) Injection de 200 μ g d'harmaline. Animaux sacrifiés 5 min (G), 30 min (H) et 1 h (I) après.

vent une injection i.p. de chlorhydrate d'harmaline (Fluka) de 10 à 50 mg/kg. Ils sont tués par décapitation à des temps variant entre 15 min et 3 h après administration de la drogue. D'autres animaux, placés dans un appareil stéréotaxique, reçoivent dans le ventricule latéral droit une injection de 10 µl d'une solution physiologique contenant de 10 à 200 µg d'harmaline. Les rats sont sacrifiés 5, 30, 60 et 120 min après l'injection. Les coupes, d'une épaisseur de 16 µm sont réalisées dans un cryostat. Après séchage, elles sont montées dans de l'huile à immersion non fluorescente et observées directement au microscope à fluorescence avec un condensateur à fond noir Leitz D = 0,80. Sous l'éclairage utilisé (lampe HBO 200, filtre d'excitation BG 12 de 3 mm et filtre d'arrêt K 530), la fluorescence est de couleur vert jaune et relativement fugace.

Après injection intraventriculaire, la mesure de la diffusion de l'harmaline a été effectuée dans la substantia nigra periventricularis (SGP), au niveau du noyau interpedunculaire (NIP), latéralement et dorsalement comme nous l'avons antérieurement précisé dans l'étude de la diffusion d'autres substances¹².

Résultats. a) Après administration i.p.. La pénétration de l'harmaline dans le parenchyme cérébral est très rapide puisque, 5 min après injection i.p. de 50 mg/kg, le parenchyme cérébral du Rat présente une fluorescence moyenne et diffuse. Avec les doses d'harmaline utilisées, on constate un tremblement généralisé ainsi qu'une piloérection débutant 10 min après l'injection et durant 2 h, l'animal restant arc-bouté sur ses pattes postérieures, ce qui rappelle les observations faites chez la Souris par AHMED et TAYLOR¹³. La fluorescence du parenchyme cérébral paraît proportionnelle à la quantité d'harmaline injectée. Nous n'avons pu observer une fluorescence élective de certains neurones cérébraux; de même, il ne paraît pas exister une corrélation entre la concentration locale d'harmaline et celle des MAO.

b) Après administration intraventriculaire. Les résultats obtenus par la microscopie de fluorescence établissent que les structures périventriculaires sont fortement imprégnées d'harmaline (Figure 1A). La substance blanche montre toutefois une fluorescence plus limitée en profondeur que la substance grise du cerveau (Figure 1B). L'aire de localisation de l'harmaline borde continuellement le système ventriculaire (Figure 1A, B et C). Par ailleurs, lorsque le volume de l'injection est égal ou supérieur à 10 µl, la partie ventrale de l'hypothalamus et du tronc cérébral est fluorescente (Figure 1D); les artères cérébrales ventrales présentent également une fluorescence intense (Figure 1E).

Nous avons de plus observé qu'au niveau de la SGP et pour de basses concentrations l'aire de diffusion présente une fluorescence faible et limitée: pour 10 µg elle est d'environ 190 µm en 5 min et se stabilise à 280 µm à partir de 30 min (Tableau); il devient en outre impossible de la discerner 2 h après l'injection (Tableau). Pour de plus fortes concentrations (100 µg et 200 µg), l'aire de diffusion augmente progressivement jusqu'à 1 h après l'injection et diminue par la suite (Figure 2F et I). La diffusion maxima (650 µm) est atteinte 1 h après l'injection de 200 µg d'harmaline (Figure 2, I).

Discussion. Après administration d'harmaline par voie i.p., nous n'avons pu mettre en évidence une localisation préférentielle de la drogue dans le cerveau. Ce résultat est en accord avec celui de BARTONIČEK¹⁴ qui, par des observations microscopiques et spectrofluorométriques, montre que la pénétration de l'harmaline dans le parenchyme cérébral est diffuse, «aucune structure n'étant préférée par la drogue». Il est probable que certaines cellules cérébrales constituant le système olivo-cérébelleux sont particulièrement sensibles à l'action de l'harmaline¹⁵ bien qu'elles ne présentent pas de rétention sélective de la drogue. Il est bien connu à présent que l'administration d'une drogue dans le système ventriculaire entraîne une imprégnation périventriculaire du parenchyme cérébral. Cette zone de saturation passe sans transition (à une profondeur variable suivant les drogues, les conditions expérimentales et les régions du cerveau) à des zones où la concentration de la drogue est certainement très faible. Cette localisation périventriculaire s'observe dans le cas des substances qui ne franchissent pas la BHE et l'administration intraventriculaire constitue une bonne méthode pour «court-circuiter» cette barrière: c'est le cas par exemple de la peroxydase du Raifort¹² ou de la tryptamine¹⁶. Il est surprenant de constater d'autre part que la diffusion de l'harmaline, substance de faible poids moléculaire (290) franchissant la BHE, est comparable à celle que nous avons décrite dans le cas de la peroxydase du Raifort, substance de poids moléculaire (40,000). Il est possible qu'une faible proportion d'harmaline, indécelable en microscopie de fluorescence, aille au-delà des aires périventriculaires et atteigne les zones profondes du cerveau.

Dans les conditions expérimentales nous avons en outre pu observer une imprégnation par l'harmaline du parenchyme cérébral ventral à une profondeur moindre que celle existant autour de l'épendyme. Ceci paraît devoir être expliqué par une diffusion de l'harmaline à partir de l'infundibulum vers l'espace sous-arachnoïdien ventral, comme l'un de nous l'a montré précédemment¹⁷.

Summary. Intracerebral diffusion of a reversible monoamine oxidase inhibitor, harmaline, has been studied in the rat by fluorescence microscopy after i.p. and intraventricular injections. In both cases, any specific uptake of harmaline into the neurons cannot be specified. Nevertheless, in the second case harmaline never seems to reach structures distant by more than 650 µm from the ventricular ependyma. Moreover, some observations tend to support the hypothesis that there is a diffusion of the drug from infundibulum to the subarachnoid space.

G. LASCAR et C. BOUCHAUD¹⁸

*Laboratoire de Cytologie et
Laboratoire de Biologie Animale,
Université Paris VI,
12, rue Cuvier,
F-75005 Paris (France),
2 novembre 1973.*

¹² G. LASCAR et C. BOUCHAUD, Arch. Anat. microsc. Morph. exp. 67, 339 (1972).

¹³ A. AHMED et N. R. W. TAYLOR, Br. J. Pharmac. 14, 350 (1959).

¹⁴ V. J. BARTONIČEK, Pharmacology 5, 36 (1971).

¹⁵ R. LLINAS et R. A. VOLKIND, Expl. Brain Res. 18, 69 (1973).

¹⁶ C. BOUCHAUD, C. r. Acad. Sci., Paris 270, 108 (1970).

¹⁷ C. BOUCHAUD, A. M. BERROU et J. PEYRICHOUX, Bull. Ass. anat. 151, 252 (1971).

¹⁸ Ce travail a été effectué dans le cadre de la convention D.R.M.E. No. 73/467.