

Synthèse de monoamines par des neurones non-monoaminergiques. Illusion ou réalité ?

Mikhail V. Ugrumov

Institut de Biologie du Développement, Académie Russe des Sciences et Institut de Physiologie Normale, Académie Russe des Sciences Médicales, 26 rue Vavilov, 117808 Moscou, Russie

Auteur correspondant : Mikhail V. Ugrumov, michael.ugrumov@mail.ru

Reçu le 12 janvier 2009

Résumé – Outre les neurones monoaminergiques qui possèdent l'ensemble complet des enzymes de biosynthèse des monoamines (MA), certains neurones, pour la plupart peptidergiques, expriment seulement une des enzymes de cette synthèse. Ils sont largement distribués dans le cerveau et sont particulièrement nombreux au cours du développement et, à l'âge adulte, dans certaines situations physiologiques. La plupart des neurones monoenzymatiques possèdent une des enzymes de biosynthèse de la dopamine, la tyrosine-hydroxylase (TH) ou la décarboxylase des acides aminés aromatiques (AADC). La TH et l'AADC sont enzymatiquement actives dans un grand nombre de ces neurones où elles sont capables respectivement de transformer la tyrosine en DOPA et la DOPA en dopamine (ou le 5-hydroxy-tryptophane en sérotonine). D'après nos résultats, la L-DOPA synthétisée dans les neurones monoenzymatiques à TH est libérée puis captée par les neurones monoenzymatiques à AADC où elle est décarboxylée en dopamine. De plus, la L-DOPA captée par les neurones dopaminergiques et sérotoninergiques est susceptible d'augmenter la synthèse de dopamine dans les premiers et de l'initier dans les autres. La synthèse coopérative de MA est probablement un mécanisme compensatoire en cas de déficience en neurones dopaminergiques comme dans des maladies neurodégénératives telles l'hyperprolactinémie ou le Parkinson qui sont dus respectivement à une dégénérescence des neurones dopaminergiques du système tubéro-infundibulaire et du système nigro-strié. Il est à noter que l'augmentation de la sécrétion de prolactine induite par une neurotoxine des neurones dopaminergiques disparaît avec le temps, grâce à la stimulation d'une néosynthèse de dopamine par les neurones tubéro-infundibulaires, probablement monoenzymatiques. Le même mécanisme compensatoire pourrait être mis en œuvre par suite de la déficience en neurones dopaminergiques nigro-striés comme le montre l'augmentation du nombre de neurones monoenzymatiques dans le striatum de patients parkinsoniens ou bien d'animaux où la maladie a été provoquée par une neurotoxine. L'expression des enzymes de la synthèse des MA dans les neurones non-monoaminergiques est contrôlée par des signaux intercellulaires tels que les catécholamines et autres neurotransmetteurs classiques. Ainsi, un nombre substantiel de neurones du cerveau expriment partiellement le phénotype monoaminergique, sous la forme de seulement certaines enzymes complémentaires dans la synthèse des MA, permettant ainsi la production coopérative de monoamines et constituant un mécanisme compensatoire d'une déficience en neurones monoaminergiques.

Mots clés : Cerveau / dopamine / tyrosine hydroxylase / décarboxylase des amino-acides aromatiques / maladie de Parkinson

Abstract – Synthesis of monoamines by non-monoaminergic neurons: illusion or reality?

In contrast to monoaminergic (MA-ergic) neurons possessing the whole set of the enzymes for MA synthesis from the precursor amino-acid, some, mostly peptidergic,

neurons co-express only one of the enzymes of monoamine synthesis. They are widely distributed in the brain, being particularly numerous in ontogenesis and, in adulthood, under certain physiological conditions. Most monoenzymatic neurons possess one of the enzymes for dopamine (DA) synthesis, tyrosine hydroxylase (TH) or aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC). TH and AADC are enzymatically active in a substantial number of monoenzymatic neurons, where they are capable of converting L-tyrosine to L-3,4-dihydroxy-phenylalanine (L-DOPA) and L-DOPA to dopamine (DA) (or 5-hydroxy-tryptophan, 5-HTP to serotonin), respectively. According to our data L-DOPA synthesized in monoenzymatic TH-neurons is released and taken up by monoenzymatic AADC-neurons for DA synthesis. Moreover, L-DOPA captured by dopaminergic neurons and serotonergic neurons serves to stimulate dopamine synthesis in the former and to start DA synthesis in the latter. Cooperative synthesis of MAs is considered as a compensatory reaction under a failure of MA-ergic neurons, e.g. in neurodegenerative diseases like hyperprolactinemia and Parkinson's disease, which are developed primarily because of degeneration of DA-ergic neurons of the tuberoinfundibular system and the nigrostriatal system, respectively. Noteworthy, the neurotoxin-induced increase of prolactin secretion returns with time to a normal level due to the stimulation of DA synthesis by the tuberoinfundibular most probably monoenzymatic neurons. The same compensatory mechanism is supposed to be used under the failure of the nigrostriatal DA-ergic system that is manifested by an increased number of monoenzymatic neurons in the striatum of animals with neurotoxin-induced parkinsonism and in humans with Parkinson's disease. Expression of the enzymes of MA synthesis in non-monoaminergic neurons is controlled by intercellular signals such as classical neurotransmitters (catecholamines), etc. Thus, a substantial number of brain neurons express partly the monoaminergic phenotype, namely individual complementary enzymes of MA synthesis, serving to produce MAs in cooperation, which is considered as a compensatory reaction under the failure of MA-ergic neurons.

Key words: Brain / dopamine / tyrosine hydroxylase / aromatic L-amino acid decarboxylase / Parkinson's disease

Le cerveau est un des organes-clés qui contribue à la régulation de la plupart des fonctions physiologiques et à la maintenance de l'homéostasie dans tout l'organisme. Dans le cerveau, les neurones échangent l'information par des signaux chimiques (neurotransmetteurs) principalement au niveau des synapses (Squire *et al.*, 2003). Les signaux chimiques les plus importants et les plus largement distribués sont représentés par les neuropeptides et par ce qu'on appelle les neurotransmetteurs classiques qui incluent les monoamines. Neuropeptides et monoamines diffèrent principalement dans leur structure, leurs mécanismes de synthèse et leur stockage intracellulaire. Les neuropeptides sont synthétisés dans le corps cellulaire sur les ribosomes et dans le complexe de Golgi qui donne naissance aux granules sécrétoires. Ensuite les granules sont transportés dans les prolongements neuronaux, principalement vers les terminaisons axonales où ils seront libérés par exocytose. Par contre, les monoamines (catécholamines et sérotonine) sont des dérivés d'un aminoacide unique. Elles sont synthétisées dans le cytosol à la fois dans les corps cellulaires et dans les prolongements par des systèmes enzymatiques à plusieurs étapes. Ensuite la sérotonine et les catécholamines sont capturées à partir du cytoplasme dans des

vésicules souvent à cœur dense grâce au transporteur vésiculaire des monoamines de type II qui est utilisé à la fois par la sérotonine et les catécholamines (Fig. 1) (Hoffman *et al.*, 1988; Squire *et al.*, 2003).

Les systèmes monoaminergiques sont distribués à travers l'ensemble du cerveau où ils contrôlent un large spectre de fonctions. Deux systèmes dopaminergiques cérébraux ont été particulièrement étudiés (Fig. 2). Le premier est le système nigro-strié qui contribue à la régulation de comportements moteurs. La dégénérescence des neurones dopaminergiques du système nigro-strié provoque la maladie de Parkinson (Agid, 1991). Le système tubéro-infundibulaire est composé des neurones dopaminergiques du noyau arqué (NA) de l'hypothalamus et il contribue au contrôle inhibiteur de la sécrétion adénohypophysaire de prolactine (McCann *et al.*, 1984). La dégénérescence de ces cellules provoque le développement d'un syndrome d'hyperprolactinémie (Fig. 2).

Les concepts traditionnels sur la neurotransmission ont été principalement modifiés au cours des vingt dernières années par de nouvelles découvertes. En effet des neurones pris individuellement ont été montrés capables de synthétiser simultanément

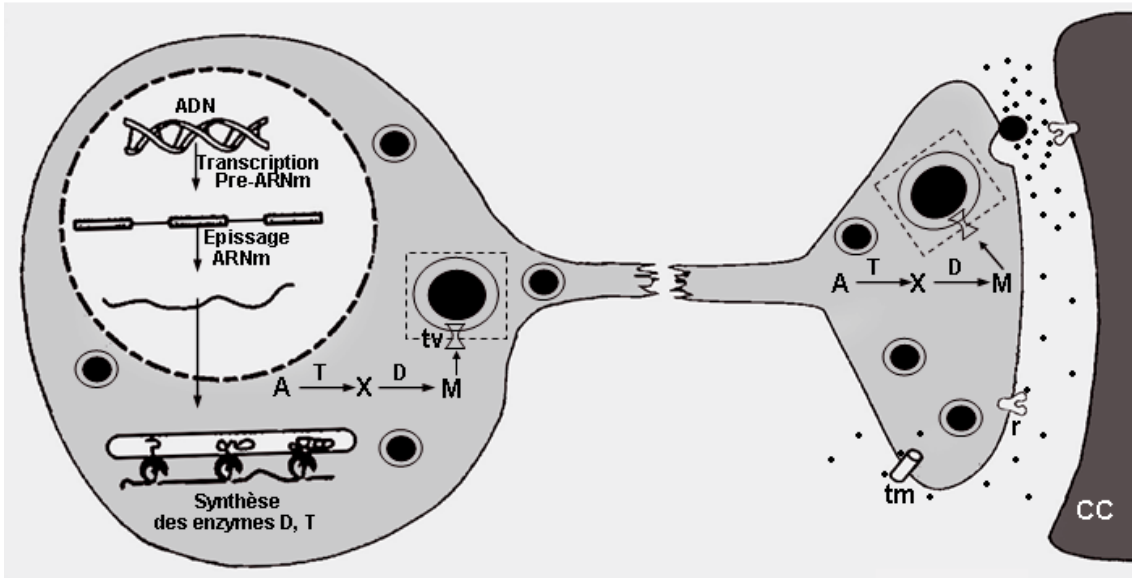


Fig. 1. Représentation schématique du fonctionnement des neurones dopaminergiques et sérotoninergiques. A : amino-acide précurseur, L-tyrosine ou L-tryptophane; D : décarboxylase des amino-acides aromatiques; M : monoamine, dopamine ou sérotonine; T : tyrosine-hydroxylase ou tryptophane-hydroxylase; CC : cellule cible; X : métabolite intermédiaire de la biosynthèse, L-3,4- dihydroxy-phénylalanine, L-DOPA ou 5-hydroxy-tryptophane, 5-HTP ; tv : transporteur vésiculaire des monoamines de type II; tm :transporteur membranaire de la dopamine ou de la sérotonine; r : récepteurs de la dopamine ou de la sérotonine. Encart : agrandissement d'une vésicule sécrétoire.

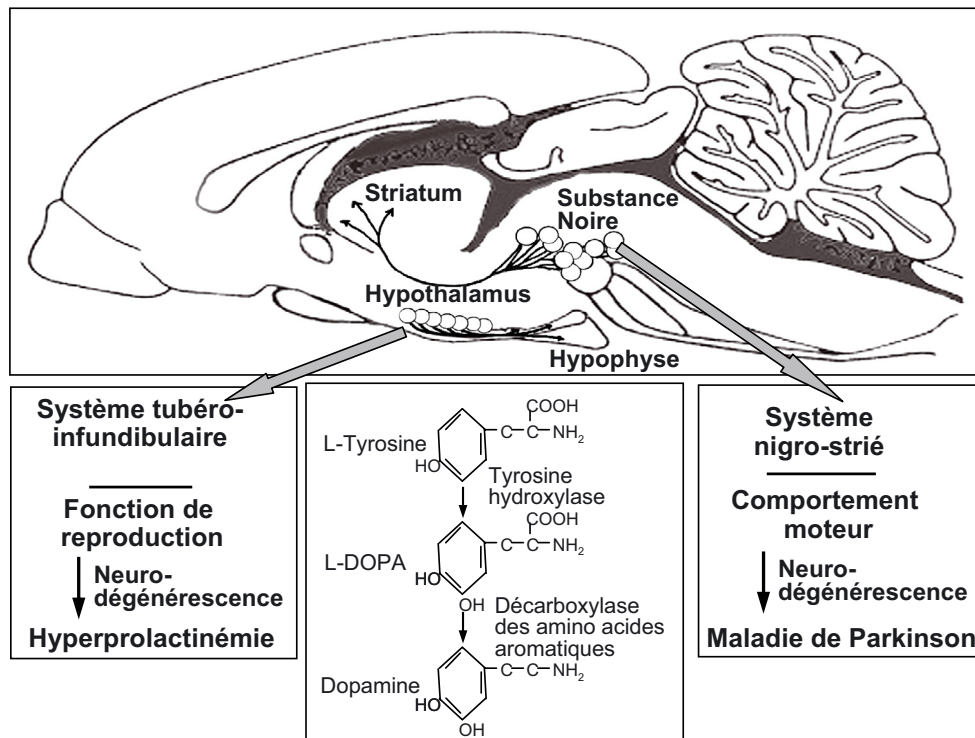


Fig. 2. Représentation schématique des systèmes dopaminergiques tubéro-infundibulaire et nigro-strié et de leur fonction normale et pathologique.

plusieurs neurotransmetteurs (Gamrani *et al.*, 1984; Hökfelt *et al.*, 1986; Zupanc, 1996) et non un seul selon le « principe de Dale » ou plutôt selon son interprétation la plus courante mais sans doute inexacte (Dale, 1935; Eccles, 1986). Bien plus, le phénotype chimique des neurones est apparu moins stable qu'il était imaginé auparavant. En réalité il a été démontré que l'expression génique des neuropeptides et des enzymes de synthèse des neurotransmetteurs classiques (monoamines, acétylcholine, etc.) est régulée par les signaux intercellulaires (Calas *et al.*, 1994; Ugrumov, 1997). En d'autres termes, les synthèses spécifiques au neurone peuvent varier par suite de la modification de son environnement. Enfin, outre les neurones monoaminergiques et peptidergiques, d'autres, de phénotype intermédiaire, ont été mis en évidence (Meister *et al.*, 1988; Ugrumov, 2008). Ces neurones, appelés monoenzymatiques, n'expriment que certaines enzymes de la chaîne de synthèse des monoamines ainsi que, généralement, des neuropeptides (Ugrumov, 2008).

De tels neurones monoenzymatiques ont été décrits dans de nombreuses régions cérébrales, notamment celles qui étaient traditionnellement considérées comme de véritables centres monoaminergiques (Meister *et al.*, 1988; Ugrumov, 2008). L'une d'entre elles est constitué par le NA de l'hypothalamus qui était classiquement décrit comme contenant de nombreux neurones dopaminergiques où la dopamine était synthétisée par un processus enzymatique à deux étapes (Fig. 2). D'abord, la L-tyrosine, l'acide aminé précurseur, est transformé en L-DOPA par la tyrosine hydroxylase (TH), la première enzyme limitante, puis la L-DOPA est convertie en dopamine par la décarboxylase des L acides aminés aromatiques (AADC). De façon surprenante, des neurones exprimant seulement certaines enzymes de la synthèse de dopamine ont été détectés dans le NA en plus des neurones dopaminergiques bienzymatiques. Pendant longtemps, toutes les tentatives en vue d'affecter une signification fonctionnelle aux neurones monoenzymatiques est restée sans succès et le problème semblait même être tombé dans l'oubli (Meister *et al.*, 1988; Ugrumov, 2008).

Ces difficultés s'expliquent probablement par la complexité de l'organisation du NA chez l'adulte, notamment l'hétérogénéité du phénotype chimique de ses neurones et sa signification fonctionnelle. Par conséquent un modèle simplifié, le NA en développement au cours de l'ontogenèse, a été utilisé dans notre travail. Un grand nombre des neurones exprimant des enzymes de la synthèse de dopamine ont été détectés sur coupe par un immunomarquage unique de la TH ou de l'AADC dans le NA de fœtus de rats à la fin de la vie intra-utérine (Balan *et al.*, 2000). Tous ces neurones étaient classiquement

considérés comme dopaminergiques (Daikoku *et al.*, 1986; Ugrumov *et al.*, 1989). Or, de façon surprenante, il n'y avait pratiquement aucun recouvrement des neurones TH immunoréactifs et AADC immunoréactifs dans le NA en développement (Fig. 3a, b). Bien plus, la reconstitution tridimensionnelle de leur distribution sur des coupes sériées adjacentes du NA a montré que plus de 49 % des neurones contiennent seulement TH et le même nombre seulement AADC tandis que moins de 1 % des neurones présentent les deux enzymes, ce qui indique leur nature probablement dopaminergique (Balan *et al.*, 2000). Ces résultats ont été finalement confirmés par un double marquage en immunofluorescence de la TH et de l'AADC sur des coupes sériées du NA fœtal (Figs. 3c, 4). Ainsi, nous avons mis en évidence un modèle d'une population pratiquement pure de neurones mono-enzymatiques permettant l'étude de leurs propriétés et de leur signification fonctionnelle (Ershov *et al.*, 2002a).

La première question qui devait être résolue était de savoir si les neurones mono-enzymatiques sont impliqués dans la synthèse de dopamine. Or, malgré l'opinion générale suivant laquelle la dopamine est synthétisée dans le cerveau, exclusivement par les neurones dopaminergiques, une grande quantité de dopamine a été mise en évidence dans le NA fœtal prélevé après dissection (Fig. 5) alors que, nous l'avons vu, il contient un grand nombre de neurones mono-enzymatiques et pratiquement pas de bienzymatiques dopaminergiques (Melnikova *et al.*, 1999).

La seule limitation de ce modèle était la présence de fibres dopaminergiques issues de neurones situés en dehors du NA. De fait, la dopamine mesurée dans le NA disséqué représentait non seulement celle des corps cellulaires neuronaux (mono- et bienzymatiques) mais également celle des fibres dopaminergiques véritables. Afin de les exclure de notre analyse, nous avons utilisé également des cultures primaires de NA de fœtus de rats. Les résultats obtenus en culture cellulaire ont parfaitement confirmé ceux obtenus *ex vivo* : on mesure un niveau élevé de dopamine en culture et cette fois en l'absence de fibres dopaminergiques provenant de l'extérieur du NA (Fig. 5) (Melnikova *et al.*, 1999).

Il est particulièrement intéressant que les NAs, *ex vivo* comme *in vitro*, contiennent un niveau élevé de L-DOPA, le produit intermédiaire dans la chaîne de synthèse de la dopamine (Melnikova *et al.*, 1999). De fait, seulement des traces de L-DOPA sont décelables dans les neurones véritablement dopaminergiques car l'activité de l'AADC est largement supérieure à celle de la TH. Ces données suggèrent que la L-DOPA mesurée dans le NA est synthétisée dans les neurones mono-enzymatiques à TH comme un produit final. Le même modèle de NA fœtal a été utilisé afin d'obtenir des données préliminaires sur les mécanismes de stockage et de libération de la dopamine par

les neurones mono-enzymatiques. De fait il a été démontré *in vivo* et *in vitro* que la libération de dopamine par des neurones mono-enzymatiques comme par les neurones dopaminergiques est stimulée par la dépolarisation membranaire, suggérant son exocytose (Fig. 5) (Melnikova *et al.*, 1999).

Les données morphologiques et biochimiques obtenues sur le NA fœtal *ex vivo* et *in vitro* nous conduisent à émettre l'hypothèse que la dopamine peut être synthétisée en coopération par des neurones non-dopaminergiques exprimant une des enzymes complémentaires de sa biosynthèse (Ugrumov *et al.*, 2002; Ugrumov, 2008). Cela signifie que la L-DOPA produite dans les neurones mono-enzymatiques à TH est libérée puis capturée par les neurones mono-enzymatiques AADC pour sa conversion finale en dopamine. Cette conclusion devait encore être étayée car, nous l'avons vu, outre les nombreux neurones mono-enzymatiques, le NA contient quelques neurones dopaminergiques dont nous ne connaissons pas la contribution à la synthèse globale de dopamine dans cette région.

Théoriquement, la participation des neurones dopaminergiques à la synthèse de dopamine dans le NA pourrait être éliminée si les neurones dopaminergiques ont été au préalable détruits par une neurotoxine spécifique comme la 6-hydroxy-dopamine qui est « capturée » par le transporteur membranaire de la dopamine. Cependant la 6-hydroxy-dopamine ne provoque la dégénérescence que de 50 % des neurones dopaminergiques dans le NA adulte (Ershov *et al.*, 2005). Par conséquent un autre modèle expérimental, des suspensions cellulaires de NA fœtal en incubation statique ou en périfusion, a été utilisé. Nous voulions ainsi tester notre hypothèse d'une synthèse en coopération de la dopamine où la L-DOPA produite dans les neurones mono-enzymatiques à TH serait libérée puis capturée par les neurones mono-enzymatiques AADC pour sa conversion en dopamine (Fig. 6) (Ugrumov *et al.*, 2004).

Nous avons donc essayé d'éliminer ou au moins de diminuer le transport possible de L-DOPA, des neurones à TH aux neurones AADC, en utilisant un grand excès d'acide aminé neutre qui entre en compétition avec la L-DOPA pour son transporteur membranaire dans toutes les cellules et notamment les neurones mono-enzymatiques AADC (Fig. 6). Une suspension cellulaire de Substance Noire fœtale contenant des neurones dopaminergiques mais pratiquement dépourvue de neurones mono-enzymatiques a servi de témoin (Ugrumov *et al.*, 2004). La quantité totale de dopamine dans le milieu d'incubation et dans les extraits cellulaires à la fin de l'incubation a été considérée comme un index du taux de synthèse de la dopamine. Comme attendu, l'utilisation de L-tyrosine en compétition avec la L-DOPA pour le transporteur

membranaire a conduit à une chute dans la synthèse de dopamine par la suspension de NA (Fig. 6). Au contraire, la synthèse de dopamine était multipliée par deux dans les suspensions cellulaires de Substance Noire en raison apparemment d'une stimulation par le substrat de la synthèse de dopamine dans les « vrais » neurones dopaminergiques (Fig. 6). L'ensemble de ces résultats montre définitivement que les neurones mono-enzymatiques de NA fœtal synthétisent la dopamine par coopération interneuronale (Ugrumov *et al.*, 2004).

L'étape suivante de notre travail nous a permis de montrer que la dopamine est synthétisée dans le NA par des neurones mono-enzymatiques, non seulement chez le fœtus mais aussi chez l'adulte. De fait, il a été démontré que le NA contient, chez les rats adultes comme chez les fœtus, de nombreux neurones mono-enzymatiques et que leur proportion, qui décroît de façon continue pendant la période postnatale, se stabilise ensuite à un niveau de 70 % (Fig. 4). Il faut noter que les neurones mono-enzymatiques à TH et AADC sont fréquemment observés en étroites relations topographiques : appositions axo-axonales au niveau des terminaisons de l'éminence médiane et contacts axo-somatiques ou axo-dendritiques dans le NA (Fig. 3 E-G) (Ershov *et al.*, 2002b). Ces contacts peuvent constituer un support morphologique au transfert de la L-DOPA des neurones mono-enzymatiques à TH aux neurones AADC.

En vue d'obtenir une preuve directe de la synthèse de dopamine par des neurones mono-enzymatiques chez l'adulte comme chez le fœtus, nous avons mis en œuvre sensiblement le même paradigme expérimental. Cependant, au lieu de suspensions cellulaires, ce sont des tranches (300 micromètres d'épaisseur) de NA qui ont été soumises à incubation, ce qui permet de maintenir, dans une certaine mesure, des relations interneuronales normales. En outre, pour l'inhibition de la capture de L-DOPA par les neurones mono-enzymatiques AADC, la leucine a été utilisée au lieu de tyrosine car elle n'est pas impliquée dans le métabolisme de la dopamine. Des tranches de Substance Noire, présentant de nombreux neurones dopaminergiques, ont servi de témoins. Les résultats de cette étude ont été strictement conformes à notre hypothèse quant à une synthèse coopérative de dopamine par des neurones mono-enzymatiques : la synthèse de dopamine diminue dans les tranches de NA et ne change pas dans celles de Substance Noire lorsque l'incubation est réalisée en présence d'un excès de leucine (Ugrumov, 2008).

Il est *a priori* évident que la synthèse de dopamine par des neurones mono-enzymatiques doit être moins efficace que dans les neurones dopaminergiques au moins pour deux raisons : (a) une énergie supplémentaire doit être utilisée pour le transport de

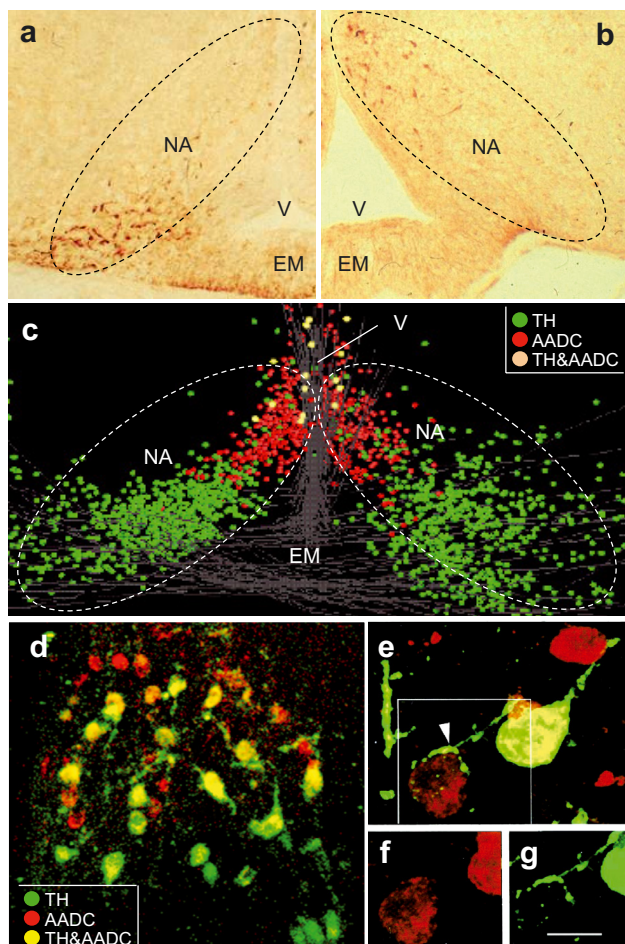


Fig. 3. Neurons exprimant les enzymes de biosynthèse de la dopamine dans le noyau arcué (NA) de rat à 21 jours de vie embryonnaire (a-c : a, TH ; b, AADC) et à l'âge adulte (d-g) ; reconstruction tri-dimensionnelle de leur distribution (c) ; contacts spécialisés entre des neurones mono-enzymatiques (e-g : e, tête de flèche ; f, AADC ; g, TH) (Balan *et al.*, 2000 ; Ershov *et al.*, 2002 a,b). EM : eminence médiane ; V : 3^e ventricule. NA : noyau arcué.

L-DOPA d'un neurone à l'autre et (b) une certaine quantité de L-DOPA peut-être métabolisée dans les espaces intercellulaires lors de son transfert d'une cellule à l'autre. Par conséquent la question qui se pose est celle des conditions spécifiques dans lesquelles une synthèse coopérative de dopamine peut être attendue. Notre hypothèse est que cette synthèse coopérative de dopamine est une réaction compensatoire à une insuffisance fonctionnelle des « vrais » neurones dopaminergiques (Ugrumov *et al.*, 2002 ; Ugrumov, 2008).

Chez l'humain, un défaut de neurones dopaminergiques apparaît lors de leur disparition progressive dans des maladies neurodégénératives comme l'hyperprolactinémie et la maladie de Parkinson (Fig. 2).

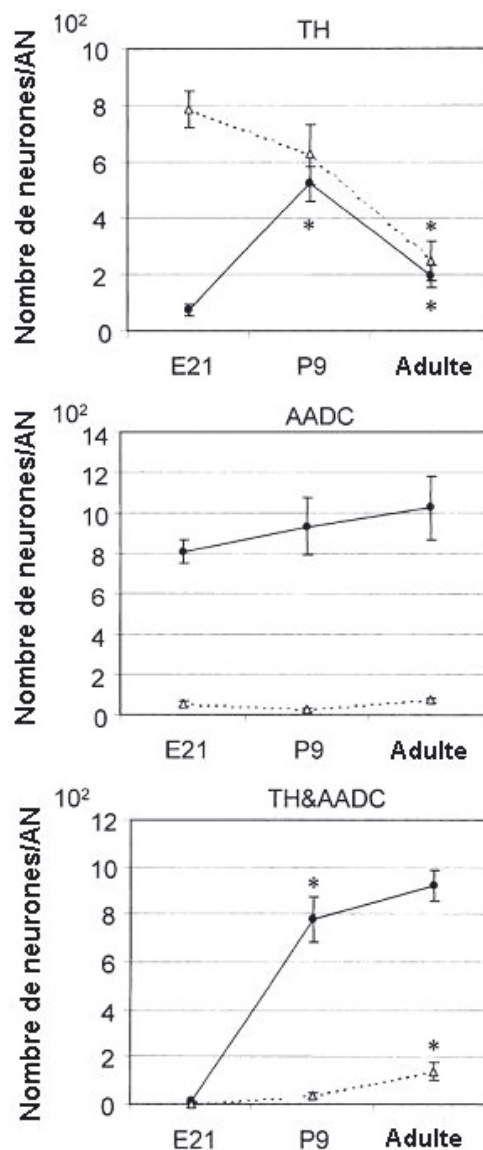


Fig. 4. Nombre de neurones monoenzymatiques exprimant la tyrosine-hydroxylase (TH) ou la décarboxylase des amino-acides aromatiques (AADC) et des neurones bienzymatiques exprimant les deux enzymes (TH&AADC) dans les régions ventro-latérale (ligne pointillée) et dorso-médiane (ligne continue) du noyau arcué (AN) de rats mâles au 21^e jour embryonnaire (E21), au 9^e jour post-natal (P9) et à l'âge adulte (Ershov *et al.*, 2002a). * : $P \leq 0.05$.

En effet, la dégénérescence des neurones dopaminergiques du NA conduit à une suppression du contrôle inhibiteur par la dopamine de la sécrétion adénohypophysaire de prolactine, ce qui provoque le développement du syndrome d'hyperprolactinémie et par là des perturbations dans l'axe reproducteur (Serri *et al.*, 2003).

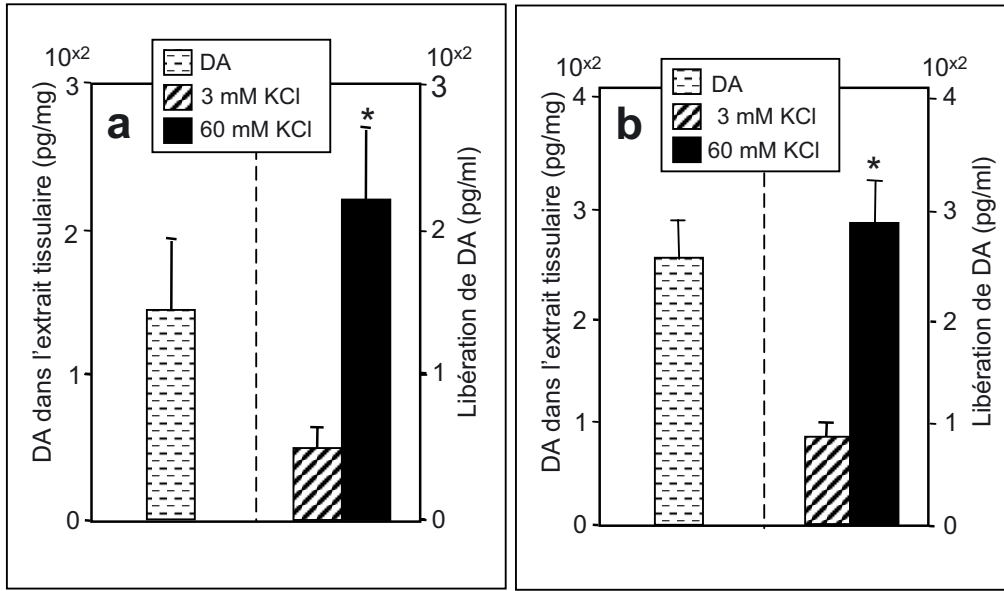


Fig. 5. Concentration et libération induite par K⁺ de la dopamine (DA) dans : A) l'hypothalamus médio-basal (noyau arqué et éminence médiane) isolé chez des fœtus de rat à 21 jours de vie embryonnaire (E21) ; B) des cultures primaires d'hypothalamus médio-basal de fœtus de rat prélevé à 17 j de vie embryonnaire et maintenu en culture pendant 7 j (Melnikova *et al.*, 1999) * : P ≤ 0,05.

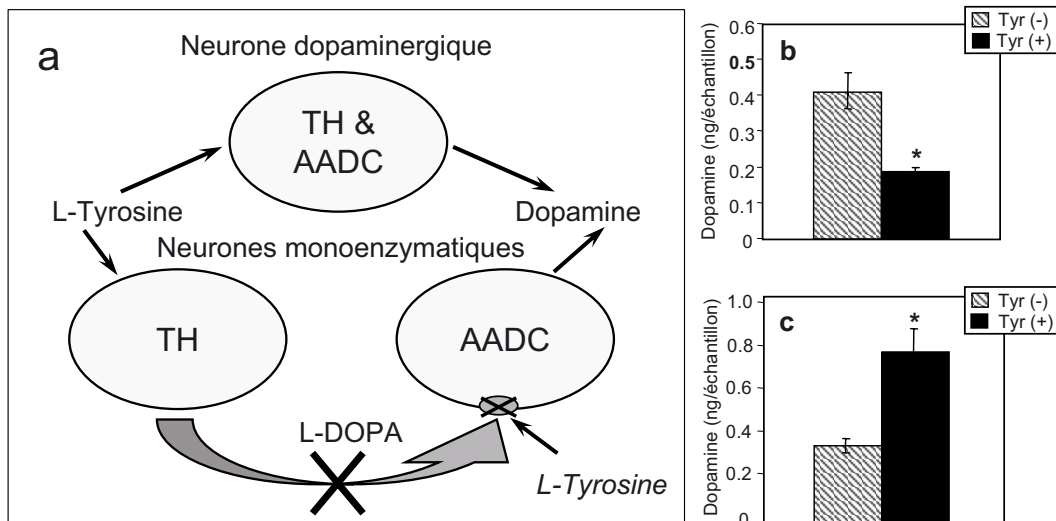


Fig. 6. Représentation schématique (a) et résultats (b, c) des expériences montrant que l'inhibition compétitive du transporteur de la L-DOPA par la L-tyrosine provoque : (b) une diminution de la synthèse de dopamine dans une suspension cellulaire du noyau arqué de fœtus de rat au 21^e jour de la vie embryonnaire (contenant principalement des neurones monoenzymatiques à TH ou AADC) et (c) une augmentation de la synthèse de dopamine dans une suspension cellulaire de Substance Noire des mêmes fœtus contenant principalement des neurones bienzymatiques dopaminergiques (Ugrumov *et al.*, 2004). Tyr(-) : incubation de la suspension cellulaire en l'absence de L-tyrosine ; Tyr(+) : incubation de la suspension cellulaire en présence de L-tyrosine. AADC : décarboxylase des amino-acides aromatiques ; TH : tyrosine-hydroxylase ; ovale gris : transporteur membranaire commun aux amino-acides neutres et à la DOPA.

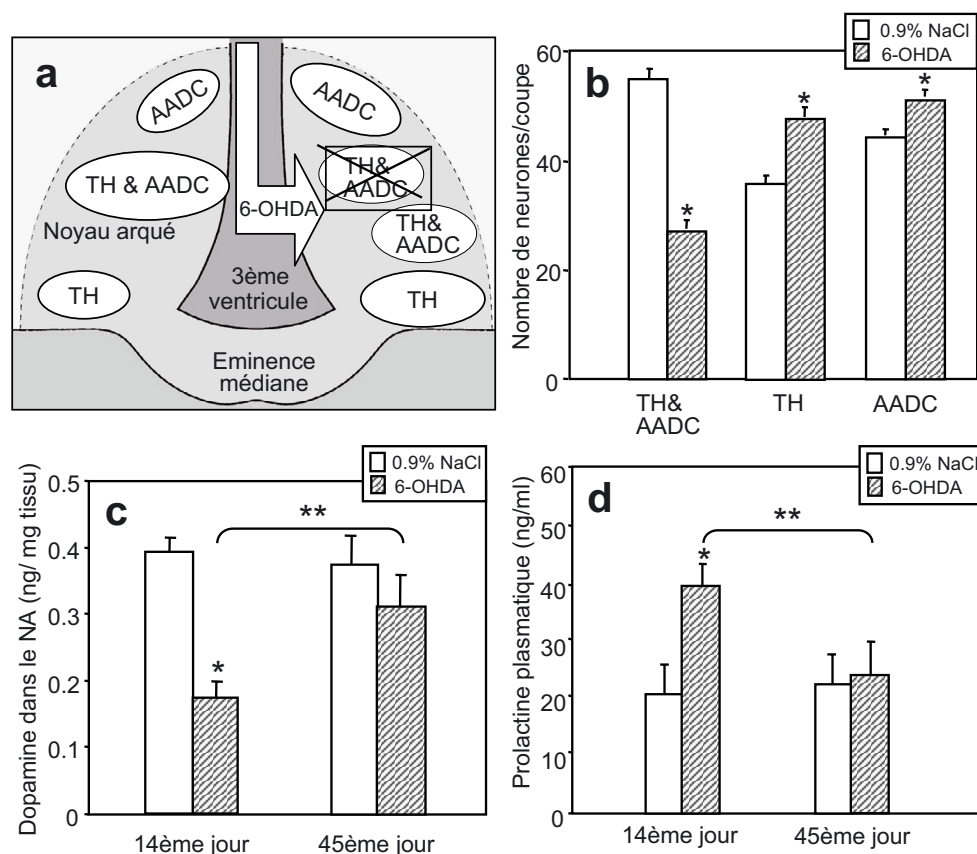


Fig. 7. Représentation schématique de l'expérience (a) et des résultats (b-d) montrant que la dégénérescence induite par la 6-hydroxy-dopamine de 50 % des neurones bienzymatiques (TH&AADC) dans le noyau arqué de rats adultes est suivie tout d'abord par une diminution de la synthèse de dopamine (DA) et une sécrétion accrue de prolactine après 14 jours, puis par une normalisation des deux paramètres après 45 jours (Ugrumov 2008 ; Ziyasetdinova *et al.*, 2008). De plus, le nombre de neurones monoenzymatiques augmente significativement à 45 jours (Ershov *et al.*, 2005). NA : noyau arqué ; AADC : décarboxylase des amino-acides aromatiques ; TH : tyrosine hydroxylase ; 6-OHDA : 6-hydroxy-dopamine.

En vue de tester notre hypothèse d'un rôle compensatoire de la synthèse coopérative de dopamine, une déficience dans le système tubéro-infundibulaire dopaminergique a été provoquée chez le rat par une injection intraventriculaire de 6-hydroxy-dopamine qui provoque la dégénérescence de 50 % des neurones dopaminergiques bienzymatiques, une diminution significative de la synthèse de dopamine et une augmentation de 100 % de la concentration de prolactine dans le plasma au quatorzième jour (Fig. 7) (Ziyasetdinova *et al.*, 2008). Il est intéressant de noter que la synthèse de dopamine et la prolactinémie retournent à un niveau normal quarante-cinq jours après l'injection de neurotoxine (Fig. 7), ce qui suggère la mise en route ou bien le renforcement de processus compensatoires, pouvant impliquer la synthèse coopérative de dopamine. Cette hypothèse est fortement étayée par notre observation d'un nombre accru de neurones mono-enzymatiques à TH et AADC chez le rat à la suite d'une dégénérescence, induite par la

6-hydroxy-dopamine, de la moitié des neurones dopaminergiques du NA (Ershov *et al.*, 2005).

Dans une seconde série d'expériences, la maladie de Parkinson a été mimée chez le rat par injection de la neurotoxine (6-hydroxy-dopamine) soit dans la Substance Noire soit dans le Faisceau Médian du télencéphale. La dégénérescence des neurones dopaminergiques du système nigro-strié chez le rat est suivie de perturbations du comportement moteur avec rotation de l'animal (Ugrumov, 2008). Nous avons démontré que la dénervation du striatum dans cette expérience est suivie soit de l'apparition soit de l'augmentation du nombre de neurones mono-enzymatiques dans le striatum. De façon surprenante, outre les neurones mono-enzymatiques, des neurones bienzymatiques apparaissent occasionnellement dans le striatum dénervé (Fig. 8) (Ugrumov, 2008). Ces résultats confirment notre hypothèse qu'une déficience en neurones dopaminergiques stimule en quelque sorte l'expression de TH et d'AADC dans des

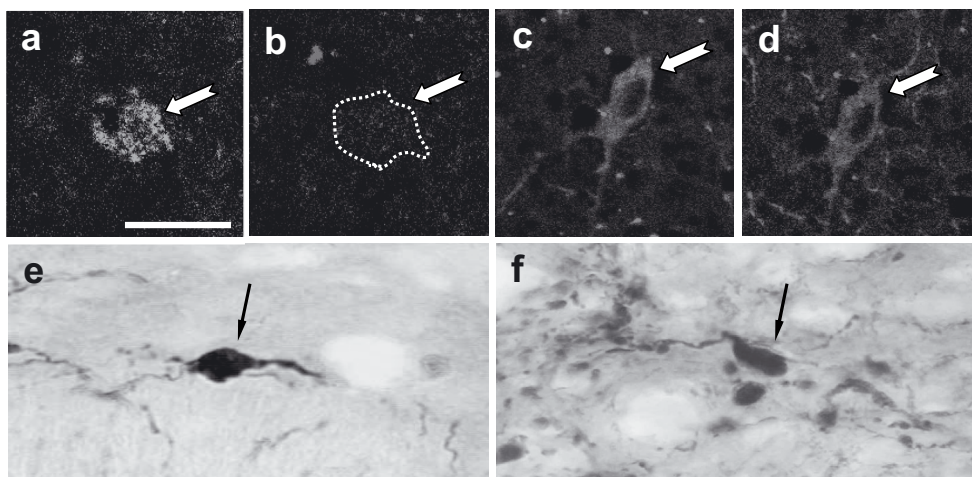


Fig. 8. Neurones simplement (a, b, e, f) et doublement (c, d) immunomarqués, soit pour la tyrosine-hydroxylase (a, b, c, e, f) ou pour la décarboxylase des amino-acides aromatiques (d) dans le striatum de rat après dégénérescence des neurones dopaminergiques de la Substance Noire, induite par la 6-hydroxy-dopamine) (Ugrumov, 2008 ; Sorokin *et al.*, non publié). a-d : Double marquage par immunofluorescence pour la tyrosine-hydroxylase ou pour la décarboxylase des amino-acides aromatiques en microscopie confocale ; e, f : marquage simple par immunoperoxydase pour la tyrosine hydroxylase. Flèches : neurones immunoréactifs.

neurones non-dopaminergiques et, par là, la synthèse coopérative de dopamine.

La dernière question, qui doit être élucidée dans le futur, concerne les signaux chimiques et les mécanismes qui sont responsables de la régulation de l'expression des enzymes de la synthèse de dopamine dans les neurones non-dopaminergiques. Les neurones à vasopressine du noyau supra-optique exprimant la TH, après leur stimulation fonctionnelle par une surcharge saline ou par leur dénervation (Kiss & Mezey, 1986), pourraient constituer un modèle adéquat pour résoudre cette question. Prenant en compte que la régulation des neurones à vasopressine est en grande partie assurée par des stimulus noradrénergiques (Armstrong *et al.*, 1986), nous avons émis l'hypothèse que la noradrénaline inhibe l'expression de la TH (Ugrumov, 2002). Pour tester cette hypothèse, l'expression du gène de la TH et sa synthèse dans les neurones à vasopressine a été mesurée chez des rats soumis à une stimulation osmotique à différentes périodes du développement : chez les fœtus, avant le développement de l'innervation et chez les animaux nouveau-nés durant l'établissement de cette innervation. Comme attendu, aucune expression de TH n'a été observée dans les neurones à vasopressine après surcharge saline chez les fœtus c'est-à-dire avant la mise en place de l'innervation. Par contre, la TH est exprimée dans les neurones à vasopressine après stimulation osmotique chez les rats nouveau-nés au cours de l'établissement de cette innervation. Il reste maintenant à établir si le démarrage de l'expression de la TH dans les neurones à vasopressine est le résultat de

leur différenciation ou de leur innervation (Ugrumov, 2002).

Les neurones à vasopressine en différenciation ont aussi été utilisés pour tester notre hypothèse suivant laquelle l'expression des enzymes individuelles de la synthèse de dopamine dans des neurones non-dopaminergiques est inhibée par les afférences catécholaminergiques dans les conditions normales. De fait, nous avons démontré, par hybridation *in situ* semi-quantitative et immunohistochimie, que l'expression de la TH dans les neurones à vasopressine après stimulation osmotique augmente après un traitement par un antagoniste des récepteurs alpha-1-adrénergiques (prazosin) et diminue sous un traitement avec un agoniste de ces récepteurs, phényléphrine (Fig. 9) (Ugrumov, 2002).

Ainsi, en réponse compensatoire à un déficit en neurones monoaminergiques, les monoamines peuvent également être produites par des neurones non-monoaminergiques exprimant seulement certaines enzymes complémentaires de leur biosynthèse.

Remerciements. The author expresses deep thanks to Professor A. Calas for long-term fruitful cooperation and help in preparing this paper. The present study was supported by the following grants: RFBR 08-04-01084, RFBR-oriented basic research 07-04-12211, RFBR-PICS 07-04-92173, RFH 06-06-000-10A, Scientific Schools 2110.2008.4, Programs of the Russian Academy of Sciences "Basic sciences for medicine", "Physiological mechanisms of the regulation of homeostasis in the systemic control of the animal behavior" and "The innovations support".

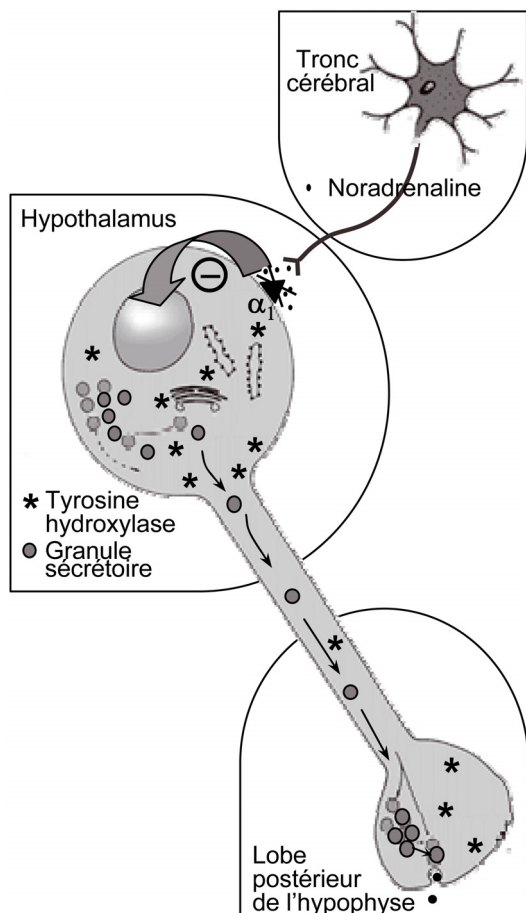


Fig. 9. Représentation schématique de l'effet inhibiteur des afférences noradrénergiques et de la noradrénaline sur l'expression de la tyrosine-hydroxylase dans les neurones à vasopressine du noyau supra-optique de rat. Points noirs : noradrénaline ; cercles sombres : granules de vasopressine ; * : tyrosine-hydroxylase ; triangle : récepteur adrénergique.

Références

- Agid Y. Parkinson's disease pathophysiology. *Lancet*, 1991, 337, 1321–1323.
- Armstrong W.E., Gallagher M.J., Sladek C.D. Noradrenergic stimulation of supraoptic neuronal activity and vasopressin release in vitro: mediation by an alpha 1-receptor. *Brain Res*, 1986, 365, 192–197.
- Balan I.S., Ugrumov M.V., Calas A., Maily P., Krieger M., Thibault J. Tyrosine hydroxylase- and/or aromatic L-amino acid decarboxylase-expressing neurons in the mediobasal hypothalamus of perinatal rats: Differentiation and sexual dimorphism. *J Comp Neurol*, 2000, 425, 167–176.
- Calas A., Landry M., Roche D., Trembleau A. A model of phenotypic plasticity: the hypothalamo-posthypophyseal neurons. *C R Séances Soc Biol Fil*, 1994, 188, 187–206. (French)
- Dale H.H. Pharmacology and nerve endings. *Proc Roy Soc Med*, 1935, 28, 319–332.
- Daikoku S., Kawano H., Okamura Y., Tokuzen M., Nagatsu I. Ontogenesis of immunoreactive tyrosine hydroxylase-containing neurons in rat hypothalamus. *Dev Brain Res*, 1986, 28, 85–98.
- Eccles J.C. Chemical transmission and Dale's principle. *Prog Brain Res*, 1986, 68, 3–13.
- Ershov P.V., Ugrumov M.V., Calas A., Krieger M., Thibault J. Differentiation of tyrosine hydroxylase-expressing and/or aromatic L-amino acid decarboxylase-expressing neurons in the rat mediobasal hypothalamus: quantitative double-immunofluorescence study. *J Comp Neurol*, 2002a, 446, 114–122.
- Ershov P.V., Ugrumov M.V., Calas A., Makarenko I.G., Krieger M., Thibault J. Neurons possessing enzymes of dopamine synthesis in the mediobasal hypothalamus of rats. Topographic relations and axonal projections to the median eminence in ontogenesis. *J Chem Neuroanat*, 2002b, 24, 95–107.
- Ershov P.V., Ugrumov M.V., Calas A., Krieger M., Thibault J. Degeneration of dopaminergic neurons triggers an expression of individual enzymes of dopamine synthesis in non-dopaminergic neurons of the arcuate nucleus in adult rats. *J Chem Neuroanat*, 2005, 30, 27–33.
- Gamrani H., Harandi M., Belin M.F., Dubois M.P., Calas A. Direct electron microscopic evidence for the coexistence of GABA uptake and endogenous serotonin in the same rat central neurons by coupled radioautographic and immunocytochemical procedures. *Neurosci Lett*, 1984, 48, 25–30.
- Hoffman B.J., Hansson S.R., Mezey É., Palkovits M. Localization and dynamic regulation of biogenic amine transporters in the mammalian central nervous system. *Front Neuroend*, 1998, 19, 187–231.
- Hökfelt T., Holets V.R., Staines W., Meister B., Melander T., Schalling M., Schultzberg M., Freedman J., Björklund H., Olson L. *et al.* Coexistence of neuronal messengers-an overview. *Prog Brain Res*, 1986, 68, 33–70.
- Kiss J.Z., Mezey E. Tyrosine hydroxylase in magnocellular neurosecretory neurons. *Neuroendocrinology*, 1986, 43, 519–525.
- McCann S.M., Lumpkin M.D., Mizunuma H., Khorram O., Ottlecz J., Samson W.K. Peptidergic and dopaminergic control of prolactin release. *Trends Neurosci.*, 1984, 7, 127–131.
- Meister B., Hökfelt T., Steinbusch H.W.M., Skagerberg G., Lindvall O., Geffard M., Joh T., Cuello A.C., Goldstein M. Do tyrosine hydroxylase-immunoreactive neurons in the ventro-lateral arcuate nucleus produce dopamine or only L-DOPA? *J Chem Neuroanat*, 1988, 1, 59–64.
- Melnikova V., Orosko M., Calas A., Sapronova A., Gainetdinov R., Delhaye-Bouchaud N., Nicolaid S., Raevsky K., Ugrumov M. Dopamine turnover in the mediobasal hypothalamus in rat fetuses. *Neuroscience*, 1999, 89, 235–241.

- Serri O., Chik C.L., Ur E., Ezzat S. Diagnosis and management of hyperprolactinemia. *C M A J*, 2003, 169, 575–581.
- Squire L.R., Bloom F.E., McConnell S.K, Roberts J.L., Spitzer N.C., Zigmond M.J. *Fundamental Neuroscience*. 2003. Acad. Press, Amsterdam.
- Ugrumov M.V. Magnocellular vasopressin system in ontogenesis: Development and regulation. *Microsc. Res. Tech.*, 2002, 56, 164–171.
- Ugrumov M.V. Brain neurons partly expressing monoaminergic phenotype: distribution, development and functional significance in norm and pathology. *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology* (Ed. A. Lajtha). *Neurotransmitter Systems* (Ed. E.S. Vizi), Heidelberg, Springer, 2008, pp. 21–73.
- Ugrumov M., Taxi J., Tixier-Vidal A., Thibault J., Mitskevich M.S. Ontogenesis of tyrosine hydroxylase-immunopositive structures in the rat hypothalamus. An atlas of neuronal cell bodies. *Neuroscience*, 1989, 29, 135–156.
- Ziyasetdinova G.Z., Saponova A.Y., Kiyasova V.A., Nanaev A.K., Kudrin V.S., Martina N., Tille Y., Ugrumov M.V. Compensatory reaction to degeneration of dopaminergic neurons of the arcuate nucleus in rats. *J Evol Biochem Physiol*, 2008, 44, 72–77 (Russ).
- Zupanc G.K.H. Peptidergic transmission: from morphological correlates to functional implications. *Micron*, 1996, 27, 35–91.