

Université de Montréal

2M11.2715.4

Effets du gamma-hydroxybutyrate sur l'activité de décharge des cellules  
dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale

par

Hugo Tremblay

Département des sciences biomédicales

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Maître ès sciences (M.Sc.)

Août 1998

© Hugo Tremblay, 1998



4.2150 1108

W  
4

U58

1999

V.108

University of Michigan

En la fecha de esta escritura se declara que el contenido de esta escritura es el resultado de una investigación realizada por el autor de la misma.

El presente documento es una copia de la escritura original.

Yo,

Don Juan

delegado de la Junta de Gobierno

de la Universidad de

En fe de lo cual se firmó y selló en la ciudad de Madrid a los 11 días del mes de Mayo de 1999.

Yo,

Don Juan



Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire est intitulé:

Effets du gamma-hydroxybutyrate sur l'activité de décharge des cellules  
dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale

Présenté par:

Hugo Tremblay

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Président rapporteur: Karen Dewar

Membre: Jacques Montplaisir

Membre: Roger Godbout

Mémoire accepté le: 98. 11. 10

## Sommaire

Le gamma-hydroxybutyrate (GHB) est un acide gras à chaîne courte agissant comme neurotransmetteur dans le système nerveux central. Il est reconnu principalement pour ses propriétés anxiolytique, anesthésique et hypnotique. Par ailleurs on utilise le GHB principalement comme traitement de la narcolepsie, notamment dans le contrôle des symptômes associés aux manifestations diurnes du sommeil paradoxal tel la cataplexie. Il a été proposé que l'action thérapeutique du GHB se produit par la consolidation du sommeil paradoxal nocturne, réduisant ainsi la probabilité de son apparition diurne.

Les études biochimiques et électrophysiologiques montrent que le GHB modifie de façon sélective la neurotransmission à dopamine (DA). On a en effet observé que l'administration périphérique de GHB en dose de 100 à 500 mg/kg produit une augmentation de la synthèse de la DA accompagné d'une diminution de libération au niveau des terminaison axonales. Des doses semblables induisent également une inhibition de l'activité spontanée des cellules dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale (ATV) et la substance noire compacte (SNc) mais les doses utilisées sont beaucoup plus élevées que ce qui est la norme dans les études cliniques.

Des études antérieures ont montré que seuls les effets du GHB à faible doses sur l'activité spontanée des neurones du cortex préfrontal et sur la température centrale sont renversés par l'antagoniste des récepteurs à GHB, le NCS-382. Nous avons voulu vérifier si ce phénomène se retrouvait également au niveau des cellules DA de L'ATV.

Dans la présente étude, nous avons donc évalué l'effet de l'administration intrapéritonéale de GHB en faible (10 mg/kg) et forte (160-250 mg/kg) dose sur l'activité spontanée des cellules DA de l'ATV chez des rats anesthésiés à l'uréthane. La spécificité des effets du GHB a été vérifiée à l'aide de l'antagoniste spécifique aux récepteurs à GHB, le NCS-382.

Les résultats ont montré que les faibles doses de GHB produisaient trois types d'effets: l'excitation, l'inhibition ou une séquence excitation/inhibition. Par contre, les doses élevées de GHB n'ont induit que des inhibitions. Le NCS-382 a bloqué les effets des faibles doses et a laissé apparaître des excitations sous forte dose. Cette étude suggère que l'augmentation de l'activité de décharge des cellules DA de l'ATV par le GHB est due à l'activation des récepteurs à GHB alors que les effets des doses élevées impliquent des mécanismes additionnels. La discussion propose également une explication quant aux propriétés hypnotiques du GHB.

#### Mots clés

Gamma-hydroxybutyrate, dopamine, aire tegmentale ventrale, électrophysiologie, sommeil, rats

## Table des matières

Sommaire	i
Table des matières	iv
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	viii
Liste des abréviations	ix
Avant-propos	xi
1- Introduction	1
1.1- L'aire tegmentale ventrale	2
1.1.1- Caractéristiques neuroanatomiques et neurochimiques de l'ATV	2
1.1.1.1- Les systèmes de projections	2
1.1.1.1.1- Le système mésocortical	3
1.1.1.1.2- Le système mésolimbique	4
1.1.1.2- L'organisation interne de l'ATV	5
1.1.1.3- Les récepteurs à DA	7
1.1.2- Comportement et ATV	11
1.1.2.1- Comportement renforcé et système mésocortical	11
1.1.2.2- Locomotion et système mésolimbique	13
1.1.2.3- Activité cellulaire à la base des comportements	16
1.1.3- Effets de la stimulation des récepteurs à DA sur le taux de décharge des cellules DA de l'ATV	19
1.2- Le gamma-hydroxybutyrate: présentation et utilisation	21

1.2.1- Le GHB comme neurotransmetteur	22
1.2.1.1- <i>La molécule doit être présente sous forme séquestrée, préférablement en vésicules du côté présynaptique</i>	22
1.2.1.2- <i>L'application exogène de la molécule dans la région synaptique doit reproduire l'effet d'un phénomène synaptique de neurotransmission</i>	22
1.2.1.3- <i>Il doit y avoir un mécanisme de synthèse pour la molécule; les précurseurs et les enzymes doivent être présents présynaptiquement</i>	23
1.2.1.4- <i>Il doit y avoir un mécanisme d'inactivation de la molécule, sous la forme d'un enzyme de dégradation, d'un système de recapture en position présynaptique, ou d'une interaction avec des éléments gliaux adjacents</i>	23
1.2.1.5- <i>La présence de sites de liaison spécifique à la molécule doit être observée</i>	24
1.2.1.6- <i>La disponibilité de la molécule doit être régie par un système de libération électrosensible contrôlé par le calcium</i>	24
1.2.2- Les effets physiologiques du GHB	26
1.2.2.1- Les effets biochimiques du GHB	27
1.2.2.2- Les effets électrophysiologiques du GHB	31
1.2.2.3- Les effets endocriniens du GHB	33
1.2.2.4- Les effets du GHB sur le comportement et l'activité EEG	33
1.2.2.5- Autres effets physiologiques du GHB	35
1.2.3- Utilisation thérapeutique du GHB	35
1.2.4- Les effets du GHB sur le sommeil	36



1.3- Retour sur les concepts importants	38
2- Hypothèses	39
3- Méthode expérimentale	41
3.1- Procédure chirurgicale	42
3.2- Enregistrement extracellulaire des neurones de l'ATV	42
3.3- Administration des drogues	43
3.4- Variables dépendantes	43
3.5- Vérification histologique	44
4- Résultats	45
4.1- Article: « <i>Effects of gamma-hydroxybutyrate on ventral tegmental unit activity in the rat: considerations on REM control</i> »	46
5- Discussion	70
5.1- Effets des faibles doses de GHB sur la fréquence de décharge des cellules DA de l'ATV	71
5.2- Effets des hautes doses de GHB sur la fréquence de décharge des cellules DA de l'ATV	73
5.3- GHB et déclenchement du SP	75
5.4- GHB: trois visions	76
5.5- Projets futurs	79
Bibliographie	81
Remerciements	xii

## Liste des tableaux

Tableau 1 Synthèse des observations du comportement locomoteur chez le rat suivant une stimulation ou une inhibition du système méso-accumbens	13
Tableau 2 Distribution des sites de synthèse, de liaison et de recapture du GHB dans le cerveau	25
Tableau 3 Effects of gamma-hydroxybutyrate (GHB) on firing activity of dopaminergic neurons of the ventral tegmental area in anesthetized rats	63

## Liste des figures

Figure 1 Schéma de la position des récepteurs présents dans le voisinage des cellules DA de l'ATV	10
Figure 2 Coupes histologiques de l'ATV illustrant un échantillonnage représentatif des sites d'enregistrements	65
Figure 3 Digitized oscilloscope tracing of a typical ventral tegmental area dopaminergic neuronal spike discharge, recorded extracellularly in an anesthetized rat	67
Figure 4 Firing-rate histogram showing signs of depolarization inactivation in a dopaminergic neuron of the ventral tegmental area	69

## Liste des abréviations

5-HT:	Sérotonine.
6-OHDA:	6-hydroxydopamine.
ACh:	Acétylcholine.
AMP:	Adénosine monophosphate.
AMPH:	Amphétamine.
APO:	Apomorphine.
ASP:	Aspartate.
ATV:	Aire tegmentale ventrale.
CPF:	Cortex préfrontal.
DA:	Dopamine.
DAergique:	Dopaminergique.
EEG:	Électroencéphalogramme.
e.s.m.:	Erreur standard de la moyenne.
GABA:	Acide gamma-aminobutyrique.
GBL:	Gamma-butyrolactone.
GHB:	Gamma-hydroxybutyrate.
GLU:	Glutamate.
GMP:	Guanine monophosphate.
HC:	Hormone de croissance.
i.p.:	Intrapéritonéale.
i.v.:	Intraveineuse.

NAcc:	Noyau accumbens.
NE:	Norépinéphrine.
NMDA:	<i>n</i> -méthyl- <i>d</i> -aspartate.
p.o.:	<i>per os</i> (voie orale).
PRL:	Prolactine.
RF:	Radiofréquence.
SN:	Substance noire.
SNc:	Substance noire compacte.
SNC:	Système nerveux central.
SP:	Sommeil paradoxal.

## Avant-propos

De façon générale, ce mémoire a été rédigé sous forme de mémoire traditionnel et présenté selon les directives stipulées dans le manuel « Procédures d'acceptation et guide de présentation des mémoires et des thèses ». <sup>1</sup> Toutefois, une modification a été apportée dans la rédaction de la section « Résultats ». En effet, le lecteur constatera qu'un article publié dans un journal scientifique (Sleep Research Online 1998, 1(4): 152-158) occupe cette section.

---

<sup>1</sup> Faculté des études supérieures, Université de Montréal. (1994). Procédures d'acceptation et guide de présentation des mémoires et des thèses. 4e édition.

## Introduction

Le gamma-hydroxybutyrate (GHB) est un acide gras endogène capable d'induire le sommeil paradoxal (SP) chez plusieurs espèces animales. Le mécanisme responsable de ce phénomène reste indéterminé, mais les observations disponibles à ce jour montrent que le site d'action de préférence du GHB est le système limbique, et plus particulièrement les composantes dopaminergiques de ce dernier. De plus, on a récemment découvert que le système limbique était grandement impliqué dans le contrôle du SP dans le modèle animal de la narcolepsie. Nous avons décidé de déterminer l'action du GHB sur l'activité de décharge de l'aire tegmentale ventrale (ATV), cette structure formant l'origine des faisceaux ascendants du système mésocorticolimbique. Dans les prochaines sections, nous discuterons premièrement de l'ATV et de ses fonctions, puis du GHB et de ses propriétés.

## 1.1 L'AIRE TEGMENTALE VENTRALE

L'ATV est, avec la substance noire compacte (SNc), un des noyaux dopaminergiques (DAergiques) les plus importants du système nerveux central (SNC). Il est à l'origine du système mésocorticolimbique, que l'on croit responsable du phénomène d'addiction aux drogues, des comportements motivés et qui participe à la physiopathologie des psychoses.

### 1.1.1 Caractéristiques neuroanatomiques et neurochimiques de l'ATV

#### 1.1.1.1 Les systèmes de projections



Il existe deux systèmes de projections majeurs originant de l'ATV. Ce sont le système mésocortical, formé des projections allant vers les structures corticales (cortex préfrontal (CPF), cortex rhinal, cortex cingulaire), et le système mésolimbique, formé des projections allant vers les structures limbiques (noyaux accumbens (NAcc), tubercules olfactifs, amygdales, septum, cortex piriforme).

#### 1.1.1.1.1 Le système mésocortical

La cible corticale principale de l'ATV est le CPF, lequel reçoit des afférences DAergiques et non-DAergiques, notamment de type gamma-aminobutyrate (GABA) (Thierry et al., 1980; Albanese et al., 1982; Swanson, 1982; Gilman et al., 1990). On différencie ces deux types de fibres selon le fait qu'elles soient myélinisées ou non ce qui donne des vitesses de conduction rapide ou lente, respectivement (Thierry et al., 1980). On a montré par la technique de traçage rétrograde que les neurones à dopamine (DA) faisaient synapse avec les cellules pyramidales des couches V et VI du CPF (Björklung et Lindvall, 1984; Ferino et al., 1984; Descarries et al., 1987). Les neurones du CPF sont inhibés par l'activation de ces projections (Ferron et al., 1984; Mantz et al., 1988; Sesack et Bunney, 1989; Thierry et al., 1990; Godbout et al., 1991). On a observé l'inhibition d'une partie des cellules du CPF par stimulation électrique de l'ATV après la destruction des cellules DA par la 6-hydroxydopamine (6-OHDA) (Piro et al., 1992). Ceci suggère l'existence d'une modulation des cellules du CPF par un input non-DAergique de l'ATV. Bien qu'on ne connaisse pas encore les cibles des fibres non-DA de l'ATV il a été démontré que le GABA pouvait hyperpolariser les cellules pyramidales du CPF (Rétaux et al.,

1991). En effet, on a observé que certaines fibres DA de l'ATV faisaient synapse avec des interneurons GABA du CPF, et que la stimulation de ces fibres avaient une action excitatrice en agissant sur des récepteurs D<sub>2</sub> situés sur ceux-ci (Pénit-Soria et al., 1987; Rétaux et al., 1991).

Les afférences sur le CPF peuvent donc être de trois types: a) neurone DAergique faisant synapse direct avec une cellule pyramidale du CPF; b) neurone DAergique faisant synapse avec un interneurone, qui lui fait synapse avec une cellule pyramidale du CPF; c) neurone non-DAergique faisant synapse avec une cellule pyramidale du CPF. Toutes ces afférences ont une action finale inhibitrice sur les cellules du CPF (Piro et al., 1992).

Le CPF exerce un rétro-contrôle sur les neurones à DA de l'ATV par des projections corticofugales utilisant les acides aminés excitateurs aspartate (ASP) et glutamate (GLU) comme neurotransmetteur (Christie et al., 1985a; Gariano et Groves, 1988). Ils agissent sur des récepteurs de type *n*-méthyl-*d*-aspartate (NMDA) et non-NMDA situés sur le soma des cellules à DA. En outre, il a été mis en évidence que le taux d'acides aminés excitateurs est fortement diminué dans l'ATV suite à des lésions électrolytiques ou neurotoxiques dans le CPF (Christie et al, 1989)

#### 1.1.1.1.2 Le système mésolimbique

Le noyau principal ciblé par les afférences mésolimbiques est le NAcc. Ces projections sont composées de fibres DA et de fibres non-DA, notamment GABA

(Yim et Mogenson, 1980, Maeda et Mogenson, 1980) et sont majoritairement concentrées sur la partie médiane du NAcc (Nauta et al., 1978).

Le système de rétro-contrôle est formé de projections GABAergiques du NAcc vers le VTA (Yim et Mogenson, 1980). En outre, il a été mis en évidence que des lésions du NAcc provoquent une chute des niveaux de GABA dans l'ATV (Yim et Mogenson, 1980). Les fibres GABAergiques originant du NAcc font synapse avec des cellules DA et non-DA dans l'ATV (Sugita et al., 1992), certaines faisant même synapse avec des interneurons GABA de l'ATV (Smith et Bolam, 1990).

En plus du rétro-contrôle à GABA on a identifié plusieurs types de fibres peptidergiques originant du NAcc et du striatum faisant synapse dans l'ATV (voir Kalivas et al., 1992). Ces neuropeptides (enképhaline et dynorphine) agissent sur les récepteurs opioïdes  $\mu$ ,  $\delta$  et  $\kappa$  respectivement. Ces récepteurs opioïdes ne sont pas situés sur des neurones, mais plutôt sur les astrocytes formant la glie de l'ATV (Sesack et Pickel, 1992). L'activation des récepteurs  $\mu$  et  $\delta$  par l'enképhaline et ses homologues induit une augmentation de la neurotransmission à DA (Cador et al., 1989; Kalivas et Duffy, 1990; Kalivas et al., 1983), tandis que l'activation des récepteurs  $\kappa$  par la dynorphine semble affecter principalement les cellules non-DA de l'ATV (Robertson et al., 1987; Lavin et Garcia-Muñoz, 1986).

#### 1.1.1.2 L'organisation interne de l'ATV

L'ATV est composé de deux types de cellules, soit les cellules primaires et secondaires.

Les cellules dites primaires sont les neurones DA. Ils composent la majorité des cellules présentes dans l'ATV. Ces neurones sont des neurones de sortie, projetant de façon topographique vers leurs cibles. On a également pu co-localiser de la neurotensine (NT) sur les somas et dendrites des neurones DA et de la cholécystokinine (CCK) sur les interneurones formant le péricarya des neurones DA (Jennes et al., 1982; Uhl et al., 1979; Seroogy et al., 1989).

La majorité des neurones dits secondaires de l'ATV sont GABAergiques tel que démontré par immunohistochimie (Nagai et al., 1983; Oertel et al., 1982; Smith et Bolam, 1990). Plus de 20% des cellules de l'ATV possèdent l'ARNm nécessaire à la formation de l'acide glutamique décarboxylase, l'enzyme de conversion de l'acide glutamique en GABA (voir Kalivas et al., 1992). Il existe deux type de cellules GABA dans l'ATV. Le premier type est formé des neurones de sortie GABAergiques. Ces projections influencent l'activité de structures motrices et limbiques, dont le striatum (Campbell et Takada, 1989, Pirot et al, 1992) et le CPF (Pirot et al., 1992). L'autre catégorie est composée des interneurones GABAergiques faisant synapse avec des cellules DAergiques à l'intérieur de l'ATV (Bayer et Pickel, 1991). Ces neurones ont une action inhibitrice sur les neurones DA de l'ATV.

Une représentation schématique des récepteurs impliqués dans la modulation de l'activité de l'ATV est présentée à la figure 1, à la fin de la section suivante.

### 1.1.1.3 Les récepteurs à DA

On a identifié cinq types de récepteurs à DA (Giros, 1991; Seeman et Van Tol, 1994). Ces cinq récepteurs sont regroupés en familles selon leur ressemblance aux récepteurs classiques, soit  $D_1$  et  $D_2$ . La famille  $D_1$  comporte les récepteurs  $D_1$  et  $D_5$  et ils sont couplés positivement à l'adénosine monophosphate (AMP) cyclique par l'entremise d'une protéine de type  $G_s$ . La différence majeure entre ces récepteurs est que la DA semble se lier dix fois plus facilement au récepteur  $D_5$  qu'au  $D_1$  (Giros, 1991; Seeman et Van Tol, 1994). La famille  $D_2$  est composée des récepteurs  $D_2$ ,  $D_3$  et  $D_4$  et ces derniers sont couplés négativement à l'AMP cyclique, cette fois par l'entremise d'une protéine  $G_i$ . Le récepteur  $D_3$  possède une affinité pour la DA trois fois plus élevée que le  $D_4$  et ce dernier lie la DA quatre fois mieux que le récepteur  $D_2$  (Giros, 1991).

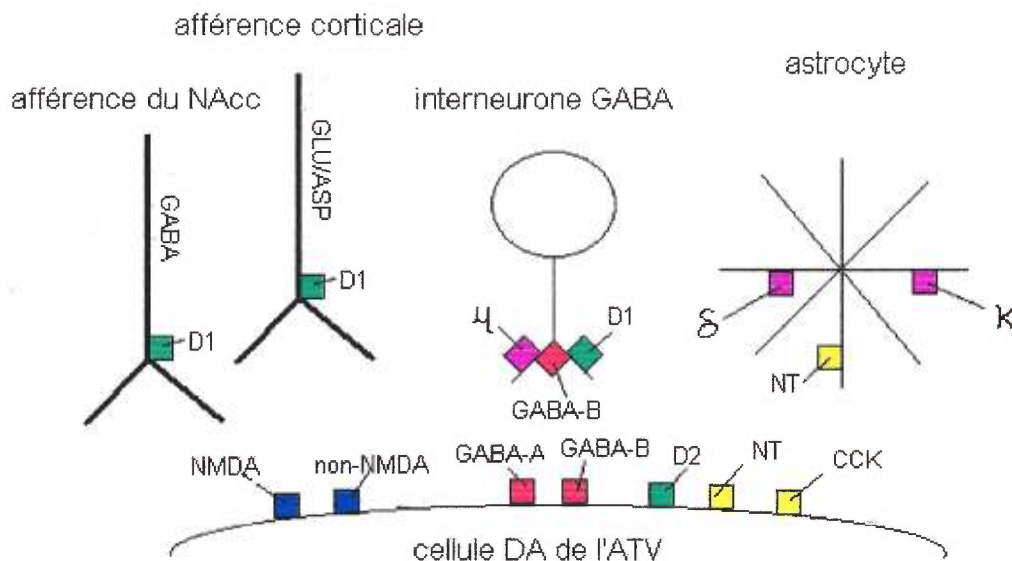
Au niveau local, il semble certain que l'activation des récepteurs  $D_2$ , agissant comme autorécepteur somatodendritique, entraîne une hyperpolarisation des cellules à DA de l'ATV. Par contre, la participation et même la présence de récepteurs  $D_1$  au niveau de la régulation de l'ATV a longtemps fait l'objet de débats. À la lumière des plus récentes expériences, il semblerait que les récepteurs  $D_1$  sont présents sur les terminaisons d'interneurones, fort probablement GABA (Rétaux et al., 1991; Cameron et Williams, 1993), identifiés comme tels par la technique d'immunoradiologie. Leur activation faciliterait la libération de GABA et induirait une hyperpolarisation des cellules de l'ATV (Rétaux et al., 1991).

Au niveau post-synaptique, les deux familles de récepteurs sont présentes et agissent également par l'activation ou l'inhibition de la formation d'AMP cyclique. Au

niveau cellulaire, la différence majeure entre les familles est le taux d'affinité pour la DA. En effet, la famille  $D_2$  possède un taux d'affinité plus élevé que la famille  $D_1$  (Giros, 1991; Seeman et Van Tol, 1994).

## Figure 1

Représentation schématisée de la position des récepteurs présents dans le voisinage des cellules DA de l'ATV et possiblement impliqués dans les effets du GHB.



- récepteur à dopamine
- récepteur à AAE
- récepteur à GABA
- récepteur à peptide non-opiacés
- récepteur à peptides opiacés

AAE: acide aminé excitateur; ASP: aspartate; CCK: cholécystokynine; D: famille de récepteurs à dopamine; GABA: acide gamma-aminobutyrique; GLU: glutamate; NT: neurotensine

Note: Bien qu'il existe des récepteurs à GHB dans l'ATV, leur position est encore inconnue (Maitre, 1997); il ne sont donc pas représentés sur cette figure.



### 1.1.2 Comportement et ATV

L'ATV est une structure impliquée dans une multitude de comportements, et plus particulièrement dans les comportements motivés (voir Wise et Rompré, 1989). On croit aussi que ce système est impliqué dans les aspects secondaires et tertiaires de ces comportements, tels la préparation, l'organisation et l'initiation (Phillips et al., 1991; Salamone, 1991).

#### 1.1.2.1 Comportement renforcé et système mésocortical

Le CPF est impliqué dans l'organisation et l'intégration des comportements de façon à les rendre appropriés aux contingences de l'environnement. Il est spécialisé dans l'organisation temporelle du comportement, la motivation, la mémoire opérationnelle, la planification, l'attention, le comportement social et la régulation des émotions (Kolb, 1984; Fuster, 1986; Sawaguchi et Goldman-Rakic, 1991).

Une lésion au niveau du CPF provoque le dérèglement de l'organisation comportementale. Ainsi, un animal ayant subi une ablation du CPF éprouvera de grandes difficultés à apprendre une tâche « go/no-go ». Dans ce type de tâche les stimuli renforçateurs et non-renforçateurs sont présentés de façon aléatoire et à intervalle variable. La présentation du stimulus-cible doit être suivi d'une réponse tandis que les autres stimuli ne doivent en produire aucune. Dans de tels cas, l'animal lésé donnera une réponse lors de stimuli « no-go », montrera des signes de distraction et réagira sans discrimination à tous stimuli environnementaux, associés ou non à la tâche. Ces observations montrent bien que l'animal est en état d'hyperréactivité face à la nouveauté et aux modifications de l'environnement.

Les animaux porteurs d'une lésion au CPF ont également des difficultés à adopter une nouvelle stratégie correcte face à une modification de tâche ou de consigne, phénomène connu sous le nom de persévération ou rigidité cognitive. Ces observations sont vraies chez l'humain (Barcelo et al., 1997; Berman et al., 1995), le singe (Fuster, 1986) et le rat (Kolb, 1984).

Les études électrophysiologiques ont montré qu'il existe une corrélation entre le taux de décharge des cellules pyramidales du CPF et l'exécution d'une réponse appropriée lors de tâches de type « go/no-go » (Sawaguchi, 1987). Nous avons déjà vu que les cellules pyramidales du CPF sont influencées par les cellules DA et non-DA de l'ATV. De ce fait, une lésion de l'ATV ou la destruction neurochimique des terminaisons DA du CPF produisent chez le rat un état d'hyperactivité et d'hyperactivité ainsi qu'un déficit dans les tâches nécessitant l'intégrité du CPF (Kolb, 1984).

Enfin, Sawaguchi et Goldman-Rakic (1991) ont démontré que l'administration locale d'antagonistes  $D_1$  dans le CPF s'accompagne chez le singe d'erreurs et d'une augmentation de latence lors de tâches oculomotrices avec délai de réponse nécessitant l'implication de la mémoire opérationnelle.

L'ensemble des évidences présentées ci-haut montrent que les projections mésocorticales à DA sont impliquées dans le processus de distinction entre les stimuli significatifs nécessitant une réponse spécifique de l'individu et les stimuli de moindre importance (White, 1996). Le mécanisme permettant cette distinction entre les stimuli significatifs ou non résiderait dans la capacité des cellules à DA de

modifier leur mode de décharge et de moduler de ce fait l'activité du CPF. Cette observation sera discutée plus loin.

### 1.1.2.2 Locomotion et système mésolimbique

La locomotion est un des comportements les plus importants contrôlés par le système mésolimbique. On distingue deux types d'activités motrices dans les études sur la locomotion. L'activité spontanée est celle qui est propre à l'animal tandis que l'activité stimulée est provoquée par l'expérimentateur, souvent au moyen d'injection de substances influençant la locomotion. Nous verrons plus tard l'importance de cette distinction.

Il existe plusieurs types de méthodes pour mesurer de façon automatisée ou non le niveau d'activité locomotrice, mais les plus utilisés sont le champs ouvert et le couloir circulaire.

*Tableau 1*

Emplacement	Type de lésion	Activité spontanée	Fx AMPH	Fx APO
Contrôle		=	+	=/+
ATV	RF	+	=	-
ATV + NAcc	RF + 6-OHDA	=	-	+
ATV ou NAcc	↑ 6-OHDA	-	=	+
ATV ou NAcc	↓ 6-OHDA	+	-	+

*Synthèse des observations du comportement locomoteur chez le rat suivant une stimulation ou une inhibition du système méso-accumbens.*

La majorité des études sur la locomotion ont été réalisées à l'aide de lésions du système mésolimbique, soit au niveau de l'ATV, soit du NAcc (voir tableau 1).

Deux variables indépendantes sont particulièrement importantes lorsqu'on veut mesurer les effets des lésions sur la locomotion: il s'agit du taux de diminution des

cellules à DA produit par la lésion et de l'emplacement de celle-ci. D'une part le taux de diminution de la DA est directement lié à l'importance de la lésion et est responsable de l'apparition du comportement lésionnel. En effet, une lésion insuffisante permettra une compensation par les cellules restantes (Schwartzing et Hudson, 1996). D'autre part l'emplacement de la lésion détermine le type de comportement lésionnel observé. La lésion peut être bilatérale ou unilatérale. Une lésion bilatérale de l'ATV provoque un comportement symétrique, plus particulièrement une hypomotricité générale ne montrant aucune tendance latérale, tandis que la lésion unilatérale fera en sorte que l'animal tournera en direction du côté de la lésion (i.e. comportement ipsiversif), montrant ainsi une hypomotricité localisée uniquement du côté lésé.

Pour obtenir des lésions spécifiques de l'ATV, on utilise soit l'injection intracérébrale de 6-OHDA précédée de l'administration d'un bloqueur de recapture de la norépinéphrine (NE), soit l'application d'un courant électrique dans la structure, nommée lésion par radiofréquence (RF). Ces deux types de lésions produisent des déficits de locomotion différents, autant au niveau des comportements de locomotion stimulés que des comportements spontanés (Koob et al., 1981).

L'injection d'amphétamine (AMPH) bloque la recapture de la DA et en facilite la libération; conséquemment l'AMPH augmente les niveaux extracellulaires de DA (Schwartzing et Hudson, 1996). Par ces propriétés l'administration d'AMPH permet donc également de déterminer l'état de la neurotransmission à DA suite à une lésion. En effet, alors que chez l'animal intact on observe une augmentation de la locomotion directement proportionnelle à la dose de AMPH administrée par voie

périphérique, l'animal lésé montre une potentialisation du comportement de rotation (Ungerstedt et Arbuthnott, 1970) (voir tableau 1). Ce dernier effet est le résultat de l'augmentation de la différence hémisphérique des niveaux de DA par l'AMPH, n'agissant que du côté intact (Ungerstedt et Arbuthnott, 1970).

L'injection d'apomorphine (APO) donne une indication sur la sensibilité des récepteurs à DA suite à une lésion. Cette injection ne produit pas d'effet significatif sur la locomotion chez l'animal intact mais produit un effet particulier chez l'animal lésé unilatéralement. En effet, l'injection de APO élimine le comportement de rotation ipsiversive induit par la lésion et produit même l'apparition d'une rotation contraversive à doses élevées (Ungerstedt, 1971). Cet effet est dû à l'activation des récepteurs DA du même côté que la lésion, devenus hypersensibles suite au manque de stimulation provoqué par la destruction des fibres afférentes. (Ungerstedt, 1971 et voir Schwartzing et Hudson, 1996).

Koob et al. (1981) ont montré qu'une lésion RF bilatérale de l'ATV produit un état d'hyperactivité, une absence des effets locomoteurs d'AMPH et une forte augmentation d'activité motrice suite à l'administration d'APO. L'état d'hyperactivité résultant de la lésion seule a été annulé par une lésion subséquente du NAcc par la 6-OHDA. Une lésion par forte dose de 6-OHDA (4µg/µl) de l'ATV ou du NAcc induit un état d'hypoactivité, un blocage des effets locomoteurs d'AMPH et une forte augmentation d'activité motrice suite à l'administration de APO. Par contre, une lésion par faible dose de 6-OHDA (2µg/µl) de l'ATV produit une hausse d'activité spontanée, un blocage des effets moteurs d'AMPH et une potentialisation des effets moteurs de l'APO.

En considérant chacun des événements séparément, la différence d'effet entre la lésion RF et la lésion chimique peut être due au fait que la lésion RF est neuroanatomique, et donc peut: a) avoir laissé intact une partie du système, ou b) être le résultat d'un système de contrôle non-DA de la locomotion encore mal défini. Ce système de contrôle, probablement peptidergique, serait formé de fibres de passage dans l'ATV, lesquelles seraient détruites par les lésions RF mais non-affectées par les lésions neurochimiques au 6-OHDA (Koob et al., 1981).

L'instigation de l'état d'hypoactivité lors de la lésion 6-OHDA du NAcc suite à la lésion RF de l'ATV montre bien que la présence de DA au NAcc est un facteur déterminant du taux d'activité locomotrice chez le rat.

Il est important de mentionner que les effets des lésions sur le comportement locomoteur ne sont pas dus à l'intervention du système nigrostrié, puisque les lésions spécifiques de ce système par les méthodes RF et 6-OHDA ne produisent pas l'effet de rotation (Galey et al., 1977), ni la dualité hypo/hyperactivité (Koob et al., 1981).

#### 1.1.2.3 Activité cellulaire de l'ATV à la base des comportements

Les premières études électrophysiologiques de l'ATV ont été réalisées à l'aide de la méthode d'enregistrement extracellulaire, méthode considérée comme indirecte. Elle consiste à positionner une électrode d'enregistrement dans l'ATV et à mesurer les variations de potentiels dans le d'une cellule.

Ces premières études ont révélé que le potentiel d'action généré par les cellules DA de l'ATV se distingue des potentiels d'action générés par d'autres types

de cellules. Ces caractéristiques sont: 1) une forme bi- ou triphasique, avec un segment initial positif; 2) une longue durée (2-5 ms); 3) un taux de décharge irrégulier et lent (<10 Hz) ou en bouffée; 4) une inhibition du taux de décharge suite à l'injection de basses doses d'agonistes DA ou l'application iontophorétique de DA (Bunney et al., 1973a,1973b; Wang, 1981a; Aghajanian et Bunney, 1977; Guyenet et Aghajanian, 1978). On a confirmé plus tard par les méthodes d'enregistrement intracellulaire et d'identification histochimique que les cellules montrant ces caractéristiques étaient bien DAergiques (Grace et Bunney, 1980, 1983).

Le mode de décharge des cellules DA est particulièrement intéressant puisqu'il semble être lié directement au comportement. En effet, on a observé chez le rat que les cellules DA pouvaient passer d'un mode de décharge tonique à un mode en bouffée (Freeman et Bunney, 1987) et que ce changement de mode survenait lorsque l'animal était exposé à un stimulus nécessitant une réponse de l'organisme (Miller et al., 1981). Plus récemment, on a montré que les cellules DA de l'ATV d'un animal exposé à la nouveauté déchargent en bouffée (Schultz, 1992). Ces observations sont particulièrement vraies quand le stimulus est une récompense primaire (nourriture, eau) présentée de façon imprévisible (Mirenowicz et Schultz, 1994).

À la lumière de ces observations on peut identifier deux fonctions de la modification du mode de décharge des cellules DA de l'ATV. La première fonction est d'identifier et de discriminer les stimulations importantes pour l'animal et la seconde est de percevoir les modifications de l'environnement. Ces fonctions servent à signaler aux structures post-synaptiques la nécessité de traiter ces

informations de façon prioritaire et de stimuler la formation de nouvelles stratégies face à une modification de l'environnement.

Malgré le fait qu'ils soient composés tous les deux de neurones à DA, les systèmes mésocortical et mésolimbique présentent des différences significatives. Ainsi, on a observé que le système mésocortical avait un taux de décharge basal plus élevé et une activité en bouffée plus fréquente que le système mésolimbique. De plus, le système mésocortical est peu ou pas sensible à l'administration de DA ou d'agonistes DA au voisinage de ses corps cellulaires (Chiodo et al., 1984; White et Wang, 1984a).

Ces différences sont dues au fait que le système mésocortical est dépourvu d'autorécepteur somatodendritiques de type  $D_2$ . Ces récepteurs sont responsables du contrôle du taux de décharge de la cellule (Chiodo et al., 1984). L'absence des autorécepteurs  $D_2$  soulève encore la controverse puisque les méthodes d'investigation disponibles à ce jour ne permettent pas d'éliminer certains éléments perturbateurs, tels le stress et l'administration d'anesthésique (Roth et Elsworth, 1995), connus pour modifier l'activité des neurones DA (Thierry et al., 1968, 1976 ; Kelland et al., 1990).

De plus, il existe une différence entre les systèmes mésocortical et mésolimbique en ce qui a trait aux autorécepteurs  $D_2$  terminaux. La fonction classique de ces autorécepteurs est de contrôler le taux de libération et la synthèse de DA. Or, les cellules DA de l'ATV innervant le CPF sont munies de récepteurs capables de moduler le taux de libération, mais qui n'exercent aucun contrôle sur la synthèse de DA (Chiodo et al., 1984). Puisque l'activation des récepteurs  $D_2$



terminaux module la libération et la synthèse de la DA, le taux de renouvellement de la DA est plus élevé dans le système mésocortical que dans le système mésolimbique (Bannon et al., 1983).

La quantité de DA libérée par les neurones est en majeure partie fonction du taux de décharge. En effet, Bean et Roth (1991) ont montré un lien direct entre la fréquence de stimulation des neurones DA et les niveaux de DA extracellulaires libérés dans le CPF. Cette même étude a aussi montré que le mode de décharge en bouffée induisait une plus grande libération de DA que les décharges toniques (Bean et Roth, 1991). Par contre, il existe également une libération DAergique indépendante du taux de décharge. Cette libération est somatodendritique et elle ne varie pas lors des modifications de taux ou de mode de décharge de la cellule (Kalivas et Duffy, 1991; Klitenick et al., 1992).

### 1.1.3 Effets de la stimulation des récepteurs à DA sur la taux de décharge des cellules DA de l'ATV

L'administration d'antagonistes des récepteurs  $D_1$  (typiquement le SCH 23390) induit une augmentation du taux de décharge des cellules DA du mésencéphale (Mereu et al., 1985). Puisqu'au niveau de l'ATV les récepteurs  $D_1$  sont situés sur les terminaisons des interneurones GABA (voir figure 1) et non sur les corps cellulaires des cellules à DA elles-mêmes, cette augmentation est sans doute due à l'inhibition de l'input inhibiteur qu'exercent ces interneurones sur la cellule DA de l'ATV. Par ailleurs, l'administration d'agonistes des récepteurs  $D_1$  (typiquement le SKF 38393) n'induit pas de modification du taux de décharge des

cellules Da de l'ATV (Mereu et al., 1985). La raison de cette inaction reste à être identifiée.

La stimulation des récepteurs  $D_2$  par l'administration systémique de ses agonistes (APO, DA) induit une diminution du taux de décharge (Grace et Bunney, 1983, 1985b), tandis que l'action des antagonistes (halopéridol par exemple) provoquera une augmentation du taux de décharge des cellules DA de l'ATV (Chiodo et Bunney, 1983, 1985). Ces effets sont attribuables à l'occupation de l'autorécepteur  $D_2$  somatodendritique, lequel est responsable entre autre du contrôle de la fréquence de décharge des cellules DA de l'ATV.

Il existe un phénomène électrophysiologique intéressant et particulier lorsqu'on enregistre une cellule DA de l'ATV suite à l'administration d'un antagoniste  $D_2$ . En effet, dans certains cas, il est possible d'observer une séquence caractérisée par une excitation suivie d'une forte inhibition qui culmine en ce qui est connu sous le nom de blocage par dépolarisation.

Le blocage par dépolarisation est la conséquence du blocage des récepteurs  $D_2$  somatodendritiques. Cet état d'inactivation se définit par une dépolarisation tellement élevée de la membrane que le seuil de déclenchement de potentiel d'action est dépassé. Conséquemment, la cellule ne peut plus générer de potentiel d'action, rendant ainsi la cellule silencieuse. On a montré que cette inactivation était le résultat d'une forte dépolarisation puisque l'activité cellulaire reprend après l'administration périphérique d'agents hyperpolarisants, tels le GABA ou l'APO (Bunney et Grace, 1978; White and Wang, 1983). Par exemple, un traitement chronique avec un antagoniste  $D_2$  tel l'halopéridol induit une diminution significative

du nombre de cellules DA spontanément actives (Bunney et Grace, 1978; White and Wang, 1983); ce phénomène est renversé par l'administration aiguë d'un agoniste D<sub>2</sub>. Le blocage par dépolarisation peut également être induit par l'administration aiguë d'un antagoniste D<sub>2</sub> et renversé par des molécules hyperpolarisantes (Hand et al., 1987) administrées de façon aiguë.

## 1.2 LE GAMMA-HYDROXYBUTYRATE: PRÉSENTATION ET UTILISATION

Le GHB est un acide gras à chaîne courte possédant des propriétés dépressives sur le SNC. Il fut synthétisé pour la première fois par Laborit (1960) afin d'obtenir un analogue du GABA qui traverserait la barrière hémato-encéphalique et qui pourrait être utilisé comme anesthésique. Trois caractéristiques firent que le GHB ne put être utilisé comme anesthésique général. D'une part, on a observé que le GHB produit un état d'anesthésie caractérisé par une dissociation entre l'électroencéphalogramme (EEG) et le comportement : l'EEG montre des ondes lentes, associées normalement aux stades profonds du sommeil ou au coma alors que le patient est capable de répondre aux stimulations extérieures (Laborit et al., 1960; Hayashi, 1967; Metcalf et al., 1966). D'autre part on a démontré que le GHB ne possède pas de propriété analgésique (Vickers, 1969). Enfin, bien que sa mise en action soit relativement rapide, les effets comportementaux se manifestant 4 à 6 minutes après l'administration chez le rat (Walters et Roth, 1972), sa durée d'action est trop brève. En effet, la demi-vie plasmatique du GHB est de 60 à 90 minutes chez le rat (Roth et Giarman, 1966) et l'humain (Ferrara et al., 1992). L'utilisation du GHB a donc rapidement été limitée aux chirurgies où les réflexes

doivent être présents, tels les accouchements et les chirurgies ophtalmiques (Vickers, 1969; Smith et al., 1972)

La découverte de la présence endogène du GHB dans le cerveau (Bessman et Fishbein, 1963; Fishbein et Bessman, 1964) a donné un élan additionnel à la recherche sur cette molécule, persistant encore de nos jours. Dans les prochains paragraphes nous allons revoir plusieurs des caractéristiques du GHB dans le SNC, notamment ses effets biochimiques, électrophysiologiques et comportementaux.

### 1.2.1 Le GHB comme neurotransmetteur

Dès la découverte de sa présence endogène on s'est questionné sur la possibilité que le GHB soit un neurotransmetteur. Le lecteur trouvera ci-dessous les critères les plus couramment utilisés pour déterminer si une molécule est un neurotransmetteur et comment le GHB répond à celles-ci (Maitre et Mandel, 1984).

1.2.1.1 *La molécule doit être présente sous forme séquestrée, préférablement en vésicules du côté présynaptique.* Il fut mis en évidence par la technique de fractionnement que le GHB est bel et bien présent dans le cytosol en grande concentration et dans la terminaison axonale (en plus faible concentration) (Snead, 1987). La séquestration du GHB en vésicule a été mise en évidence par la technique de microscopie fluorescente (Aghajanian et Roth, 1970)

1.2.1.2 *L'application exogène de la molécule dans la région synaptique doit reproduire l'effet d'un phénomène synaptique de neurotransmission.* Ce critère a été vérifié lors de plusieurs types d'expérimentation, *in vivo* et *in vitro*. On a observé par exemple que l'administration de GHB en grande concentration hyperpolarise des

neurones en culture prélevés dans le cervelet, la moelle épinière et le mésencéphale. Dans une expérience *in vivo* cette fois, l'application de 0,5 M de GHB par iontophorèse dans le voisinage immédiat de cellules nigrales identifiées par stimulation ipsilatérale du striatum comme étant DAergique a induit une diminution significative du taux de décharge de ces cellules (Olpe et Koella, 1979). Dans un autre type d'expérience, l'administration de GHB en faible concentration (300-600  $\mu$ M) au bain de culture a augmenté considérablement (jusqu'à 330%) les niveaux *in vitro* de guanine monophosphate (GMP) cyclique (molécule agissant comme second messenger) dans des tranches d'hippocampe (Vayer et Maitre, 1989). Ces résultats montrent bien que le GHB agit comme un neurotransmetteur dans le SNC.

1.2.1.3 *Il doit y avoir un mécanisme de synthèse pour la molécule; les précurseurs et les enzymes doivent être présents présynaptiquement.* L'enzyme principale spécifique à la formation du GHB, la semi-aldéhyde succinique réductase spécifique, a été localisée dans le cytosol et plus particulièrement dans les terminaisons nerveuses (Rumigny et al., 1980, 1981). La semi-aldéhyde succinique réductase spécifique est présente dans plusieurs sites tels que l'hypothalamus, le septum et le cervelet (Tabakoff et Von Wartburg, 1975; Anderson et al., 1977; Vayer et al., 1987; Maitre et Mandel, 1984; Rumigny et al., 1981).

1.2.1.4 *Il doit y avoir un mécanisme d'inactivation de la molécule, sous la forme d'un enzyme de dégradation, d'un système de recapture en position présynaptique, ou d'une interaction avec des éléments gliaux adjacents.* Un système de recapture à

haute affinité spécifique au GHB a été identifié (Hechler et al., 1985; Benavides et al., 1982).

*1.2.1.5 La présence de sites de liaison spécifiques à la molécule doit être observée.*

On a identifié des sites de liaison à haute et faible affinités spécifiques au GHB. Ces sites de liaison sont positionnés principalement au niveaux des terminaisons axonales et ce, aussi bien chez le rat (Maitre et al., 1983a, 1983b; Maitre et Mandel, 1984; Hechler et al., 1991; Vayer et al., 1987) que chez l'humain (Snead et Liu, 1984). Il semble exister deux sites de liaisons distincts, soit de haute et basse affinité, mais les sites à haute affinité peuvent la perdre dans certaines conditions expérimentale, telles le lavage des membranes et l'ajout de molécules de protection (Maitre, 1997). Comme l'étude des récepteurs à GHB est à un stade peu avancé, le récepteur n'a pas encore été cloné et sa pharmacologie demeure inconnue.

*1.2.1.6 La disponibilité de la molécule doit être régie par un système de libération électrosensible contrôlé par le calcium.* On a identifié un mécanisme de libération du GHB lié à l'activation de canaux calciques par une stimulation électrique (Maitre et al., 1983b; Maitre et Mandel, 1984).

En conclusion, ces évidences nous permettent d'affirmer que le GHB est bel et bien un neurotransmetteur. Le tableau 2 résume la distribution des sites de synthèse, de liaison et de recapture du GHB dans le cerveau.

Tableau 2 Distribution des sites de synthèse, de liaison et de recapture du GHB dans le cerveau.

<u>Site de synthèse</u>	<u>Région par ordre d'importance</u>
Rumigny et al. (1981)	Cervelet, septum, hypothalamus.
Maitre et Mandel (1984)	Hypothalamus.
Vayer et al. (1987)	Hypothalamus, septum, cervelet.
 <u>Site de liaison</u>	
Maitre et Mandel (1984)	Bulbe olfactif, striatum, hippocampe, cortex préfrontal.
Snead et Liu (1984)	Hippocampe, cortex.
Vayer et al. (1987)	Hippocampe, cortex fronto-pariétal, septum.
Hechler et al. (1991)	Hippocampe, cortex, striatum.
Hechler et al. (1992)	Cortex, amygdale, septum, noyaux gris centraux, substance noire, aire tegmentale ventrale, thalamus.
 <u>Site de recapture</u>	
Benavides et al. (1982)	Striatum, hypothalamus, cortex frontal, cervelet.
Hechler et al. (1985)	Striatum.

### 1.2.2 Les effets physiologiques du GHB

Il faut d'abord mentionner qu'une grande confusion a régné dans la littérature quant aux effets du GHB. Cette confusion est née du fait qu'on a longtemps considéré l'administration du précurseur gamma-butyrolactone (GBL) comme étant équivalente à celle du GHB parce qu'on croyait que le GBL n'avait pas d'effets en tant que tel. Or, nous savons maintenant que ce n'est pas vrai; le GBL possède des capacités qui lui sont spécifiques par rapport au GHB. Voici trois exemples: a) l'absorption du GBL est plus rapide que celle du GHB (Arena et Fung, 1980); b) le GBL augmente la concentration plasmatique du dioxyde de carbone au moment de l'administration et produit un état d'acidose métabolique persistant durant toute la période d'exposition du sujet au GBL tandis que le GHB ne le fait pas (MacMillan, 1978); c) le potentiel épiléptogène de GBL est plus important que celui du GHB (Snead, 1991). Toutes ces différences nous poussent à considérer le GBL comme un composé différent du GHB.

On peut diviser la littérature sur le GHB selon la dose utilisée. On sait qu'il existe des récepteurs à haute et basse affinités pour cette molécule (voir plus haut), ce qui implique que les faibles doses de GHB vont activer exclusivement les récepteurs à haute affinité alors que les fortes doses vont activer les deux types de récepteurs. La revue de littérature qui suit montrera que le GHB a des effets physiologiques différents et parfois même opposés selon qu'une faible ou forte dose a été utilisée.



### 1.2.2.1 Les effets biochimiques du GHB

Les résultats décrits ci-dessous ont été obtenus suite à l'administration de GHB par voie centrale ou périphérique. Il est à noter que dans le cas d'une administration périphérique, le mode i.p. et équivalent au mode i.v.

Les premières expériences furent réalisées avec des doses élevées dites hypnotiques, soit de l'ordre de 100 à 500 mg/kg i.p. ou i.v. Les expériences utilisant de faibles doses (10-25 mg/kg) sont rares et relativement récentes: elles furent rendues nécessaires par le fait que les effets thérapeutiques ont été observés chez l'humain avec de telles doses (voir plus loin).

Les effets biochimiques du GHB les plus marqués se situent dans les structures riches en terminaisons à DA par rapport aux autres systèmes de neurotransmetteurs. En effet, l'administration de doses élevées de GHB augmente les niveaux intracellulaires de DA au niveau du CPF et du striatum (Gessa et al., 1966; Roth et Suhr, 1970; Aghajanian et Roth, 1970; Roth, 1987). Il est intéressant de noter que cette augmentation dépasse les niveaux attendus par une simple accumulation et implique une augmentation de la synthèse de DA provoquée par l'activation de son enzyme de conversion, la tyrosine hydroxylase (Roth et Suhr, 1970; Walters et Roth, 1972; Morgenroth et al., 1976). Ce phénomène d'accumulation est dû au fait que le GHB cause un arrêt de l'activité de décharge des neurones à DA, ce qui fait perdre à la tyrosine hydroxylase son affinité pour la DA. La perte d'affinité pour le produit final induit une plus grande sensibilité pour les substrats et cofacteurs, augmentant ainsi la synthèse de DA (Morgenroth et al., 1976). On croit que cette perte d'affinité est due à la faible concentration de calcium

intracellulaire induite par un arrêt de l'activité de décharge (Roth et al., 1975; Morgenroth et al., 1976) puisque la restauration de la libération synaptique de DA par stimulation électrique des voies afférentes annule l'effet d'accumulation du GHB et maintient l'activité de la tyrosine hydroxylase à un niveau normal (Murrin et Roth, 1976).

À cause de leurs propriétés dépressives similaires, on a longtemps considéré le GHB comme un sous-produit du GABA. Or, plusieurs indices nous permettent de distinguer hors de tout doute ces deux molécules:

Premièrement, nous savons que le GABA n'est pas la seule source de GHB endogène (Roth, 1970; Nelson et al., 1981; Snead et al., 1982). En effet, il semble que le 1,4-butanediol soit une autre source métabolique pour le GHB. Cette dernière étant présente de façon endogène dans le cerveau et le foie (Snead et al., 1982; Barker et al., 1985), structures où on retrouve de grandes concentrations de GHB.

Deuxièmement le GHB ne se lie peu ou pas aux récepteurs GABA. En effet, on a observé que le GHB ne potentialise pas les effets de l'activation des récepteurs GABA-A (Biggio et al., 1992). On sait aussi que l'administration d'agonistes et d'antagonistes GABA-A ne modifie pas la liaison du GHB sur ses récepteurs (Snead et Liu, 1984).

Snead et Liu (1993) ont également montré que le GHB n'agit pas sur les récepteurs GABA-A pour produire les effets épileptogènes qu'on observe suite à l'administration de hautes doses de GHB. On a en effet observé que l'administration

de muscimol, un agoniste GABA-A, n'a pas empêché les effets épileptogènes de se produire.

Les effets du GHB sur les récepteurs de type GABA-B sont plus complexes. En effet, on a démontré que le GHB n'est pas compétitif avec un agoniste classique des récepteurs GABA-B, le baclofen (Hill et Bowery, 1981). Toutefois des études récentes semblent montrer que le GHB serait un agoniste très faible mais sélectif des récepteurs GABA-B à une concentration élevée (100  $\mu$ M) (Xie et Smart, 1992; Mathivet, et al., 1997).

La mise en évidence de la conversion du GHB en GABA par Vayer et al. (1985) a fait naître un autre débat sur les effets GABAergiques du GHB. On a en effet commencé à se questionner sur la spécificité de l'effet GABAergique du GHB: ces effets sont-ils le résultat de l'activation des systèmes GABA par le GHB lui-même, ou ce dernier est-il transformé en GABA, qui lui causerait les effets GABAergiques observés? On a tenté de répondre à cette question en bloquant la conversion du GHB en GABA en inhibant l'enzyme de conversion, la GHB déshydrogénase.

On observe des effets contradictoires quand on provoque l'inhibition de la GHB déshydrogénase lors des tests de liaison. Certains ont observé une inhibition totale des effets GABAergiques par le GHB dans ces conditions (Hechler et al., 1997). D'autres montrent que cette inhibition de la conversion n'a pas d'influence sur les effets GABAergiques par le GHB (Mathivet et al., 1997). Les deux expériences citées ci-haut utilisent les mêmes inhibiteurs de conversion, le

valproate et l'éthosuximide, à la même concentration (1-5 mM). Ces contradictions restent à être éclaircies.

Les autres systèmes de neurotransmetteurs semblent peu sensibles au GHB. Les niveaux cérébraux de sérotonine (5-HT) et de norépinéphrine (NE) demeurent inchangés suite à l'administration de GHB même à forte dose (Gessa et al., 1966). Certains ont toutefois montré une augmentation des niveaux de 5-HT dans le striatum et le système mésolimbique lors de l'administration de haute dose de GHB (400-500 mg/kg) (Spano et Przegalinski, 1973; Waldmeier et Fehr, 1978; Hedner et Lundborg, 1983; Miguez et al., 1988). Les niveaux absolus de 5-HT ne sont pas significativement augmentés, mais l'accumulation tissulaire de 5-HTP (un précurseur de la 5-HT) et les niveaux de 5-HIAA (un métabolite de la 5-HT) sont fortement augmentés lors de l'administration de GHB. Ce phénomène est fort probablement dû à la modification du taux de renouvellement du 5-HT par le GHB. La stimulation du taux de renouvellement de la 5-HT peut être le résultat de deux phénomènes. Maitre (1997) propose que cette augmentation est le résultat d'une plus grande disponibilité du tryptophane, précurseur de la 5-HT. Par contre il faut noter que cet effet pourrait également être indirect puisque les doses utilisées sont élevées. Le mécanisme exact de l'influence du GHB sur le métabolisme de la 5-HT demeure mal compris.

Les évidences concernant les effets du GHB sur l'acétylcholine (ACh) sont à première vue contradictoires. En effet, une première étude a prétendu qu'une dose de 750 mg/kg de GHB induit une augmentation de 44% des niveaux d'ACh dans le cortex et le mésencéphale chez le rat (Giarman et Schmidt, 1963). Il s'est avéré

plus tard que c'est le GBL (tel qu'utilisé par Giarman et Schmidt) et non le GHB qui produit des effets dépressifs sur les niveaux d'ACh dans le striatum, le cortex et l'hippocampe (Ladinsky et al., 1983). Nous savons par contre que même si le GHB lui-même ne provoque pas l'augmentation de niveaux d'ACh en tant que tel, il a la capacité de potentialiser une augmentation induite par l'administration de neuroleptiques tels la clozapine et la chlorpromazine (Stadler et al., 1974; Laborit et al., 1960). Nous discuterons des répercussions de cette observation lors de l'exposé sur le sommeil.

Au niveau biochimique, le système à DA semble donc particulièrement sensible à l'administration de GHB.

#### 1.2.2.2 Les effets électrophysiologiques du GHB

L'administration systémique de GHB en doses élevées (150-400 mg/kg), connue pour induire une augmentation de la synthèse de DA (voir plus haut), provoque paradoxalement une inhibition de l'activité spontanée des neurones à DA de la substance noire (SN) et dans l'ATV du rat (Walters et al., 1972; Roth et al., 1973, 1980, 1987). Une seule étude, utilisant des rats non-anesthésiés, a plutôt observé un effet excitateur sur les cellules DA lorsque le GHB est administré en haute dose (Diana et al, 1991). Le fait que les animaux aient été à la fois conscients et en contention a probablement contribué à ce résultat contradictoire. En effet la contention pratiquée sur l'animal conscient impose une situation de stress que l'animal ne peut contrôler, et il a été démontré qu'un tel stress stimule l'activité des

neurones à DA (Thierry et al., 1968). L'effet des faibles doses de GHB (10-25 mg/kg) n'a pas encore été étudié et constitue le corps du présent mémoire.

Au niveau des effets du GHB sur les cibles post-synaptiques des systèmes à DA ascendants, seul le CPF du rat a été étudié. Il a d'abord été montré que l'administration par microiontophorèse de GHB (0,5 M; courant de 80 nA durant 30 secondes) inhibe l'activité de décharge des neurones du néocortex (Olpe et Koella, 1979). L'administration i.p. diminue également cette activité, avec des doses de 200-300 mg/kg (Olpe et Koella, 1979). Plus récemment, il fut observé que le GHB agissait sur le CPF selon une courbe dose-réponse. En effet, les fortes doses provoquent l'inhibition réversible de l'activité de décharge des neurones, tandis que les faibles doses induisent une excitation (Godbout et al. 1995). De plus, il fut observé que l'effet d'une basse dose était lié directement à l'activation spécifique des récepteurs à GHB puisque cet effet était bloqué par le NCS-382, antagoniste spécifique de ces récepteurs. Les effets des hautes doses n'étaient pas bloqués par le NCS-382 (Godbout et al., 1995).

Les neurones des autres systèmes de neurotransmission sont peu sensibles à l'administration de GHB. En effet, les cellules noradrénergiques du *locus coeruleus* ne diminuent pas ou très peu d'activité lors de l'administration d'une dose aussi élevée que 1200mg/kg i.v. de GHB (Roth et al., 1973). L'effet du GHB sur l'activité cellulaire du raphé n'a jamais été évalué. On peut tout de même noter que le GBL en dose de 200 à 600 mg/kg i.p. ou i.v. induit une inhibition partielle dans 25% des cellules enregistrées (Roth et al., 1973).

Le GHB semble donc préférentiellement modifier l'activité des cellules à DA, et ce peu importe la dose.

#### 1.2.2.3 Les effets endocriniens du GHB

Le GHB possède la capacité de modifier l'activité endocrinienne, notamment l'hormone de croissance (HC) et la prolactine (PRL) (Takahara et al., 1977). L'administration i.v. de 2,5 g de GHB (environ 40-50 mg/kg) chez l'humain provoque une augmentation importante de la concentration plasmatique de PRL 15 minutes après l'injection et de HC 30 minutes après l'injection. Puisqu'on sait que la sécrétion de PRL est directement inhibée par les neurones à DA (MacLeod, 1969; Kamberi et al., 1971; Takahara et al., 1974), on peut donc croire que la diminution de la libération de DA induite par le GHB (voir plus haut) est responsable de cette augmentation.

Dans le cas de la HC, l'explication la plus plausible est la suivante: on sait que le GABA facilite la libération de HC (Racagni et al., 1982), or le blocage des récepteurs à DA (par la pimozide) est capable d'inhiber cet effet (Cocchi et al., 1980). On peut donc croire que le blocage de la neurotransmission à DA par le GHB entraîne une désinhibition du GABA au niveau pituitaire, ce qui permettrait une augmentation de la libération de HC.

#### 1.2.2.4 Les effets du GHB sur le comportement et l'activité EEG

Le GHB pourrait être utilisé comme anxiolytique. En utilisant un test de performance sensible aux anxiolytiques (le *critical flicker frequency*) on a montré par

exemple que le GHB 10 mg/kg i.v. diminuait significativement la fréquence de clignotement perçue comme stable (Grove-White et Kelman, 1971a). Une étude récente a montré que le GHB en forte dose (50-250 mg/kg i.p.) pouvait également avoir un effet anxiolytique (Schmidt-Mutter et al., 1998), mais cet effet n'a pas été bloqué par le NCS-382 ce qui met en doute la contribution des récepteurs à GHB dans cet effet.

À forte dose (250-1000 mg/kg) le GHB induit un état de torpeur comportementale chez le rat (Laborit et al., 1960; Marcus et al., 1967 Hayashi, 1967; Metcalf et al., 1966), le chat (Jouvet et al., 1961), le lapin (Godbout et al., 1982), le singe (Snead, 1978), et l'humain (Laborit et al., 1964; Hayashi, 1967; Metcalf et al., 1966). Cet état de torpeur se traduit chez le rat par la diminution de l'activité motrice spontanée, la perte progressive du réflexe de redressement et de la sensibilité aux stimuli auditifs et tactiles sans toutefois affecter les sensations algiques (MacMillan, 1978). Les enregistrements EEG durant cette torpeur montrent une progression allant d'une hypersynchronisation intermittente jusqu'à la formation de pointes épileptiques et même au silence électrique. Une perte de conscience peut survenir si la dose dépasse 1000 mg/kg chez l'humain (Meltcalf et al., 1966).

L'administration du GHB à des doses élevées est parfois encore utilisée aujourd'hui comme modèle de l'épilepsie de type petit mal (Snead, 1988). Il n'existe pas d'étude avec le GHB en faibles doses.



#### 1.2.2.5 Autres effets physiologiques du GHB

L'administration du GHB induit des modifications de la température centrale chez le rat et l'humain. En effet, une dose de 10 mg/kg produit une augmentation de température corporelle aussi bien chez le rat que l'humain (Borbély et Huston, 1972; Godbout et al., 1993; Kaufman et al., 1990; Rosen et al., 1996). Une dose de l'ordre de 250-500 mg/kg produit une diminution de la température (Borbély et Huston, 1972; Godbout et al., 1993, Kaufmann et al., 1990; Laborit, 1964; Muyard et Laborit, 1977).

Le GHB a aussi de nombreux effets sur le métabolisme énergétique. Il diminue l'utilisation du glucose dans le cerveau, particulièrement au niveau de la matière grise (Wolfson et al., 1977) et contribue au maintien des niveaux énergétiques cérébraux en condition d'hypoxie (MacMillan, 1978).

#### 1.2.3 Utilisation thérapeutique du GHB

On utilise depuis déjà quelque temps le GHB comme agent thérapeutique dans certaines maladies. Ainsi, l'administration d'une faible dose de GHB (30 mg/kg p.o.) lors du coucher est utilisée pour traiter la cataplexie, un des symptômes diurnes de la narcolepsie (Broughton et Mamelak, 1979). La description du mode d'action sera faite plus loin.

On a récemment découvert que le GHB était également efficace dans le traitement de l'alcoolisme. En effet il réduit considérablement la consommation volontaire d'alcool chez l'humain et le rat (Biggio et al., 1992; Fadda et al., 1989) et contrôle les effets du sevrage chez ces mêmes espèces (Gallimberti et al., 1992;

Fadda et al., 1983, 1989). Cet effet est aussi observé pour le sevrage des opiacés (Gallimberti et al., 1993), probablement via l'action du GHB sur les systèmes DAergiques innervant le NAcc, structure responsable du mécanisme de récompense des drogues d'abus (Di Chiara et Imperato, 1988).

#### 1.2.4 Les effets du GHB sur le sommeil

On a observé à maintes reprises que le GHB exerçait une influence sur le sommeil (Borenstein et al., 1969; Roth et Suhr, 1970; Yamada et al., 1976; Mamelak et al., 1977; Hoes et al., 1980; Montplaisir et Barbezieux, 1980; Lapierre et al., 1990; Scrima et al., 1990; Matsuzaki et al., 1967; Girodias et al., 1996). Lorsqu'administré au moment du coucher à des doses faibles chez l'humain (25 à 50 mg/kg p.o.), le GHB provoque une diminution du délai d'apparition au SP et une augmentation de la quantité de sommeil lent profond (stades 3 et 4) au détriment du sommeil léger (stade 1).

L'augmentation du sommeil lent profond par le GHB fait l'objet d'une controverse. D'une part, certains croient que cette augmentation est le résultat d'une activation des mécanismes de contrôle du sommeil lent profond en tant que tel (Montplaisir et Barbezieux, 1980). D'autre part certains croient plutôt que cette augmentation n'est que le reflet de la stimulation des générateurs d'ondes EEG lentes (Borenstein et al., 1969). En appui à cette dernière hypothèse, on notera que des ondes EEG lentes apparaissent également en dehors du sommeil suite à l'administration de GHB (Metcalf et al., 1966).

Le GHB affecte également le SP. En effet, il fut observé que le GHB en faible dose (30-50 mg/kg p.o.) induit une diminution du délai d'apparition du SP chez l'humain (Lapierre et al., 1990; Scrima et al., 1990; Mamelak et al., 1977), le chat (Matsuzaki et al., 1976) et le rat (Girodias et al., 1996). Pour atteindre cet effet il faut cependant que l'organisme soit dans une condition où le SP est déjà facilité. Il faut en effet que le délai d'apparition du SP soit déjà court avant l'administration de GHB, comme c'est le cas dans la dépression (Mamelak et al., 1977), la narcolepsie (Broughton et Mamelak, 1979; Mamelak et al., 1977) ou chez les sujets sains enregistrés à un moment où la probabilité d'apparition du SP est déjà élevée (Lapierre et al., 1990). Les sujets normaux ou souffrant d'autres pathologies que celles mentionnées ci-haut (insomnies, troubles psychologiques bénins) ne montrent pas de diminution du délai d'apparition du SP sous GHB (Borenstein et al., 1969, Mamelak et al., 1977). Les espèces ne montrant pas toutes les composantes du SP conventionnel tel le lapin (Pivik et al., 1981) ne montrent pas de facilitation du SP par le GHB (Godbout et al., 1982). De plus fortes doses (plus de 250 mg/kg et plus) entraînent une augmentation de la durée de sommeil lent profond au détriment du SP (Mamelak et al., 1977).

L'effet thérapeutique du GHB dans la narcolepsie mérite plus d'explications. Le sommeil des narcoleptiques est entre autre caractérisé par une grande fragmentation et une désorganisation de sa périodicité. Or l'administration du GHB au moment du coucher (30-50 mg/kg p.o.) permet de consolider le sommeil des narcoleptiques en réduisant la fragmentation et en rétablissant un certain degré de périodicité (Broughton et Mamelak, 1979). Cette amélioration du sommeil nocturne

contribue à diminuer le besoin diurne de SP, d'où la disparition de la cataplexie et autres signes du SP durant le jour.

### 1.3 Retour sur les concepts importants

Nous avons vu que le GHB agissait sur des récepteurs spécifiques situés sur les terminaisons nerveuses. Nous savons aussi qu'il agit selon une courbe dose-réponse. Les effets du GHB les plus significatifs se produisent dans les champs terminaux des systèmes de neurotransmission à DA, notamment le CPF. Ainsi, nous avons vu qu'une forte dose de GHB inhibait la fréquence de décharge des cellules pyramidales du CPF tandis qu'une faible dose l'activait. La principale afférence DAergique du CPF provient de l'ATV et celle-ci y exerce une influence inhibitrice. Pour mieux comprendre ces phénomènes, nous avons décidé d'étudier l'influence d'une administration de GHB sur le taux de décharge des cellules DA de l'ATV.

## Hypothèses

### 2.1 Hypothèse 1

L'injection systémique d'une haute dose de GHB produira une augmentation d'activité des neurones DA de l'ATV.

### 2.2 Hypothèse 2

L'injection systémique d'une faible dose de GHB produira une diminution d'activité des neurones DA de l'ATV.

### 2.3 Hypothèse 3

Seuls les effets des faibles doses de GHB seront bloqués par l'administration du NCS-382.

## Méthode expérimentale

### 3.1 Procédure chirurgicale

Nous avons utilisé des rats Sprague-Dawley pesant de 250 à 400 grammes (Charles River Inc., St-Constant). Les rats étaient logés à 2 ou 3 par cage dans une salle prévue à cet effet et possédant un cycle lumière/obscurité de 12/12 heures; la période de clarté débutant à 6 heures. La nourriture et l'eau étaient disponibles *ad libitum*. Toutes les manipulations ont été réalisées durant la période de lumière.

Les animaux ont été anesthésiés à l'aide d'uréthane (1500 mg/kg i.p.). Des injections additionnelles (50 mg/kg i.p.) ont été réalisées au besoin pour maintenir l'état d'anesthésie. Ils ont ensuite été placés dans un appareil stéréotaxique de type Horsley-Clarke afin de procéder à la chirurgie. L'os crânien a été dénudé afin de rendre visible les sutures osseuses sagittale et coronales antérieure et postérieure, l'intersection de ces sutures formant les points de référence Bregma et Lambda respectivement. Une trépanation a été pratiquée au-dessus de l'emplacement de l'ATV afin d'exposer la surface corticale sans blesser la dure-mère. Les coordonnées stéréotaxiques ont été déterminées à l'aide de l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson (1986).

### 3.2 Enregistrement extracellulaire des neurones de l'ATV

La température corporelle du sujet a été maintenue constante à  $37 \pm 2$  °C à l'aide d'un tapis chauffant relié à une sonde anale. L'activité extracellulaire des neurones DA de l'ATV (4,8 à 5,3 mm postérieur à Bregma, 0,6 à 1,2 mm latéral à la suture médiane, et 7,5 à 8,5 mm sous la surface corticale) a été enregistrée au moyen d'une micropipette de verre (impédance *in vitro* 3 à 9 M $\Omega$  à 1000 Hz) remplie



d'une solution de NaCl 2M saturée de colorant Chicago Sky Blue à 4%. Le signal électrophysiologique a été amplifié puis transféré à un haut-parleur ainsi qu'à un oscilloscope. La nature DA de la cellule a ensuite été déterminée selon les critères classiques (voir page 16). Le signal a été séparé du bruit de fond au moyen d'une fenêtre électronique de discrimination, isolant ainsi les potentiels d'action générés par la cellule de l'activité générale de base. Ces résultats ont été transférés ensuite vers un ordinateur doté d'une carte de conversion analogique/digitale puis sur disque dur pour analyse ultérieure. La fréquence de décharge a été mesurée à l'aide d'histogrammes de fréquences où chaque colonne représente 10 secondes d'enregistrement.

### 3.3 Administration des drogues

Après un enregistrement de l'activité de base d'au moins cinq minutes, le GHB (pH 6,5, dissout avec de l'eau distillée) a été administré i.p. en doses de 10 mg/kg, 160 mg/kg ou 250 mg/kg. Certains sujets ont également été injectés avec le NCS-382 en dose de 10 mg/kg i.p. en conjonction avec la dose de GHB. Chaque sujet n'a reçu qu'une dose de GHB, et un seul neurone DA a été enregistré pour chacun des sujets testés.

### 3.4 Variables dépendantes

Les variables suivantes ont été compilées:

- 1) taux de décharge de base, permettant un auto-contrôle pour chaque sujet;

- 2) le délai entre le temps d'injection et un changement d'au moins 25% de l'activité de base, correspondant à trois fois l'erreur standard de la moyenne (e.s.m.);
- 3) l'importance de ce changement (exprimé en % de l'activité de base);
- 4) le délai d'apparition du changement maximal;
- 5) la durée de l'effet (i.e. du changement de 25% jusqu'au retour à l'activité de base  $\pm 10\%$ ).

Les résultats sont présentés sous la forme de moyenne  $\pm$  e.s.m.

### 3.5 Vérification histologique

À la fin de chaque expérience, le colorant Chicago Sky Blue a été éjecté par iontophorèse (8  $\mu$ A cathodal durant 20 min.). Le cerveau a ensuite été prélevé et conservé dans la formaline 10%. La localisation des sites d'enregistrement a été vérifiée sous microscopie lumineuse à partir de tranches coronales sériées de 20  $\mu$ m.

## Résultats

Effects of Gamma-hydroxybutyrate on Ventral Tegmental Unit Activity in the  
rat:  
Considerations on REM Sleep Control

Hugo Tremblay (1), Roger Godbout (1,2,4), Véronique Girodias (1),  
Martine Schmitt (3), and Jean-Jacques Bourguignon (3)

Running head: Effects of Gamma-hydroxybutyrate on VTA Unit Firing

SRO Category: 14. Neurophysiology - General

Current claim: Gamma-hydroxybutyrate decreases at high doses and  
increases at low doses the firing activity of dopaminergic  
neurons of the Ventral Tegmental Area in anesthetized rats

(1) Centre de biomédecine, Hôpital du Sacré-Coeur  
5400 Boul. Gouin ouest, Montréal (Québec) Canada H4J 1C5  
Tel.: + (514) 338-2222  
Fax: + (514) 338-2694

(2) Département de psychiatrie, Université de Montréal  
C.P. 6128, Succ. Centre-Ville Montréal (Québec) Canada H3C 3J7

(3) Laboratoire de Pharmacochimie moléculaire, UPR 421 du CNRS  
5, rue Blaise Pascal  
67084 Strasbourg Cedex France  
Tel.: + (33)(3) 88.67.68.08  
Fax: + (33)(3) 88.67.47.94

(4) Corresponding author:  
Roger Godbout, Ph.D.  
Centre de recherche, Hôpital du Sacré-Coeur  
5400, Boul. Gouin Ouest  
Montréal (Québec) Canada H4J 1C5  
Tel.: + (514) 338-2222, ext. 2460  
Fax: + (514) 338-2694  
Email: godboutr@crhsc.umontreal.ca

Abstract

The effect of gamma-hydroxybutyrate (GHB) administration on spontaneously active dopaminergic cells of the ventral tegmental area (VTA) was determined using extracellular single unit recordings in urethane-anesthetized rats. High doses (160-250 mg/kg, i.p.) of GHB reversibly decreased firing rate in 63,6% of the cells tested (n=11); remaining cells (36.4%) were unaffected. When the GHB receptor antagonist NCS-382 (10 mg/kg, i.p.) was co-administered with GHB at high doses, 50% of the cells became excited while remaining cells were unaffected. Of the 34 cells tested with GHB at low doses (10 mg/kg, i.p.), 21 (61.8%) changed their firing activity. Of these, 12 (57.1%) were excited, five (23.8%) were inhibited, and four (19.0%) were first excited then totally inhibited (E/I pattern). Out of the three E/I cells tested, two resumed their firing activity after apomorphine (50µg/kg s.c.), showing that they were in a state of depolarization inactivation. When NCS-382 (10 mg/kg, i.p.) was co-administered with GHB at low doses, only two of the seven cells tested (28,6%) changed their firing activity, both with excitations. We conclude that only low doses of GHB selectively activate GHB receptors. Mechanisms by which low doses of GHB facilitate REM sleep are discussed.

Key words:

Gamma-hydroxybutyrate, dopamine, mesolimbic, prefrontal cortex, REM sleep.

## **Introduction**

Gamma-hydroxybutyrate (GHB) is an endogenous fatty acid that acts as a neurotransmitter in the mammalian central nervous system (CNS) (Vayer et al., 1987; Maitre, 1997). Among other characteristics, low and high affinity states of the central GHB receptor were described (Maitre et al., 1983). GHB was first synthesized as an agonist of gamma-aminobutyric acid (GABA) that could readily cross the blood-brain barrier (Laborit, 1964). However, instead of significantly increasing GABA levels in the CNS, it was found that GHB selectively increased dopamine (DA) levels (Gessa et al., 1966). Indeed it was shown that the cessation of impulse flow in DA neurotransmission systems caused by GHB activates tyrosine hydroxylase (Roth, 1987). Given the effect of GHB on DA impulse flow, the drug was widely used as a tool to induce a reversible lesion of the dopaminergic nigro-striatal pathway in experimental studies of the Parkinson's disease models (Roth, 1987).

GHB has long been used as a sedative-hypnotic both in animals and humans and it has been shown that it can readily induce rapid eye movement (REM) sleep at least in three species: rats, cats, and humans (Girodias et al., 1996; Jouvet et al., 1961; Lapierre et al., 1990). Taken at bedtime GHB is an efficient treatment for cataplexy, a symptom related to the inappropriate daytime disinhibition of REM sleep muscle atonia in narcoleptics patients. It has been proposed that the therapeutic effect of this compound is achieved by consolidating nocturnal REM sleep, thus decreasing daytime pressure for REM sleep (Broughton and Mamelak, 1979).

The mechanism by which GHB interferes with normal and abnormal REM sleep physiology is still unknown. Available evidence, however, points to the limbic system as the preferential site of action of GHB (for a review, see Maitre, 1997). GHB synthesis, binding, and uptake sites are preferentially distributed in areas where DA neurons and terminal fields are found. Moreover, this system has been recently shown to be particularly important in the control of REM sleep in the canine model of narcolepsy-cataplexy (for a review, see Nishino and Mignot, 1997). For these reasons, we have chosen to characterize the effects of GHB in various sites of the meso-cortico-limbic system using clinically-relevant doses. In a first series of experiments, we studied the effects of various peripheral doses of GHB (5 to 320 mg/kg, i.p.) on the spontaneous firing activity of output neurons in the prefrontal cortex (PFC). We found that low doses of GHB increased the firing activity of PFC output neurons, while highest doses decreased it; only the effect of low doses were blocked by NCS-382, the selective GHB receptor antagonist (Godbout et al., 1995). These results suggested that only the effect of low doses of GHB on PFC neuronal firing could be attributed to a selective activation of GHB receptors.

The PFC is a major target of the ascending dopaminergic pathway originating from the ventral tegmental area (VTA) and PFC neurons are inhibited by DA release from VTA terminals (Godbout et al., 1991). Thus, in the present study, we investigated the effects of GHB at high and at low (i.e., REM sleep-inducing doses) on the firing activity of VTA cells bearing the electrographic characteristics of DA neurons. Moreover, we tested the selectivity of GHB effects by challenging these treatments with the specific GHB receptor antagonist NCS-382.

### **Material and method**

Male Sprague-Dawley rats weighing 250 to 400 g were used (Charles River, St-Constant, Canada). Rats were housed 2 to 3 per cage in a room with a 12:12 hour light/dark cycle (lights on at 06h00). Food and water were available *ad libitum*. Experiments occurred during daytime hours. Animals were anesthetized with urethane (1.5 g/kg i.p.; additional injections administered as needed) and were then mounted on a stereotaxic apparatus. Stereotaxic coordinates were determined according to Paxinos and Watson (1986). Body temperature was maintained throughout the experiments at 37°C with a thermostatically-regulated electrical heating pad. Extracellular single unit recordings of spontaneously active VTA neurons (4.8 to 5.3 mm posterior to bregma, 0.6 to 1.2 mm lateral to midline, and 7.5 to 8.5 mm below the cortical surface) were obtained using glass micropipettes filled with 4% Chicago Sky Blue dissolved in 2M NaCl solution (impedance 3 to 9 M $\Omega$  at 1000 Hz). Electrophysiological signal was amplified, displayed on an oscilloscope, separated from noise using a window discriminator and then fed to a computer. Spike frequencies were monitored on-line using 10 sec. bins histograms.

At the end of each experiment, Chicago Sky Blue was ejected from the recording electrode by iontophoresis (8  $\mu$ A cathodal, 20 min.). Localization of recording sites were verified on serial frozen sections (20  $\mu$ m) under light microscopic examination.

Prior to drug administration, rats were injected with the vehicle (1 ml/kg) and firing activity was monitored for at least five minutes; this was considered as the baseline. After baseline recording, GHB (pH 6.5, dissolved in distilled water) was administered i.p. at a dose of 10 mg/kg, 160 mg/kg, or 250 mg/kg, in a volume of 1 ml/kg. Each dose was



administered either alone or in conjunction with NCS-382 at a dose of 10 mg/kg i.p. (1 ml/kg). Each data point is based on the injection of one GHB dose to one rat while recording from one VTA neuron.

The following variables were measured: the delay from time of injection to a change of at least 25% of the baseline firing rate, the amount of maximum change (expressed as % of the baseline firing rate), the latency to maximum change, and the duration of the effect (from 25% change until return to baseline firing rate  $\pm 10\%$ ). We choose 25% of the baseline firing rate as a cut-off value since it corresponded to three times the standard error of the mean (S.E.M.) of the baseline firing rate.

#### Statistical analysis

Results are expressed as means  $\pm$  S.E.M. Contingency tables were constructed for all treatment levels. Results were compared using the  $\chi^2$  statistic, using the Fisher's Exact Test for 2x2 tables.

#### Results

A total of 58 neurons were recorded, all within the region of the VTA (see Figure 1). During baseline recording these cells displayed the electrographic characteristics of DA cells (Bunney et al., 1973; Chiodo et al., 1984): a long bi- or triphasic action potential (3-4 ms), a positive-going first segment, and a high-amplitude negative-going second segment (Figure 2). Firing rate was tonic in all but one bursting cell; activity ranged from 2,0 Hz to 8,7 Hz (mean =  $4,6 \pm 0,3$ ). NCS-382 did not have any effect of its own on VTA firing at 10 mg/kg ( $n = 6$ ).

**Insert Figure 1 about here**

**Insert Figure 2 about here**

Results are summarized in the table below. Seven (63.6%) of the 11 cells tested were sensitive to high doses of GHB (160, 250 mg/kg) while the remaining (all tested at 160 mg/kg) were unresponsive ( $p < .004$ ); high GHB doses produced an inhibition of firing in all responsive cells ( $p < .00001$ ).

At 10 mg/kg, GHB modified the firing in 61.8% of the 34 cells tested while the remaining 13 cells were unresponsive ( $p < .0001$ ). Three types of effects were noted at this dose: the majority of cells (57,1%;  $p < .0002$ ) responded by increasing their firing rate, five other cells decreased it while the remaining four cells showed an excitation/inhibition (E/I) pattern (Figure 3).

In order to document the possibility that E/I cells were in a state of depolarization inactivation (DI) (Hand et al., 1987), a low, i.e. pre-synaptic dose of apomorphine (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  s.c.) was injected during the inhibitory period in order to repolarize the cells ( $n=3$ ). Of these three cells, two resumed their firing activity shortly after the apomorphine injection, showing that they were indeed in a state of depolarization inactivation (see Figure 3). This phenomenon was replicated with a classical model of DI, i.e. using the injection of sulfated cholecystokinin octapeptide (CCK-8S, 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i.v.) (Skirboll et al., 1981). In this series of experiments, one of the 11 cells tested entered a state of depolarization inactivation and its firing activity was restored by apomorphine.

**Insert Figure 3 about here**

When NCS-382 was co-administered with a high GHB dose, the number of responsive cells was not statistically different from the condition where high GHB doses were given alone (50,0% vs. 63,6%, respectively). However, the nature of the response to high doses of GHB was reversed: the number of inhibited cells decreased from 100% to 0% and the number of excited cells increased from 0% to 100% ( $p < 0.008$ ).

The co-administration of NCS-382 and GHB 10 mg/kg significantly decreased the proportion of responsive cells compared to when GHB 10 mg/kg was given alone, falling from 61,8% to 22,3% ( $p < .05$ ). The nature of the response to the low dose of GHB was not changed, however: both responsive cells were excited by GHB 10 mg/kg.

### **Insert Table 1 about here**

#### **Discussion**

It is generally reported that the peripheral administration of high GHB doses produces a cessation of impulse flow in meso-telencephalic dopaminergic neurons together with a decreased release of DA in terminal fields of meso-cortico-limbic and nigro-striatal pathways (Roth, 1987). The present study shows that GHB displays a dose-related effect on VTA DA cell firing rate in the anesthetized rat: highest doses (160-250 mg/kg) produced a decrease of firing rate while low doses (10 mg/kg) induced an increase. These results are consistent with previous work on the effects of high and low doses of GHB on PFC unit firing (Godbout et al., 1995). The data is also congruent with previous work in conscious rats using the same dosages as in the present study: core body temperature was shown to decrease with high GHB doses and increase with low GHB doses (Kaufman et al., 1990;

Godbout et al., 1994), and REM sleep was shown to be facilitated only by low doses of GHB (Girodias et al., 1996).

#### The effects of high GHB doses on the firing activity of DA cells of the VTA

In our previous work on the effects of GHB on PFC firing activity, we showed that the inhibitory effects of high GHB doses was not reversed by NCS-382. It was thus concluded that the effects of GHB at high doses involved non-GHB mechanisms and that only low doses of GHB selectively activated GHB receptors. These results were in accordance with those of Endberg and Nissbrandt (1993) who showed that high doses of GHB inhibited the firing activity of substantia nigra DA cells firing; these authors further suggested that this effect was dependent upon the activation of GABA-B receptors. No such conclusions can be as easily drawn from the results of the present study in DA VTA neurons. Indeed we observed that, following the combined injection of high doses of GHB and NCS-382, the inhibitory effect of GHB on the firing activity of VTA DA cells was no longer present (as opposed to 100% of responsive cells when high doses of GHB were injected alone); instead, it was found that all three responsive cells (100%) actually increased their firing activity (versus 0% with GHB alone) while the other three remained unaffected (versus 36.4% with GHB alone). One explanation regarding these discrepancies is that in the former PFC study, NCS-382 itself was also used at high doses (160-320 mg/kg) and it is possible that at such high doses NCS-382 loses its antagonistic effect on the activation of high affinity GHB receptors. This possibility is substantiated by recent electrophysiological studies performed using high concentrations of NCS-382

in thalamocortical and hippocampal neurons *in vitro* (Emri et al., 1996; King et al., 1997).

We can speculate that the low dose of NCS-382 used against high GHB doses in the present study acted in two different ways. First it is possible that such a low dose of NCS-382, having bound to GHB receptors, totally blocked the access of GHB to its receptors so that VTA firing activity remained unchanged in half the cells tested. Second, in the case of cells that were excited, it is possible that the low dose of NCS-382 insufficiently reduced the number and availability of GHB receptors, transforming the action of the high dose of GHB to that of a low dose. Increased firing rate following co-administration of GHB at 160-250 mg/kg combined with NCS-382 at 10 mg/kg could thus be a residual low-dose activation phenomenon. Whether this phenomenon concerns specific subclasses of GHB receptors, i.e., with high and low affinity states (Maitre et al., 1983) still needs to be determined.

#### The effects of low GHB doses on the firing activity of DA cells of the VTA

The low dose of GHB produced three types of effects on DA cells of the VTA: excitation, inhibition and a sequence of excitation/inhibition. Excitatory effects in the VTA first appears to be consistent with our previous results in the PFC where the majority of responsive cells showed an increase firing rate at 5 and 10 mg/kg of GHB (Godbout et al., 1995). Also consonant is the fact that a co-administration of NCS-382 caused a majority of VTA cells (77,7%) to become no longer sensitive to GHB, suggesting that this excitatory effect was associated to the selective activation of GHB receptors. The combined results from PFC and VTA firing do not, however, seem to be consistent with our previous work showing that DA innervation of the

PFC by the VTA is inhibitory (Pirrot et al., 1992). Indeed, one should expect to observe a decrease of activity in DA cells of the VTA upon a low GHB dose since the same treatment causes PFC cells to be excited. On the contrary, what we observed was an increase of firing of VTA DA cells. Our speculation is that the effect of low doses of GHB affects primarily sites that feedback onto the VTA with an excitatory input, such as the aspartate-glutamate innervation of the VTA by the PFC (Christie, 1985a; Gariano, 1988), an area where GHB receptors are found (Maitre et al., 1990). In such cases, GHB would first increase PFC firing which, in turn, would activate the VTA via its excitatory cortico-fugal input. In cases where this excitatory afferent drive to the VTA would be particularly massive, sustained excitation of the VTA would lead to a depolarization inactivation of VTA neurons as it was documented here (Figure 3). Alternatively, the few cases (23,8%) where VTA cells were inhibited by a low dose of GHB would involve an inhibitory feedback loop impinging onto the recorded VTA cell. The GABAergic input to the VTA from the nucleus accumbens (Yim and Mogenson, 1980), where GHB receptors are found in high concentrations (Hechler et al., 1992), is a plausible candidate: nucleus accumbens could either be directly excited by GHB (which still need to be demonstrated, however), or it could be excited by PFC excitatory inputs impinging onto it (Christie et al., 1985b).

#### REM sleep triggering mechanisms involved with GHB administration

Our results show that the doses of GHB which stimulate the firing of DA neurons of the VTA are in the same range as those capable to induce REM sleep both in rats and in humans (Girodias et al., 1996; Lapierre et al., 1990). Given that the

stimulation of the mesencephalic dopaminergic nuclei is known to inhibit dorsal raphe nucleus neurons (Stern et al., 1979), it is possible that low activating doses of GHB trigger REM sleep by an inhibition of dorsal raphe (REM-off) neurons due to increased DA release from VTA terminals. However, an additional but not incompatible hypothesis is proposed here. It is known that while GHB has no effects on brain acetylcholine (ACh) levels *per se*, it potentiates increases of ACh induced by neuroleptics such as clozapine and chlorpromazine in the striatum (Stadler et al., 1974). We raise here the possibility that GHB could potentiate the already increased ACh (REM-on) neurotransmission that occurs just before natural REM sleep, therefore precipitating its onset. In support of this possibility is the fact that GHB was shown to induce REM sleep in the cat only when it was administered at a time close enough to the onset of the next expected REM sleep period (Delorme et al., 1966). Accordingly, GHB was also shown to potentiate REM sleep-triggering mechanisms in human cases where REM sleep was already facilitated such as in patients with depression or narcolepsy (Mamelak et al., 1977) or in older subjects upon morning naps (Lapierre et al., 1990). Whether the propensity for REM sleep in these conditions is a matter of increased REM-on tonus or decreased REM-off tonus (Hobson et al., 1975) is still a matter of debate. With these hypothesis in mind, we are presently investigating the effects of GHB on neurotransmission in REM-on and REM-off systems.

**Bibliography**

- 1) Broughton R, Mamelak M. The treatment of narcolepsy-cataplexy with nocturnal gamma-hydroxybutyrate. *Can J Neurol Sci* 1979; 6: 1-6.
- 2) Bunney BS, Walters JR, Roth RH, Aghajanian GK. Dopaminergic neurons: effect on antipsychotic drugs and amphetamine on single cell activity. *J Pharmacol Exp Ther* 1973; 185: 560-571.
- 3) Chiodo LA, Bannon MJ, Grace AA, Roth RH, Bunney BS. Evidence for the absence of impulse-regulating somatodendritic and synthesis-modulating nerve terminal autoreceptors on subpopulations of mesocortical dopamine neurons. *Neuroscience* 1984; 12: 1-16.
- 4) Christie MJ, Bridge S, James LB, Beart PM. Excitotoxin lesions suggest an aspartatergic projection from rat prefrontal cortex to ventral tegmental area. *Brain Res* 1985a; 333: 169-172.
- 5) Christie MJ, James LB, Beart PM. An excitant amino acid projection from the medial prefrontal cortex to the anterior part of nucleus accumbens in the rat. *Journal of Neurochemistry* 1985b; 45: 477-482.
- 6) Delorme F, Riote M, Jouvet M. Conditions de déclenchement du sommeil paradoxal par les acides gras à chaîne courte chez le chat pontique chronique. *C R Soc Biol* 1966; 160: 1457-1460.
- 7) Emri Z, Antal K, Crunelli V. Gamma-hydroxybutyric acid decreases thalamic sensory excitatory postsynaptic potentials by an action on presynaptic GABAB receptors. *Neurosci Lett* 1996; 216: 121-124.



- 8) Endberg G, Nissbrandt H. Gamma-hydroxybutyric acid (GHBA) induces pacemaker activity and inhibition of substantia nigra dopamine neurons by activating GABAB-receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1993; 348: 491-497
- 9) Gariano RF, Groves Pm. Burst firing induced in midbrain dopamine neurons by stimulation of the medial prefrontal cortex and anterior cingulate cortices. *Brain Res* 1988; 462: 194-198.
- 10) Gessa GL, Vargiu L, Crabai F, Boero GC, Caboni F, Camba R. Selective increase of brain dopamine induced by gamma-hydroxybutyrate. *Life Sci* 1966; 5: 1921-1930.
- 11) Girodias V, Godbout R, Beaulieu I, Schmitt M, Bourguignon J-J, Webster HH. Triggering of paradoxical sleep with gamma-hydroxybutyrate (GHB) in the rat is blocked by the Ghb receptor antagonist NCS-382. *Sleep Res* 1996; 25: 9.
- 12) Godbout R, Jelenic P, Labrie C, Schmitt M, Bourguignon J-J. Effect of gamma-hydroxybutyrate and its antagonist NCS-382 on spontaneous cell firing in the prefrontal cortex of the rat. *Brain Res* 1995; 673: 157-160.
- 13) Godbout R, Mantz J, Pirot S, Glowinski J, Thierry A-M, inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic neurons on their target cells: Electrophysiological and pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 258: 728-738
- 14) Godbout R, Rompré, P-P, Schmitt M, Bourguignon J-J. NCS-382 reverses hyperthermia, not hypothermia, induced by gamma-hydroxybutyrate in the rat. *Soc Neurosci Abstr* 1994; 20: 1563.

- 15) Hand TH, Hu XT, Wang RY. Differential effects of acute clozapine and haloperidol on the activity of ventral tegmental (A10) and nigrostriatal (A9) dopamine neurons. *Brain Res* 1987; 415: 257-269.
- 16) Hechler V, Gobaille S, Maitre M. Selective distribution pattern of gamma-hydroxybutyrate receptors in the rat forebrain as revealed by quantitative autoradiography. *Brain Res* 1992; 572: 345-348.
- 17) Hobson JA, McCarley RW, Wyzinski PW. Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science* 1975; 189: 55-58.
- 18) Jouvet M, Cier A, Mounier D, Valatx JL. Effets du 4-butyrolactone et du 4-hydroxybutyrate de sodium sur l'E.E.G. et le comportement du chat. *C R Soc Biol* 1961; 155: 1313-1316.
- 19) Kaufman EE, Porrino LJ, Nelson T. Pyretic action of low doses of  $\gamma$ -hydroxybutyrate in rats. *Biochem Pharmacol* 1990; 40: 2637-2640.
- 20) King MA, Thinschmidt JS, Walker DW. Gammahydroxybutyrate (GHB) receptor ligand effects on evoked synaptic field potentials in CA1 of the rat hippocampal slice. *Journal of Neural Transmission* 1997; 104: 1177-1193.
- 21) Laborit H. Sodium 4-hydroxybutyrate. *Int J Neuropharmacol* 1964; 3: 433-452
- 22) Lapierre O, Montplaisir J, Lamarre M, Bédard MA. The effect of gamma-hydroxybutyrate on nocturnal and diurnal sleep of normal subjects: further consideration on REM sleep-triggering mechanisms. *Sleep* 1990; 13: 24-30.
- 23) Maitre M. The gamma-hydroxybutyrate signalling system in brain: organization and functional implications. *Prog Neurobiol* 1997; 51: 337-361.

- 24) Maitre M, Hechler V, Vayer P, Gobaille S, Cash CD, Schmitt M, Bourguignon JJ. A specific  $\gamma$ -hydroxybutyrate receptor ligand possesses both antagonistic and anticonvulsant properties. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 255: 657-663.
- 25) Maitre M, Rumigny JF, Cash C, Mandel P. Subcellular distribution of gamma-hydroxybutyrate binding sites in rat brain principal localization in the synaptosomal fraction. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 110: 262-265.
- 26) Mamelak M, Escriu JM, Stokan O. The effects of gamma-hydroxybutyrate on sleep. *Biol Psychiatry* 1977; 12: 273-288.
- 27) Nishino S, Mignot E. Pharmacological aspects of human and canine narcolepsy. *Prog Neurobiol* 1997; 52: 27-78.
- 28) Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates* New York: Academic Press, 1986.
- 29) Pirot S, Godbout R, Mantz J, Tassin JP, Glowinski J, Thierry AM. Inhibitory effects of ventral tegmental area stimulation on the activity of prefrontal cortical neurons: evidence for the involvement of both dopaminergic and GABAergic components. *Neuroscience* 1992; 49: 857-865.
- 30) Roth RH. Biochemical correlates of the electrophysiological activity of dopaminergic neurons. In: Chiodo LA, Freeman AS, eds *Neurophysiology of dopaminergic systems, Current status and clinical perspectives*. Grosse Pointe: Lakeshore Publishing Company 1987, pp.187-203.
- 31) Skirboll LR, Grace AA, Hommer DW, Rehfeld J, Goldstein M, Hekfelt T, Bunney BS. Peptide-monoamine coexistence: studies of the actions of cholecystinin-like

peptide on the electrical activity of midbrain dopamine neurons. *Neuroscience* 1981; 6: 2111-2124.

32) Stadler H, Lloyd KG, Bartholini G. Dopaminergic inhibition of striatal cholinergic neurons: synergistic blocking action of gamma -butyrolactone and neuroleptic drugs. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1974; 283: 129-134.

33) Stern WC, Johnson A, Bronzino JD, Morgane PJ. Influence of electrical stimulation of the substantia nigra on spontaneous activity of raphe neurons in the anesthetized rat. *Brain Res Bull* 1979; 4: 561-565.

34) Vayer P, Mandel P, Maitre M. Gamma-hydroxybutyrate, a possible neurotransmitter. *Life Sci* 1987; 41: 1547-1557.

35) Yim CY, Mogenson GJ. Effect of picrotoxin and nipecotic acid on inhibitory response of dopaminergic neurons in the ventral tegmental area to stimulation of the nucleus accumbens. *Brain Res* 1980; 199: 466-473.

### **Acknowledgments**

This research was supported by the Natural Science and Engineering Research Council of Canada, the "Fonds de la recherche en santé du Québec" and the "Conseil national de la recherche scientifique" (France). The authors wish to thank the skillful assistance of Annie Chantale Dallaire in helping with the electrophysiological recordings. R.G. is a Chercheur Boursier Junior 2 of the "Fonds de la Recherche en Santé du Québec".

Table 1. Effects of Gamma-hydroxybutyrate (GHB) on firing activity of Dopaminergic Neurons of the Ventral Tegmental Area in anesthetized rats

Drugs & Dosage (mg/kg)	Drug effect	# of cells	Latency to effect (min.)	Maximum effect (% of BL)	Latency to max. effect (min)	Duration of effect (min.)
GHB (160-250)	Excitation	0	-	-	-	-
	Inhibition	7*	15.3 ± 3.5	20.1 ± 9.1	36.5 ± 4.7	68.4 ± 20.7
	no effect	4	-	-	-	-
GHB (10)	Excitation	12*	8.9 ± 2.9	177.3 ± 13.1	13.0 ± 3.7	20.4 ± 6.0
	Inhibition	5	11.0 ± 5.5	39.6 ± 8.7	18.6 ± 7.3	29.2 ± 1.8
	Exc./ Inh.	4	17.3 ± 7.3	140.0 ± 12.2 / 0.0	17.3 ± 7.3	N.A.
	no effect	13	-	-	-	-
NCS-382 (10)	Excitation	3**	5.8 ± 6.3	144.7 ± 24.5	10.6 ± 9.0	16.0 ± 10.5
	Inhibition	0	-	-	-	-
GHB (160-250)	no effect	3	-	-	-	-
	Excitation	2**	2.7 ± 0.5	151.0 ± 4.6	6.5 ± 4.0	11.3 ± 12.0
NCS-382 (10)	Inhibition	0	-	-	-	-
	no effect	7	-	-	-	-

Numbers in parenthesis indicate the dose used. Drugs were administered i.p. When indicated, the GHB receptor

antagonist NCS-382 was injected immediately prior to GHB. Latency to effect = delay in minutes from time of injection to a

change of at least 25% of the baseline firing rate; Maximum effect: maximum change of firing, expressed as % of the baseline

firing rate; Duration of effect = time in minutes from 25% change until return to baseline firing rate ± 10%. Data is expressed as

mean ± S.E.M.

\* = significantly different from control vehicle injections, Fisher's Exact Test,  $p < .05$  or better (see text).

\*\* = significantly different from GHB alone, Fisher's Exact Test,  $p < .05$  or better (see text).

Figure 1. Location of the recording sites, all in the region of the Ventral Tegmental Area. Histological drawings are based on Paxinos and Watson (1986).

FILE: GODBOUT1.GIF

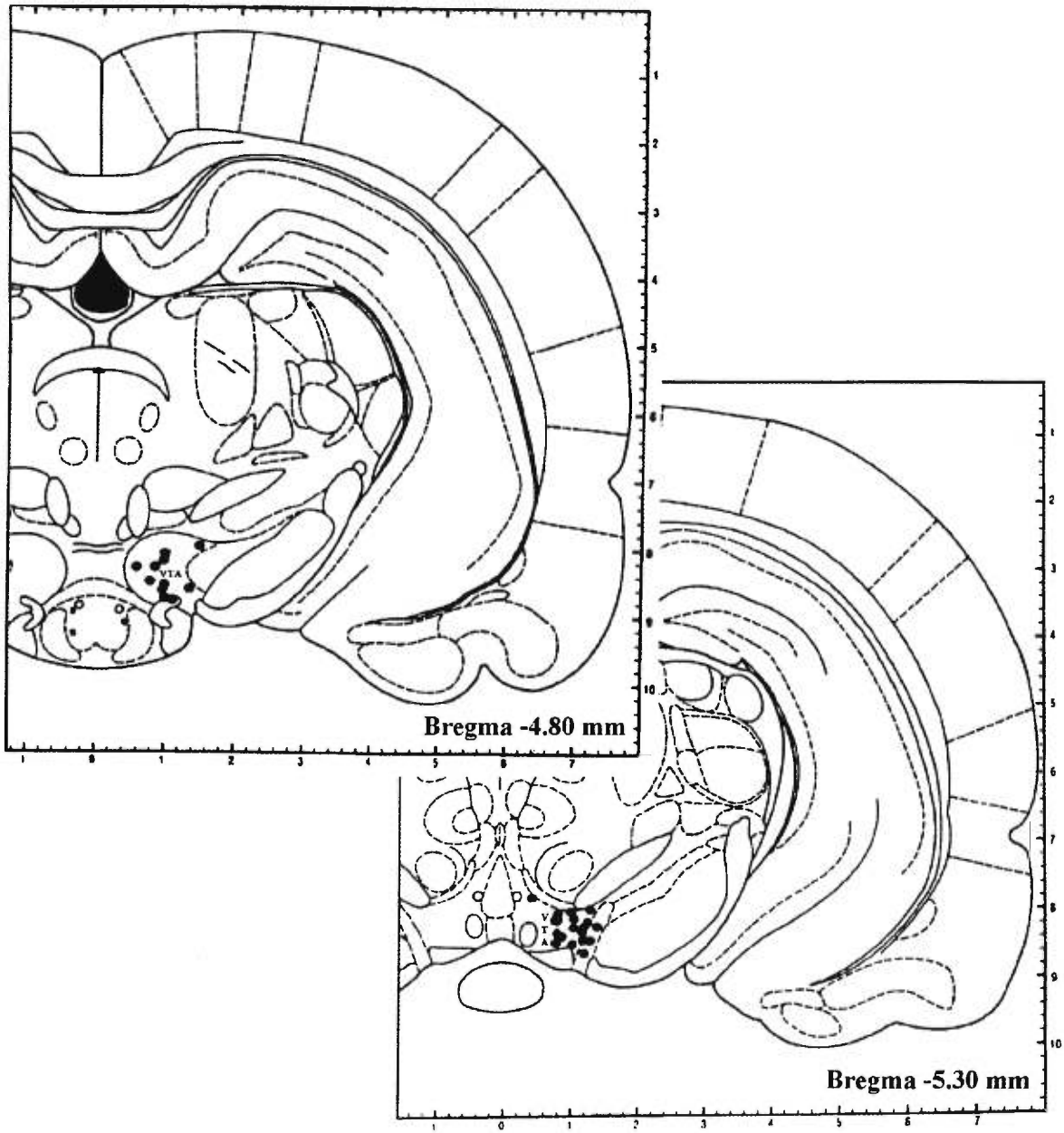


Figure 2. Digitized oscilloscope tracing of a typical Ventral Tegmental Area dopaminergic neuronal spike discharge, recorded extracellularly in an anesthetized rat.

FILE: GODBOUT2.GIF



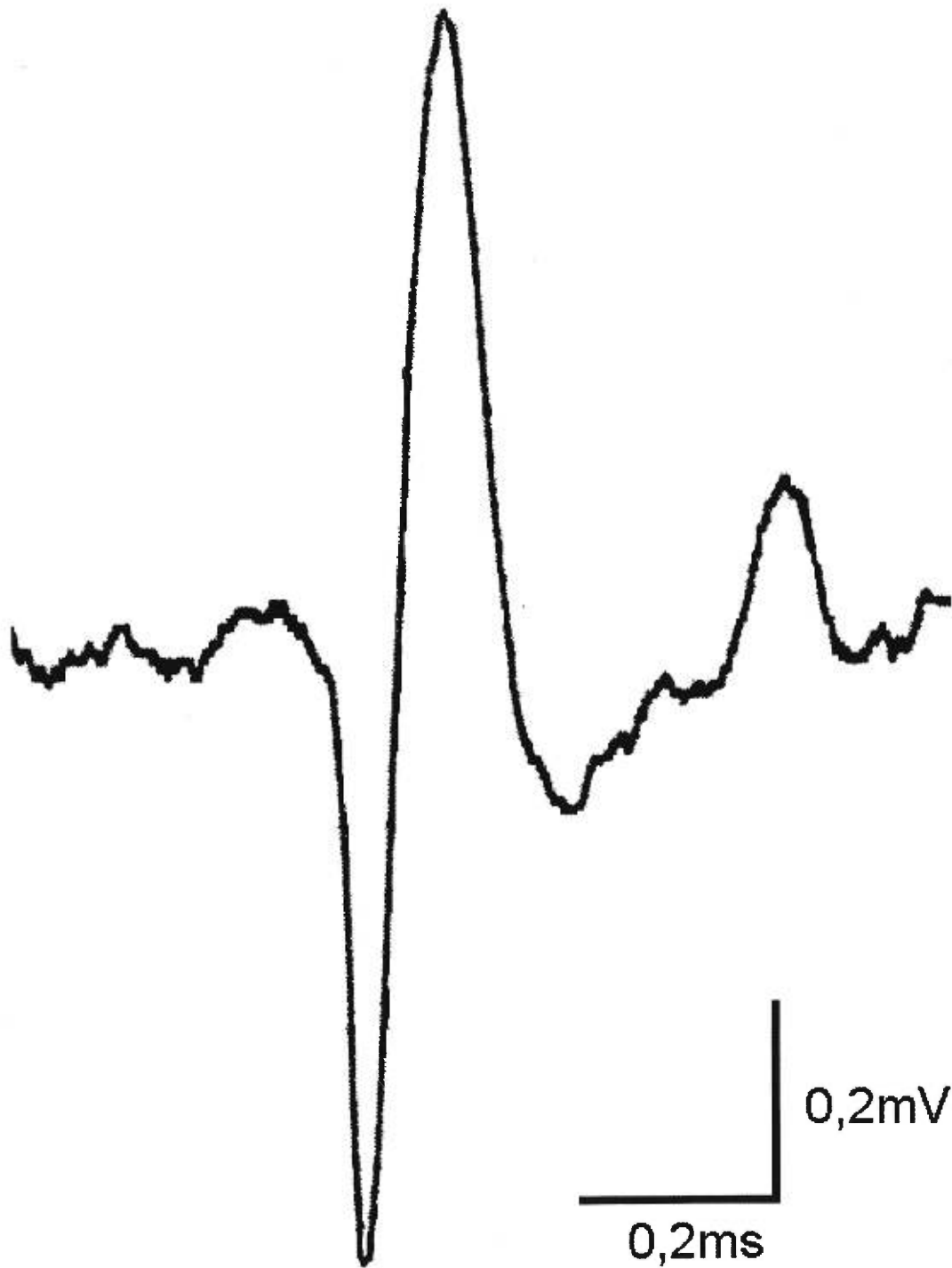
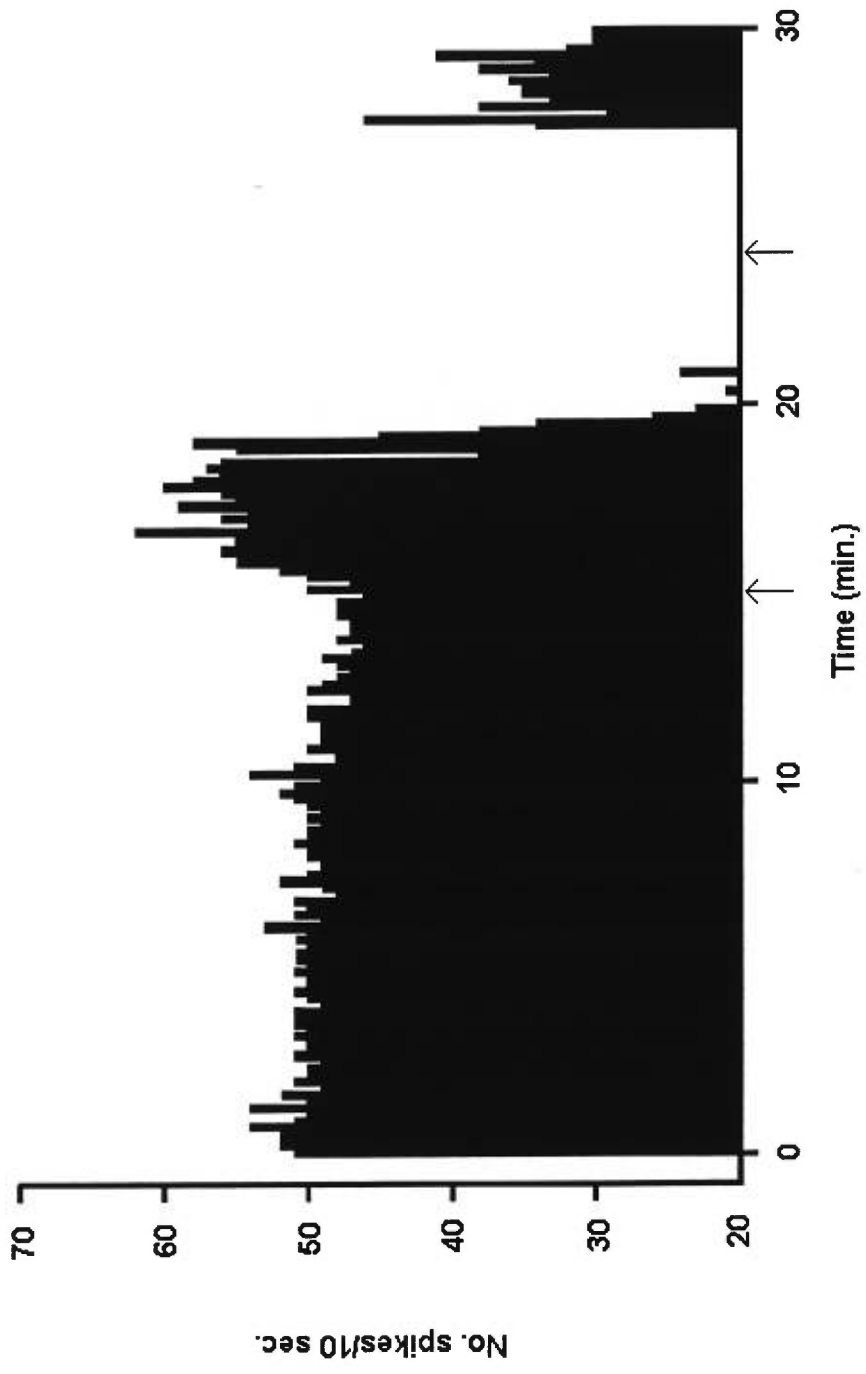


Figure 3. Firing-rate histogram showing signs of depolarization inactivation in a dopaminergic neuron of the Ventral Tegmental Area. The first arrow indicates the injection of GHB 10 mg/kg. Note the transient excitation before the inhibitory period. The second arrow indicates the injection of apomorphine 50  $\mu$ g/kg, s.c.. Firing activity resumed 3 minutes after the injection.

FILE: GODBOUT3.GIF



## Discussion

Cette étude montre que le GHB agit différemment sur le taux de décharge des cellules DAergiques de l'ATV selon la dose. Ainsi les faibles doses ont généralement tendance à produire une augmentation, tandis que les hautes doses induisent une diminution de la fréquence de décharge. Ces résultats sont en accord avec des études antérieures sur les effets de faible et forte doses de GHB sur les cellules du CPF (Godbout et al., 1995) et sur la température centrale (Godbout et al., 1994).

#### 5.1 Effets des faibles doses de GHB sur la fréquence de décharge des cellules DA de l'ATV

L'administration de GHB 10 mg/kg a produit trois type d'effets: une excitation, une inhibition, ou une séquence excitation/inhibition. Les effets excitateurs du GHB sur la fréquence de décharge des cellules DA de l'ATV (75% des cellules testées) sont semblables à ceux observés dans le CPF, où 67% des cellules ont montré une augmentation de taux de décharge suite à l'administration de GHB à 5 et 10 mg/kg (Godbout et al., 1995). De plus, la co-administration de l'antagoniste des récepteurs à GHB, le NCS-382, a provoqué l'insensibilité au GHB dans 78% des cellules enregistrées dans l'ATV. Ceci confirme que l'effet des faibles doses de GHB dans l'ATV est produit par l'activation des récepteurs spécifiques du GHB. Nos résultats sur l'ATV combinés aux résultats sur le CPF ne sont pas en accord avec les travaux montrant que les cellules DA de l'ATV ont une action inhibitrice sur les cellules du CPF (Pirot et al., 1992). En effet, notre deuxième hypothèse de départ se basait sur le fait que si la DA inhibe le CPF et que le GHB en faible dose produit une

augmentation de taux de décharge dans cette même structure; une même dose de GHB devrait logiquement inhiber l'ATV. Tout au contraire, la majorité des cellules de l'ATV enregistrées suite à l'administration de GHB 10 mg/kg ont montré une augmentation de leur taux de décharge. Nous proposons le mécanisme conciliateur suivant pour expliquer l'effet du GHB en faible dose sur l'activité de décharge des cellules de l'ATV et du CPF.

Il a été montré que les récepteurs à GHB existent sous deux formes: à haute et à basse affinité (Maitre et al., 1983). Il est possible que les faibles doses de GHB, qui activent les récepteurs à haute affinité spécifiques au GHB, agissent principalement au niveau de structures ayant des projections excitatrices de rétro-contrôle sur l'ATV. C'est le cas par exemple de l'innervation glutamate-aspartate de l'ATV par le CPF (Christie et al., 1985a; Gariano et al., 1988), ce dernier site possédant une forte concentration de récepteurs à GHB (Maitre et al., 1990). Dans un tel cas, le GHB exciterait en premier lieu le CPF, lequel activerait ensuite l'ATV par son innervation cortico-fugale excitatrice. Dans le cas où cette excitation serait particulièrement forte et/ou soutenue il serait possible qu'apparaisse le phénomène de blocage par dépolarisation décrit plus haut (pp. 19-20) et que nous avons observé dans la présente étude (voir plus loin).

Nous avons observé que le GHB à faible dose pouvait également inhiber des cellules DA de l'ATV dans certains cas et il se pourrait qu'un autre mécanisme parallèle de rétro-contrôle soit impliqué. En effet le GHB à faible dose pourrait activer des structures ayant un rétro-contrôle inhibiteur sur l'ATV (voir aussi section 5.2). Un candidat possible serait l'afférence GABAergique de l'ATV provenant du

NAcc (Yim et Mogenson, 1980), structure où les récepteurs à GHB sont présents en forte concentration (Hechler et al., 1992). Le NAcc pourrait être stimulé directement par le GHB (ceci n'a pas encore été observé), ou être activé par l'afférence excitatrice du CPF sur ce dernier (Christie et al., 1985b).

## 5.2 Effets des hautes doses de GHB sur la fréquence de décharge des cellules DA de l'ATV

Les résultats obtenus par l'administration de GHB en haute dose sont contraires à notre hypothèse de départ. En effet, puisque le GHB diminue la libération de la DA et que la DA inhibe la fréquence de décharge de l'ATV, on se serait attendu à ce que l'administration de GHB ait une action désinhibitrice. Alternativement, puisque les hautes doses de GHB ont induit une diminution de la fréquence de décharge du CPF et que la DA de l'ATV inhibe le CPF, on aurait dû s'attendre à ce que la fréquence de décharge des cellules DA de l'ATV augmente dans les mêmes conditions.

Des études antérieures avaient montré que l'effet inhibiteur des hautes doses de GHB sur le taux de décharge des cellules du CPF n'était pas bloqué par le NCS-382 (Godbout et al., 1995). Les auteurs avaient conclu que les effets produits par l'administration de hautes doses de GHB étaient le résultat d'une action sur des systèmes non-DAergiques. Cette conclusion est en accord avec les observations de Endberg et Nissbrandt (1993) qui montrent que les hautes doses de GHB inhibent les cellules DA de la SNc; ces auteurs suggèrent que cette inhibition est le résultat de l'activation de récepteurs de type GABA-B. Bien que la

présente étude ne permette pas de préciser la nature des récepteurs impliqués, nos résultats permettent toutefois certaines hypothèses. En effet, nous avons observé que suivant l'administration combinée de GHB en forte dose et de NCS-382, l'effet inhibiteur du GHB en haute dose sur l'activité de décharge des cellules DA de l'ATV ne se produisait plus ( contrairement à 63,6% lorsque le GHB est administré seul). Ainsi, trois des six cellules (50%) sont demeuré inchangées (versus 36,4% sous GHB uniquement) tandis que les trois cellules restantes ont montré une augmentation de fréquence de décharge (0% sous GHB uniquement). La faible dose de NCS-382 que nous avons utilisée ici (10 mg/kg) a pu agir de deux façons pour produire les deux types d'effets observés, soit l'état inchangé et l'augmentation de taux de décharge.

Premièrement le NCS-382 a pu bloquer totalement la liaison du GHB avec ses récepteurs spécifiques de façon à ce que le GHB ne puisse plus aucunement agir sur la cellule, d'où l'état inchangé de la fréquence de décharge des trois cellules. Deuxièmement il est possible que le NCS-382 n'ait pu se lier à tous les récepteurs à GHB présents. Ce phénomène aurait pour conséquence de transformer la forte dose de GHB administrée en une faible dose quant au nombre de récepteurs activés. L'augmentation de la fréquence de décharge produite par l'administration conjointe de GHB 160-250 mg/kg et de NCS-382 10 mg/kg dans les trois cellules restantes serait donc un phénomène d'activation par une faible dose résiduelle. La possibilité que ce phénomène implique des sous-classes de récepteurs à GHB, soit à haute et à faible affinité (Maitre et al., 1983), reste à déterminer (voir aussi section 5.1, ci-dessus).



### 5.3 GHB et déclenchement du SP

Nos résultats montrent qu'une dose de GHB capable d'induire le SP chez le rat (Girodias et al., 1996) et l'humain (Lapierre et al., 1990) excite également les cellules DA de l'ATV. Dans le paragraphe suivant nous allons proposer deux scénarios par lesquels une modification de la fréquence de décharge des cellules DA de l'ATV peut contribuer à raccourcir la délai d'apparition du SP.

On sait que la stimulation des noyaux DAergiques mésencéphaliques a une action inhibitrice au niveau du raphé dorsal (Stern et al., 1979), une des structures responsables de la partie REM-off du modèle de contrôle du SP de Hobson et McCarley (1975). Il est donc possible que l'induction du SP par le GHB 10 mg/kg soit liée à une inhibition du raphé dorsal par une plus grande libération de DA dans cette structure par les terminaisons provenant de l'ATV.

Deuxièmement on sait que le GHB, même s'il n'a pas d'effet direct sur les niveaux d'ACh en tant que tel, potentialise l'augmentation des niveaux d'ACh produite par une administration préalable de neuroleptiques tels la clozapine et la chlorpromazine (Stadler et al., 1974; Laborit et al., 1960). Nous suggérons la possibilité que le GHB puisse potentialiser la neurotransmission à ACh facilitatrice du déclenchement du SP mais ce, seulement quand le système ACh est déjà facilité. Un tel cas de figure apparaît justement lors de l'occurrence normale du SP, laquelle est précédée par une augmentation du taux de décharge des cellules ACh du système REM-on (Hobson et McCarley, 1975).

À l'appui de cette hypothèse, mentionnons qu'on a observé que le GHB est incapable d'induire le SP chez le chat tout de suite après la fin d'une période

spontanée de SP (Delorme et al., 1966), sans doute parce que les niveaux d'ACh sont insuffisants. Par contre, Delorme et al (1966) ont montré que le GHB pouvait déclencher le SP s'il est administré approximativement à mi-temps entre 2 périodes normales de SP.

Le GHB potentialise également les mécanismes de déclenchement du SP dans des populations où ces mêmes mécanismes sont facilités (Mamelak et al., 1975) tels les patients atteints de dépression et de narcolepsie ainsi que chez les personnes âgées enregistrées lors de siestes matinales (Lapierre et al., 1990).

#### 5.4 GHB: trois visions

Le GHB est une drogue dont les propriétés particulières en font une molécule aux usages multiples. Nous discuterons ici de trois types très différents d'utilisation du GHB: comme drogue d'abus, comme agent thérapeutique et comme neuroleptique potentiel.

Le premier aspect est celui du GHB en tant que drogue d'abus. On a en effet récemment proposé que le GHB pouvait présenter un potentiel de dépendance chez l'humain et l'animal, lesquels montrent une préférence envers le GHB contre toute autre substance, y compris la nourriture (Colombo et al., 1995, Galloway et al., 1997). Paradoxalement, ce potentiel d'abus se manifeste même si le GHB est totalement éliminé de l'organisme quatre à six heures après son administration et que son utilisation ne modifie pas le métabolisme du GHB endogène, et ne risque donc pas d'induire une dépendance physique (Ferrara et al., 1992). Ce potentiel

d'abus peut être expliqué par le fait que le GHB active le système de récompense chez le rat (Martellotta et al., 1997).

Il existe deux types principaux d'utilisateur du GHB à des fins non-thérapeutiques: les athlètes et les utilisateurs de drogues euphorisantes. Le premier groupe, constitué d'haltérophiles et de culturistes, s'y intéresse à cause de sa capacité de stimuler la sécrétion de la HC (Takahara et al., 1977), facilitant ainsi la formation rapide d'une importante masse musculaire. Le GHB posséderait aussi des propriétés anti-cataboliques (qui seraient à la base de ses effets protecteurs du métabolisme) et aiderait donc à conserver la masse musculaire obtenue. Ces observations sont toutefois anecdotiques. Le deuxième groupe utilise le GHB principalement pour ses effets euphorisants. Il a effectivement été rapporté à plusieurs reprises que le GHB pouvait produire des effets euphorisants au même titre que l'alcool tels une désinhibition sociale, un état de relaxation modéré et même un léger effet aphrodisiaque (Laborit, 1972). Il faut toutefois se rappeler que le GHB utilisé dans ce contexte l'est souvent à des doses excessives et implique un produit très vaguement relié au véritable GHB. En effet il s'agit souvent de GHB d'origine clandestine dont la recette de synthèse ne correspond pas à la molécule d'origine. (<http://homepages.tig.com.au/~creature/ghbinst.html>;  
<http://www.elitefitness.com/steroids/ghb.html>)

Le GHB est depuis quelque temps utilisé pour fins d'abus sexuels (Anonyme, 1997). On sait que le GHB affecte les fonctions cognitives. Une faible dose induit une diminution de l'attention sélective (Grove-White et Kelman, 1971a) et une forte dose peut produire un déficit de la mémoire à court terme (Grove-White et Kelman,

1971b). Ce déficit de mémoire et l'effet aphrodisiaque mentionné plus haut ont pu contribuer à ce phénomène.

Un deuxième type d'utilisation du GHB est relié à son potentiel thérapeutique pour plusieurs maladies. Les troubles traités à l'aide du GHB sont la cataplexie (Broughton et Mamelak, 1979), le traitement de l'abus d'alcool et d'opiacés (Fadda et al., 1989; Gallimberti et al., 1992, 1993) et l'anxiété (Grove-White et Kelman, 1971a).

L'effet thérapeutique du GHB dans la cataplexie se produit par la restructuration du SP induite par le GHB. (Broughton et Mamelak, 1979) Dans le cas de l'alcoolisme, le GHB agit au niveau des circuits de récompense pour d'une part diminuer le besoin de consommer et d'autre part réduire les effets néfastes du sevrage (Fadda et al., 1989; Gallimberti et al., 1992, 1993). L'effet thérapeutique sur l'anxiété peut être dû soit au fait que le GHB stimule l'activité du système limbique soit par son interaction avec le système de récepteurs à benzodiazépines (Schmidt-Muller et al., 1998). Toutes ces maladies n'ont pas nécessairement une composante DAergique qui pourrait expliquer l'efficacité du GHB dans le traitement de celles-ci. On peut hypothétiser que l'effet thérapeutique est indirect et qu'il est le résultat de la modification d'une ou plusieurs boucles de rétro-contrôle dans un ou plusieurs systèmes impliqués dans la physiopathologie des troubles mentionnés.

Le troisième et dernier aspect du GHB est son potentiel neuroleptique. En effet, lors de nos tests, nous avons vu que le GHB administré en faible dose était capable de produire le blocage par dépolarisation, à la base du pouvoir

thérapeutique des neuroleptiques (Grace, 1992). Or, il n'est pas utilisé comme tel. La raison principale est que son usage nécessiterait un mode d'administration continue ou en doses répétées puisque les effets durent à peine deux heures (Ferrara et al., 1992), contrairement aux neuroleptiques courants où une seule dose suffit souvent.

Hechler et al. (1993) ont montré que des analogues du GHB se liant à ses récepteurs spécifiques avec une plus grande affinité que le GHB, tel le gamma-*p*-chlorophenyl-*t*-hydroxycrotonate, possédaient des caractéristiques comportementales semblables aux véritables neuroleptiques dans le modèle animal. Il existe quelques résultats anecdotiques de l'effet neuroleptique du GHB pour la schizophrénie (Tanaka et al., 1966), mais ils ne sont pas toujours répliqués (Levy et al., 1983).

## 5.5 Projets futurs

Les projets de recherche suivants pourraient nous permettre de mieux comprendre le mode d'action du GHB sur ses cellules cibles.

Le premier aspect qui mérite notre attention est de caractériser si les cellules DA de l'ATV qui sont sensibles au GHB produisent des effets différents selon la cible de projection (i.e. NAcc ou CPF). Nous croyons que l'application iontophorétique de GHB en faible et forte concentration dans l'ATV, combiné à l'implantation d'électrodes de stimulation servant à l'identification antidromique dans le NAcc et le CPF permettrait de déterminer si l'effet « dose » est lié à une structure en particulier.

Un autre projet serait d'administrer le GHB en ayant préalablement pris soin de bloquer entièrement chaque afférence à l'ATV par des tests *in vitro* impliquant l'application de la tétrodothine. Nous pourrions alors déterminer avec plus de succès l'implication ou non des différents systèmes neurochimiques pour lesquels on retrouve des récepteurs sur les corps cellulaires de l'ATV. Nous serions alors en mesure de voir si différentes concentrations de GHB agissent directement ou par le biais d'un autre système pour modifier l'activité de la cellule DA.

Un troisième et dernier projet de recherche qui permettrait de compléter notre étude du GHB serait d'administrer localement, soit par iontophorèse soit par injection locale, le GHB en haute et faible doses dans les structures responsables du contrôle du SP (i.e. les noyaux cholinergiques (tegmen-ta pédonculo-pontique et dorso-latéral) REM-on et les noyaux sérotoninergiques (raphé dorsal) REM-off). En observant les effets du GHB sur ces structures, on serait en mesure de déterminer si l'effet de facilitation du SP du GHB se produit par une facilitation du REM-on ou par un blocage du REM-off.

## Bibliographie

Aghajanian G.K. et Bunney B.S. (1977) Dopamine "autoreceptors": pharmacological characterization by microiontophoretic single cell recording studies. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 297: 1-7.

Aghajanian G.K. et Roth R.H. (1970) Gamma-hydroxybutyrate-induced increase in brain dopamine: localization by fluorescence microscopy. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 175: 131-138.

Albanese A. et Bentioglio M. (1982) The organisation of dopaminergic and non-dopaminergic mesencephalo-cortical neurons in the rat. *Brain Res.* 238: 421-425.

Anderson R.A., Ritzmann R.F. et Tabakoff B. (1977) Formation of gamma-hydroxybutyrate in brain. *J. Neurochem.* 28: 633-639.

Anonyme (1997) Gamma hydroxy butyrate use--New York and Texas, 1995-1996. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 46: 281-283.

Arena C. et Fung H.L. (1980) Absorption of sodium gamma-hydroxybutyrate and its prodrug gamma-butyrolactone: relationship between in vitro transport and in vivo absorption. *J. Pharm. Sci.* 69: 356-358.



Bannon M.J., Wolf M.E. et Roth R.H. (1983) Pharmacology of dopamine neurons innervating the prefrontal, cingulate and piriform cortices. *Eur. J. Pharmacol.* 92: 119-125.

Barcelo F., Sanz M., Molina V. et Rubia F.J. (1997) The Wisconsin Card Sorting Test and the assessment of frontal function: a validation study with event-related potentials. *Neuropsychologia* 35: 399-408.

Barker S.A., Snead O.C., Poldrugo F., Liu C.C., Fish F.P. et Settine R.L. (1985) Identification and quantification of 1,4-butanediol in mammalian tissues: an alternative biosynthesis pathway for gamma-hydroxybutyric acid. *Biochem. Pharmacol.* 34: 1849-1852.

Bayer V.E. et Pickel V.M. (1991) GABA-labeled terminals form proportionally more synapses with dopaminergic neurons having low densities of tyrosine hydroxylase immunoreactivity in rat ventral tegmental area. *Brain Res.* 559: 44-55.

Bean A.J. et Roth R.H. (1991) Extracellular dopamine and neurotensin in rat prefrontal cortex in vivo: effects of median forebrain bundle stimulation frequency, stimulation pattern, and dopamine autoreceptors. *J. Neurosci.* 11: 2694-2702.

Benavides J., Rumigny J.F., Bourguignon J.J., Wermuth C.G., Mandel P., et Maitre M. (1982) A high-affinity, Na<sup>+</sup>-dependent uptake system for gamma-hydroxybutyrate in membrane vesicles prepared from rat brain. *J. Neurochem.* 38:1570-1575.

Berman K.F., Ostrem J.L., Randolph C., Gold J., Goldberg T.E., Coppola R., Carson R.E., Herscovitch P. et Weinberger D.R. (1995) Physiological activation of a cortical network during performance of the Wisconsin Card Sorting Test: a positron emission tomography study. *Neuropsychologia* 33:1027-1046

Bessman S.P. et Fishbein W.N. (1963) Gamma-hydroxybutyrate, a normal brain metabolite. *Nature* 4912:1207-1208.

Biggio G., Cibir M., Diana M., Fadda F., Ferrara S.D., Gallimberti L., Gessa G.L., Mereu G.P., Rossetti Z.L. et Serra M. Suppression of voluntary alcohol intake in rats and alcoholics by gamma-hydroxybutyric acid: A non-GABAergic mechanism. Dans: *GABAergic synaptic transmission*. Biggio G., Concas A. et Costa H. éditeurs. Raven Press; New York, 1992. pp. 281-288.

Björklund A. et Lindvall O. Dopamine-containing systems in the CNS. Dans: *Handbook of chemical neuroanatomy* vol.2. Björklund A. et Hökfelt T. éditeurs. Elsevier, Amsterdam, 1984. pp. 55-122.

Borbély A.A. et Huston J.P. (1972). Gamma-butyrolactone: an anesthetic with hyperthermic action in the rat. *Experimentia* 28: 1455.

Borenstien P., Champion C. et Cujo Ph. (1969) Étude polygraphique du « sommeil » provoqué par le gamma hydroxybutyrate de sodium et le diazépam. *Sem. Hôp. Paris* 45: 1290-1300.

Boyd A.E. III, Levovitz H.E. et Feldman J.M. (1971) Endocrine function and glucose metabolism in patients with Parkinson's disease and their alteration by L-dopa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33:829-837.

Broughton R. et Mamelak M. (1979) The treatment of narcolepsy-cataplexy with nocturnal gamma-hydroxybutyrate. *Can. J. Neurol. Sci.* 6(1): 1-6.

Brown W.A., van Woert M.H. et Ambani L.M. (1973) Effect of apomorphine on growth hormone release in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 37: 463-465.

Bunney B.S., Aghajanian G.K. et Roth R.H. (1973a) Comparison of effects of L-dopa, amphetamine and apomorphine on firing rate of rat dopaminergic neurones. *Nat. New Biol.* 245: 123-125.

Bunney B.S., Walters J.R., Roth R.H. et Aghajanian G.K. (1973b) Dopaminergic neurons: effect of antipsychotic drugs and amphetamine on single cell activity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 185: 560-571.

Bunney B.S. et Grace A.A. (1978) Acute and chronic haloperidol treatment: comparison of effects on nigral dopaminergic cell activity. *Life Sci.* 23: 1715-1727.

Cador M., Rivet J.M., Kelley A., Le Moal M. et Stinus L. (1989) Substance P, neurotensin and enkephalin injections into the ventral tegmental area: comparative study on dopamineturnover in several forebrain structures. *Brain Res.* 489: 357-363.

Cameron D.L. et Williams J.T. (1993) Dopamine D1 receptors facilitate transmitter release. *Nature* 366: 344-347.

Campbell K.J., Takada M. (1989) Bilateral tectal projection of single nigrostriatal dopamine cells in the rat. *Neuroscience* 33: 311-321.

Chiodo L.A. et Bunney B.S. (1983) Typical and atypical neuroleptics: differential effects of chronic administration on the activity of A9 and A10 midbrain dopaminergic neurons. *J. Neurosci.* 3: 1607-1619.

Chiodo L.A., Bannon M.J., Grace A.A., Roth R.H. et Bunney B.S. (1984) Evidence for the absence of impulse-regulating somatodendritic and synthesis-modulating

nerve terminal autoreceptors on subpopulations of mesocortical dopamine neurons. *Neuroscience* 12: 1-16.

Chiodo L.A. et Bunney B.S. (1985) Possible mechanisms by which repeated clozapine administration differentially affects the activity of two subpopulations of midbrain dopamine neurons. *J. Neurosci.* 5: 2539-2544.

Christie M.J., Bridge S., James L.B., Beart P.M. (1985a) Excitotoxin lesions suggest an aspartatergic projection from rat prefrontal cortex to ventral tegmental area. *Brain Res.* 333: 169-172.

Christie M.J., James L.B., Beart P.M. (1985b) An excitant amino acid projection from the medial prefrontal cortex to the anterior part of nucleus accumbens in the rat. *Journal of Neurochemistry* 45: 477-482.

Christie M.J., Bridge S., James L.B., Beart P.M. (1989) Excitotoxin lesions suggest an aspartatergic projection from rat prefrontal cortex to ventral tegmental area. *Acta Physiol Scand.* 136: 135-136.

Cocchi D., Gil-Ad I., Parenti M., Stefanini E., Locatelli V. et Muller E.E. (1980) Prolactin releasing effect of a novel antidopaminergic drug, domperidone in the rat. *Neuroendocrinology* 30: 65-69.

Colombo C., Agabio R., Balaklievskaia N., Diaz G., Lobina C., Reali R. et Gessa G.L. (1995) Oral self-administration of gamma-hydroxybutyric acid in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 285:103-107.

Delorme F., Riotte M. et Jouvett M. (1966) Conditions of initiation of paradoxal sleep with short-chain fatty acids in chronic pontile cats. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.* 160:1457-1460.

Descarries L., Lemay B., Doucet G. et Berger B. (1987) Regional and laminar density of the dopamine innervation in the adult rat cerebral cortex. *Neuroscience* 21: 807-824.

Diana M., Mereu G., Mura A., Fadda F., Passino N. et Gessa G.L. (1991) Low doses of gamma-hydroxybutyric acid stimulate the firing rate of dopaminergic neurons in unanesthetized rats. *Brain Res.* 566:208-211.

Di Chiara G. et Imperato A. (1988) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentration in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85:5274-5278.

Endberg G. et Nissbrandt H. (1993) Gamma-hydroxybutyric acid (GHBA) induces pacemaker activity and inhibition of substantia nigra dopamine neurons by

activating GABAB-receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 348: 491-497.

Fadda F., Argiolas A., Melis M.R., De Montis G. et Gessa G.L. (1983) Suppression of voluntary alcohol consumption in rats by gamma-butyrolactone. *Life Sci.* 32:1471-1477.

Fadda F., Colombo G., Mosca E. et Gessa G.L. (1989) Suppression by gamma-hydroxybutyric acid of ethanol withdrawal syndrome in rats. *Alcohol & Alcoholism.* 24:447-451.

Ferino F., Thierry A.M., Saffray M. et Glowinski J. (1984) Interhemispheric and subcortical collaterals of medial prefrontal cortical neurons in the rat. *Brain Res.* 417: 257-265.

Ferrara S.D., Zotti S., Tedeschi L., Frison G., Castagna F., Gallimberti L., Gessa G.L., Palatini P. (1992) Pharmacokinetics of gamma-hydroxybutyric acid in alcohol-dependant patients after single and repeated oral doses. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 34: 231-235.

Ferron A., Thierry A.M., Le Douarin C. et Glowinski J. (1984) Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic system on the spontaneous activity or the excitatory

response induced from the thalamic mediodorsal nucleus in the rat medial prefrontal cortex. *Brain Res.* 302: 257-265.

Fishbein W.N. et Bessman S.P. (1964) Gamma-hydroxybutyrate in mammalian brain. Reversible oxidation by lactic dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 239: 357-361.

Galey D., Simon H. et Le Moal M. (1977) Behavioral effects of lesions in the A10 dopaminergic area in the rat. *Brain Res.* 124: 83-97.

Freeman A.S. et Bunney B.S. (1987) Activity of A9 and A10 dopaminergic neurons in unrestrained rats: further characterization and effects of apomorphine and cholecystinin. *Brain Res.* 405: 46-55.

Gallimberti L., Ferri M., Ferrara S.D., Fadda F. et Gessa G.L. (1992) Gamma-hydroxybutyric acid in the treatment of alcohol dependence: a double blind study. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 16: 673-676.

Gallimberti L., Cibir M., Pagnin P., Sabbion R., Pani P.P., Pirastu R., Ferrara S.D. et Gessa G.L. (1993) Gamma-hydroxybutyric acid for treatment of opiate withdrawal syndrome. *Neuropsychopharmacology* 9:77-81.

Galloway G.P., Frederick S.L., Stagers F.E., Gonzales M., Stalcup S.A., Smith D.E. (1997) Gamma-hydroxybutyrate: An emerging drug of abuse that causes physical dependence. *Addiction* 92: 89-96.



Gariano R.F., Groves P.M. (1988) Burst firing induced in midbrain dopamine neurons by stimulation of the medial prefrontal cortex and anterior cingulate cortices. *Brain Res.* 462: 194-198.

Gerra G., Caccavari R., Fontanesi B., Marcato A., Fertoni G., Maestri D., Avanzini P., Lecchini R., Delsignore R. et Mutti A. (1994) Flumazenil effects on growth hormone response to gamma-hydroxybutyric acid. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 9: 211-215.

Gessa G.L., Vargiu L., Crabai F., Boero G.C., Caboni F. et Camba R. (1966) Selective increase of brain dopamine induced by gamma-hydroxybutyrate. *Life Sci.* 5:1921-1930.

Giarman N.J. et Schmidt K.F. (1963) Some neurochemical aspects of the depressant action of butyrolactone on the central nervous system. *Br. J. Pharmacol.* 20: 563-568.

Gillham M.H., Jennes L. et Deutch A.Y. (1990) GABA neurons in the ventral tegmental area project to the medial prefrontal cortex: a non-dopaminergic mesocortical system. *Soc. Neurosci. Abstr.* 16: 105-117.

Girodias V., Godbout R., Beaulieu I., Schmitt M., Bourguignon J.J. et Webster H.H. (1996) Triggering of paradoxical sleep with gamma-hydroxybutyrate (GHB) in the rat is blocked by the GHB receptor antagonist NCS-382. *Sleep Res*; 25: 9.

Giros B. (1991) Cinq récepteurs pour la dopamine: mais où s'arrêteront-ils? *M/S Med./Sci.* 7: 609-611.

Godbout R. et Pivik R.T. (1982) EEG and behavioral effects of gamma-hydroxybutyrate in the rabbit. *Life Sci.* 31: 739-748.

Godbout R., Mantz J., Pirot S., Glowinski J. et Thierry A.-M. (1991) Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic neurons on their target cells: Electrophysiological and pharmacological characterization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 258:728-738.

Godbout R., Rompré P.P., Schmitt M., et Bourguignon J.J. (1993) Dose-effect of gamma-hydroxybutyrate on rectal temperature in rats: hyperthermia is blocked by the GHB receptor antagonist NCS-382. *Sleep Res.* 22: 24.

Godbout R., Rompré P.P., Schmitt M., Bourguignon J.J. (1994) NCS-382 reverses hyperthermia, not hypothermia, induced by gamma-hydroxybutyrate in the rat. *Soc. Neurosci. Abstr.* 20: 1563.

Godbout R., Jelenic P., Labrie C., Schmitt M. et Bourguignon J.J. (1995) Effect of gamma-hydroxybutyrate and its antagonist NCS-382 on spontaneous cell firing in the prefrontal cortex of the rat. *Brain Res.* 673: 157-160.

Grace A.A. et Bunney B.S. (1980) Nigral dopamine neurons: intracellular recording and identification with L-dopa injection and histofluorescence. *Science* 210: 654-656.

Grace A.A. et Bunney B.S. (1983) Intracellular and extracellular electrophysiology of nigral dopaminergic neurons--1. Identification and characterization. *Neuroscience* 10: 301-315.

Grace A.A. et Bunney B.S. (1985a) Opposing effects of striatonigral feedback pathways on midbrain dopamine cell activity. *Brain Res.* 333: 271-284.

Grace A.A. et Bunney B.S. (1985b) Low doses of apomorphine elicit two opposing influences on dopamine cell electrophysiology. *Brain Res.* 333: 285-298.

Grove-White I.G. et Kelman G.R. (1971a) Critical flicker frequency after small doses of methohexidone, diazepam and sodium 4-hydroxybutyrate. *Br. J. Anaesth.* 43:110-112.

Grove-White I.G. et Kelman G.R. (1971b) Effect of methohexitone, diazepam and sodium 4-hydroxybutyrate on short-term memory. *Br. J. Anaesth.* 43: 113-116.

Guyenet P.G. et Aghajanian G.K. (1978) Antidromic identification of dopaminergic and other output neurons of the rat substantia nigra. *Brain Res.* 150: 69-84.

Hand T.H., Hu X.T. et Wang R.Y. (1987) Differential effects of acute clozapine and haloperidol on the activity of ventral tegmental (A10) and nigrostriatal (A9) dopamine neurons. *Brain Res.* 415: 257-269.

Hayashi T. (1967) The relationship between circadian sleep and gamma-hydroxybutyrate (4HB) in brain. *Exp. Med. Surg.* 25: 148-155.

Hechler V., Bourguignon J.J., Wermuth C.G., Mandel P. et Maitre M.. (1985) Gamma-hydroxybutyrate uptake by rat brain striatal slices. *Neurochem. Res.* 10: 387-396.

Hechler V., Gobaille S., Bourguignon J.J. et Maitre M. (1991) Extracellular events induced by K-hydroxybutyrate in striatum: A microdialysis study. *J. Neurochem.* 56:938-944.

Hechler V., Gobaille S. et Maitre M. (1992) Selective distribution pattern of gamma-hydroxybutyrate receptors in the rat forebrain and midbrain as revealed by quantitative autoradiography. *Brain Res.* 572: 345-348.

Hechler V., Peter P., Gobaille S., Bourguignon J.J., Schmitt M., Ehrhardt J.D., Mark J. et Maitre M. (1993) gamma-Hydroxybutyrate ligands possess antidopaminergic and neuroleptic-like activities. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 264:1406-1414.

Hechler V., Ratomponirina C. et Maitre M. (1997) Gamma-hydroxybutyrate conversion into GABA induces displacement of GABA-B binding that is blocked by valproate and ethosuximide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 281: 753-760.

Hedner Th. et Lundborg P. (1983) Effects of gammahydroxybutyric acid on serotonin synthesis, concentration and metabolim in the developing rat brain. *J. Neural. Trans.* 57:39-48.

Hill D.R. et Bowery N.G. (1981) [<sup>3</sup>H]-baclofen and [<sup>3</sup>H]-GABA bind to bicuculine insensitive GABA-B sites in the rat brain. *Nature* 290:149-152.

Hobson J.A., McCarley R.W. et Wyzinski P.W. (1975) Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science* 189: 55-58.

Hoes M.J.A.J.M., Vree T.B. et Guelen P.J.M. (1980) Gamma-hydroxybutiric acid as hypnotic. *L'Encéphale* 4: 93-99.

Jennes L., Stumpf W. et Kalivas P.W. (1982) Neurotensin: topographical distribution in the rat brain by immunohistochemistry. *J. Comp. Neurol.* 210: 213-224.

Jouvet M., Cier A., Mounier D. et Valatx J.L. (1961) Effets du 4-butyrolactone et du 4-hydroxybutyrate de sodium sur l'E.E.G. et le comportement du chat. *C.R.Soc.Biol.* 155: 1313-1316.

Kalivas P.W. et Duffy P. (1990) Effects of acute and daily neurotensin and enkephalin treatments on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *J. Neurosci.* 10: 2940-2949.

Kalivas P.W. et Duffy P. (1991) A comparison of axonal and somatodendritic dopamine release using in vivo dialysis. *J. Neurochem.* 56: 961-967.

Kalivas P.W., Striplin C., Steketee J.D., Kitenich M.A. et Duffy P. (1992) Cellular mechanisms of behavioral sensitization to drugs of abuse. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 624: 128-135.

Kalivas P.W., Widerlow E., Stanley D., Breese G.R. et Prange Jr. A.J. (1983) Enkephalin action on the mesolimbic dopamine system: a dopamine-dependant and

a dopamine-independent increase in locomotor activity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 227: 229-237.

Kamberli I.A., Mical R.S. et Porter J.C. (1971) Effect of anterior pituitary perfusion and intraventricular injection of catecholamines on prolactin release. *Endocrinology* 88:1012-1020.

Kaufmann E.E., Porrino L.J. et Nelson T. (1990) Pyretic action of low doses of gamma-hydroxybutyrate in rats. *Biochem. Pharmacol.* 12:2637-2640.

Kelland M.D., Freeman A.S. et Chiodo L.A. (1990) Serotonergic afferent regulation of the basic physiology and pharmacological responsiveness of nigrostriatal dopamine neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 253: 803-811.

Klitenick M.A., Deutch A.Y., Churchill L. et Kalivas P.W. (1992) Topography and functional role of dopaminergic projections from the ventral mesencephalic tegmentum to the ventral pallidum. *Neuroscience* 50: 371-386.

Kolb B. (1984) Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. *Brain Res. Rev.* 8:65-98.

Koob, G.F., Stinus L. et Le Moal M. (1981) Hyperactivity and hypoactivity produced by lesions to the mesolimbic dopamine system. *Beh. Brain Res.* 3: 341-359.

Laborit H., Jouany J.M., Gerard J. et Fabiani P. (1960) Généralités concernant l'étude expérimentale et l'emploi clinique du gamma-hydroxybutyrate de Na. *Agressologie* 1:397-406.

Laborit H. (1964) Sodium 4-hydroxybutyrate. *Int. J. Neuropharmacol.* 3:433-452.

Ladinsky H., Consolo S., Zatta A. et Vezzani A. (1983) Mode of action of gamma-butyrolactone on the central cholinergic system. *Naun-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 322: 42-48.

Lapierre O., Montplaisir J., Lamarre M. et Bédard M.A. (1990) The effect of gamma-hydroxybutyrate on nocturnal and diurnal sleep of normal subjects: Further considerations on REM sleep-triggering mechanisms. *Sleep* 13:24-30.

Lavin A. et Garcia-Muñoz M. (1986) Electrophysiological changes in substantia nigra after dynorphin administration. *Brain Res.* 369: 298-302.

Levy M.I., Davis B.M., Mohs R.C., Trigou G.C., Mathé A.A. et Davis K.L. (1983) Gamma-hydroxybutyrate in the treatment of schizophrenia. *Psy. Res.* 9: 1-8.

MacLeod R.M. (1969) Influence of norepinephrine and catecholamine-depleting agents on the synthesis and release of prolactin and growth hormone. *Endocrinology* 85: 916-923.



MacMillan V. (1978) The effects of gamma-hydroxybutyrate and gamma-butyrolactone upon the energy metabolism of the normoxic and hypoxic rat brain. *Brain. Res.* 146:117-187.

Maeda H. et Mogenson G.J. (1980) An electrophysiological study of inputs to neurons of the ventral tegmental area from the nucleus accumbens and medial preoptic-anterior hypothalamic areas. *Brain Res.* 197: 365-377.

Maitre M., Hechler V., Vayer P., Gobaille S., Cash C.D., Schmitt M. et Bourguignon J.J. (1990) A specific gamma-hydroxybutyrate receptor ligand possesses both antagonistic and anticonvulsant properties. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 255: 657-663.

Maitre M., Rumigny J.F., Cash C. et Mandel P. (1983a) Subcellular distribution of gamma-hydroxybutyrate binding sites in rat brain principal localization in the synaptosomal fraction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 110:262-265.

Maitre M., Rumigny J.F. et Mandel P. (1983b) Positive cooperativity in high affinity binding sites for K-hydroxybutyric acid in rat brain. *Neurochem. Res.* 8:113-120.

Maitre M. et Mandel P. (1984) Propriétés permettant d'attribuer au gamma-hydroxybutyrate la qualité de neurotransmetteur du système nerveux central. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 298 (Série III). 12:341-345.

- Maitre M. (1997) The gamma-hydroxybutyrate signalling system in brain: organization and functional implication. *Progress in Neurobiol.* 51:337-361.
- Mamelak M., Escriu J.M. et Stokan O. (1977) The effects of gamma-hydroxybutyrate on sleep. *Biol. Psychiatry* 12:273-288.
- Mantz J., Milla C., Glowinski J. et Thierry A.M. (1988) Differential effects of ascending neurons containing dopamine and noradrenaline in the control of spontaneous activity and of evoked responses in the rat prefrontal cortex. *Neuroscience* 27:517-526.
- Marcus R.J., Winters W.D., Mori K. et Spooner C.E. (1967) EEG and behavioral comparison of the effects of gamma-hydroxybutyrate, gamma-butyrolactone and short chain fatty acids in the rat. *Int. J. Neuropharmacol.* 6:175-185.
- Martellotta M.C., Fattore L., Cossu G. et Fratta W. (1997) Rewarding properties of gamma-hydroxybutyric acid: an evaluation through place preference paradigm. *Psychopharmacology* 132:1-5.
- Mathivet P., Bernasconi R., De Barry J., Marescaux C. et Bittiger H. (1997) Binding characteristics of gamma-hydroxybutyric acid as a weak but selective GABA-B receptor agonist. *Eur. J. Pharmacol.* 321:67-75.

Matsuzaki M. (1967) Sleep induced by sodium butyrate in the cat. *Brain Res* 4:206-222.

Mereu G. et Gessa G.L. (1985) Low doses of ethanol inhibit the firing of neurons in the substantia nigra, pars reticulata: a GABAergic effect? *Brain Res.* 360: 325-330.

Metcalf D.R., Emde R.N. et Stripe J.T. (1966) An EEG-behavioral study of sodium hydroxybutyrate in humans. *Electroencephalogr. clin. Neurophysiol.* 20:506-512.

Miguez I., Aldegunde M., Duran R. et Veira J.A. (1988) Effects of low doses of gamma-hydroxybutyric acid on serotonin, noradrenaline and dopamine concentrations in rat brain areas. *Neurochem. Res.* 13: 531-533.

Miller F.E., Heffner T.G., Kotake C. et Seiden L.S. (1981) Magnitude and duration of hyperactivity following neonatal 6-hydroxydopamine is related to the extent of brain dopamine depletion. *Brain Res.* 229: 123-132.

Montplaisir J. et Barbezieux M. (1981) Le gamma-hydroxybutyrate de sodium (GHB) dans le traitement de l'hypersomnie essentielle. *Can. J. Psychiatry* 26: 162-166.

Morgenroth V., Walters J.R. et Roth R.H. (1976) Dopaminergic neurons: alteration in the kinetic properties of tyrosine hydroxylase after cessation of impulse flow.

*Biochem. Pharmacol.* 25:655-661.

Murrin L.C. et Roth R.H. (1976) Dopaminergic neurons: effects of electrical stimulation on dopamine biosynthesis. *Mol. Pharmacol.* 12:463-475.

Murrin L.C. et Roth R.H. (1976) Dopaminergic neurons: reversal of effects elicited by gamma-butyrolactone by stimulation of the nigro-neostriatal pathway. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 295:15-20.

Muyard J.P. et Laborit H.M. (1977) Gamma-hydroxybutyrate. Dans *Psychotherapeutic drugs, part II*, Usdin E. et Forrest I., éditeurs. Marcel Dekker: New York. pp. 1339-1375.

Nagai T., McGeer P.L. et McGeer E.G. (1983) Distribution of GABA-T-intensive neurones in the rat forebrain and midbrain. *J. Comp. Neurol.* 218: 220-238.

Nauta W.J.H., Smith G.P., Faull R.L.M. et Domesick V.B. (1978) Afferents connections and nigral afferents of the nucleus accumbens septi in the rat. *Neuroscience* 3: 385-401.

Nelson T., Kaufman E., Kline J. et Sokoloff L. (1981) The extraneuronal distribution of gamma-hydroxybutyrate. *J. Neurochem.* 37: 1345-1348.

Oertel W.H., Tappaz M.L., Berod A. et Magnaini E. (1982) Two-color immunohistochemistry for dopamine and GABA neurons in rat substantia nigra and zona incerta. *Brain Res. Bull.* 9: 463-474.

Olpe H.R. et Koella W.P. (1979) Inhibition of nigral and neocortical cells by gamma-hydroxybutyrate: a microiontophoretic investigation. *Eur. J. Pharmacol.* 53: 359-364.

Pénit-Soria J., Audinat E. et Crepel F. (1987) Excitation of rat prefrontal cortical neurons by dopamine: an in vitro electrophysiological study. *Brain Res.* 425: 263-274.

Phillips A.G., Pfaus J.G., Blahs C.D. Dopamine and motivated behavior: insights provided by *in vivo* analysis. Dans: *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action*. Willner p. et Scheel-Kruger J. éditeurs. Wiley, Chichester, 1991. pp. 200-224.

Pirot S., Godbout R., Mantz J.P., Tassin J.P., Glowinski J. et Thierry A.M. (1992) Inhibitory effects of ventral tegmental area stimulation on the activity of prefrontal cortical neurons: evidence for the involvement of both dopaminergic and GABAergic components. *Neuroscience* 49: 857-865.

Pivik R.T, Sircar S. et Braun C. (1981) Nuchal muscle tonus during sleep, wakefulness and tonic immobility in the rabbit. *Physiol. Behav.* 26: 13-20.

Polc P. et Ducic I. (1991) Benzodiazepine antagonist flumazenil reduces bicuculline-induced enhancement of neuronal activity in the spinal cord. *Neuropharmacology* 30: 107-111.

Racagni G., Apud J., Cocchi D., Locatelli V. et Muller E.E. (1982) GABAergic control of anterior pituitary hormone secretion. *Life Sci.* 823-838.

Rétaux S., Besson M.J. et Penit-Soria J. (1991) Opposing effects of dopamine D<sub>2</sub> receptor stimulation on the spontaneous and electrically evoked release of [<sup>3</sup>H] GABA on rat prefrontal cortex slices. *Neuroscience* 42: 61-71.

Robertson B.C., Hommer D.W. et Skirboll L.R. (1987) Electrophysiological evidence for a non-opioid interaction between dynorphin and GABA in the substantia nigra in the rat. *Neuroscience* 23: 483-490.

Roth R.H. et Giarman N.J. (1966) Gamma-butyrolactone and gamma-hydroxybutyric acid- I Distribution and metabolism. *Biochem. Pharmacol.* 15: 1333-1348.

Roth R.H. et Sühr Y. (1970) Mechanism of the gamma-hydroxybutyrate-induced increase in brain dopamine and its relationship to "sleep". *Biochem. Pharmacol.* 19:3001-3012.

Roth R.H. (1970) Formation and distribution of gamma-hydroxybutyric acid in mammalian brain. *Biochem. Pharmacol.* 19: 3013-3019.

Roth R.H., Walters J.R. et Aghajanian G.K. Effect of impulse flow on the release and synthesis of dopamine in the rat striatum. Dans *Frontiers in catecholamine research*. Usdin E. et Snyder S.H., éditeurs. Pergamon, 1973, p. 567-574.

Roth R.H., Doherty J.D. et Walters J.R. (1980) Gamma-hydroxybutyrate: a role in the regulation of central dopaminergic neurons? *Brain Res.* 189:556-560.

Roth R.H. Biochemical correlates of the electrophysiological activity of dopaminergic neurons: reflections on two decades of collaboration with electrophysiologists. Dans: *Neurophysiology of dopaminergic systems - Current status and clinical perspectives*. Chiodo L.A. et Freeman A.S., éditeurs. Lakeshore Publishing Company, 1987. p. 187-203.

Roth R.H., Walters J.R., Murrin L.C. et Morgenroth III, V.H. (1975) Dopamine neurons: Role of impulse flow and presynaptic receptors in the regulation of tyrosine hydroxylase. Dans *Pre- and Postsynaptic Receptors*. Usdin E. et Bunney W.E. Jr., éditeurs. Marcel Dekker, New York. pp. 5-46

Rumigny J.F., Maitre M., Cash C. et Mandel P. (1980) Specific and non-specific succinic semialdehyde reductases from rat brain: isolation and properties. *FEBS lett.* 117:111-116.

Rumigny J.F., Maitre M., Cash C. et Mandel P. (1981) Regional and subcellular localization in rat brain of the enzymes that can synthesize gamma-hydroxybutyric acid. *J. Neurochem.* 36:1433-1438.

Salamone J.D. (1991) Behavioral pharmacology of dopamine systems: a new synthesis. Dans: *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action*. Willner p. et Scheel-Kruger J. éditeurs. Wiley, Chichester, 1991. pp.599-613.

Sawaguchi T. et Goldman-Rakic P.S. (1991) D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science* 251:947-950.

Schmidt-Mutter C., Pain L., Sandner G., Gobaille S. et Maitre M. (1998) The anxiolytic effect of gamma-hydroxybutyrate in the elevated plus maze is reversed by the benzodiazepine receptor antagonist, flumazenil. *Eur. J. Pharmacol.* 342: 21-27.

Schwartzing R.K.W. et Huston, J.P. (1996) The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Prog. Neurobiol.* 50: 275-331.



Scrima L., Hartman P.G., Johnson F.H., Thomas E.E. et Hiller F.C. (1990) The effect of gamma-hydroxybutyrate on the sleep of narcolepsy patients: a double-blind study. *Sleep* 13:479-490.

Seeman P. et Van Tol H.H.M. (1994) Dopamine receptor pharmacology. *Trends Pharmacol. Sci.* 15: 264-270.

Seroogy K.B., Dangaran K., Lim S., Haycock J.W. et Fallon J.H. (1989) Ventral mesencephalic neurons containing both cholecystokinin- and tyrosine hydroxylase-like immunoreactivities project to forebrain regions. *J. Comp. Neurol.* 279: 397-414.

Sesack S.R. et Bunney B.S. (1989) Pharmacological characterization of the receptor mediating electrophysiological responses to DA in the rat medial frontal cortex: a microiontophoretic study. *J. Pharm. Exp. Ther.* 248:1323-1331.

Sesack S.R. et Pickel V.M. (1992) Ventral tegmental area neurons receive convergent GABAergic and enkephalinergic input from the same and morphologically distinct terminals. *Soc. Neurosci. Abstr.* 18: 417.5.

Smith I., Beveridge M.E. et Wyllie A.M. (1972) 4-Hydroxybutyrate narcosis for ophthalmic surgery. *Br. J. Ophthalmol.* 56:429-430.

Smith Y. et Bolam J.P. (1990) The output neurones and the dopaminergic neurones of the substantia nigra receive a GABA-containing input from the globus pallidus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 296: 47-64.

Smythe G.A., Brandstater J.F. et Lazarus L. (1975) Serotonergic control of rat growth hormone secretion. *Neuroendocrinology* 17:245-257.

Snead O.C. (1977) Gamma-hydroxybutyrate: Minireview. *Life Sci.* 20:1935-1943.

Snead O.C., Liu C.C. et Bearden L.J. (1982) Studies on the reation of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) to gamma-aminobutyric acid (GABA): evidence that gaba is not the sole source for GHB in the brain. *Biochem. Pharmacol.* 31:3917-3923.

Snead O.C. et Liu C.C. (1984) Gamma-hydroxybutyric acid binding sites in rat and human brain synaptosomal membranes. *Biochem. Pharmacol.* 33:2587-2590.

Snead O.C. (1987) Gamma-hydroxybutyric acid in subcellular fractions of rat brain. *J. Neurochem.* 48: 196-201.

Snead O.C. (1988) Gamma-hydroxybutyrate model of generalized absence seizures. Further characterizatn and comparison with other absence models. *Epilepsia* 29:361-368.

Snead O.C. (1991) The gamma-hydroxybutyrate model of absence seizures: correlation of regional brain levels of gamma-hydroxybutyric acid and gamma-butyrolactone with spike wave discharges. *Neuropharmacology* 30: 161-167.

Snead O.C. et Liu C.C. (1993) GABA-A receptor function in the gamma-hydroxybutyrate model of generalized absence seizures. *Neuropharmacol.* 32: 401-409.

Spano P.F. et Przegalinski, E. (1973) Stimulation of serotonin synthesis by anesthetic and non-anesthetic doses of gamma-hydroxybutyrate. *Pharmacol. Res. Commun.* 5: 55-69.

Stadler H., Lloyd K.G. et Bartholini G. (1974) Dopaminergic inhibition of striatal cholinergic neurons: synergistic blocking action of gamma-butyrolactone and neuroleptic drugs. *Nauyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 283:129-134.

Sugita S., Johnson S.W. et North R.A. (1992) Synaptic inputs to GABA-A et GABA-B receptors originates from discrete afferent neurons. *Neurosci Lett.* 134: 207-211.

Swanson L.W. (1982) The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Res. Bull.* 9: 321-353.

Tabakoff B. et Von Wartburg J.P. (1975) Separation of aldehyde reductases and alcohol dehydrogenase from brain by affinity chromatography: Metabolism of succinic semialdehyde and ethanol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 63: 957-966.

Takahara J., Arimuna A. et Schally A.V. (1974) Suppression of prolactin release by a purified porcine PIF preparation and catecholamines infused into a rat hypophysal portal vessel. *Endocrinology* 95:462-465.

Takahara J., Yukoni S., Yakushiji W., Yamauchi J., Yamane Y. et Ofuji T. (1977) Stimulatory effects of gamma-hydroxybutyric acid on growth hormone and prolactin release in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44: 1014-1017.

Thierry A.M., Javoy F., Glowinski J. et Kety S.S. (1968) Effects of stress on the metabolism of norepinephrine, dopamine and serotonin in the central nervous system of the rat. Modifications of norepinephrine turnover. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 163:163-171.

Thierry A.M., Tassin J.P., Blanc G. et Glowinski J. (1976) Selective activation of mesocortical DA system by stress. *Nature* 263: 242-244.

Thierry A.M., Deniau J.M., Hervé D. et Glowinski J. (1980) Electrophysiological evidence for non-dopaminergic mesocortical and mesolimbic neurons in the rat. *Brain Res.* 201: 210-214.

Thierry A.M., Godbout R., Mantz J., et Glowinski J. (1990) Influence of the ascending monoaminergic systems on the activity of the rat prefrontal cortex. *Prog. Brain Res.* 85:357-365.

Uhl G.R., Goodman R.R. et Snyder S.H. (1979) Neurotensin-containing cell bodies, fibers and nerve terminals in the brain stem of the rat: immunohistochemical mapping. *Brain Res.* 167: 77-91.

Ungerstedt U. (1971) Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system in the rat brain. *Acta Physiol. Scand.* 82 (suppl. 376): 69-93.

Ungerstedt U. et Arbuthnott G.W. (1970) Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res.* 24: 485-493.

Vayer P., Mandel P. et Maitre M. (1985) Conversion of gamma-hydroxybutyrate to gamma-aminobutyrate in vitro. *J. Neurochem.* 45: 810-814.

Vayer P., Mandel P. et Maitre M. (1987) Gamma-hydroxybutyrate, a possible neurotransmitter. *Life Sci.* 41:1547-1557.

Vayer P. et Maitre M. (1989) Gamma-hydroxybutyrate stimulation of the formation of cyclic GMP and inositol phosphates in rat hippocampal slices. *J. Neurochem.* 52: 1382-1387.

Vickers M.D. (1969) Gamma-hydroxybutyric acid. *Intern. Anesthesiol. Clin.* 7:75.

Vijayan E. et McCann S.M. (1978) The effects of the intraventricular injection of gamma-aminobutyric acid (GABA) on prolactin and gonadotropin release in conscious female rats. *Brain Res* 155: 35-43.

Waldmeier P. et Fehr B. (1978) Effects of baclofen and gamma-hydroxybutyrate on rat striatal and mesolimbic 5-HT metabolism. *Eur. J. Pharmacol.* 49:177-184.

Walters J.R. et Roth R.H. (1972) Effect of gamma-hydroxybutyrate on dopamine and dopamine metabolites in the rat striatum. *Biochem. Pharmacol.* 21:2111-2121.

Walters J.R., Aghajanian G.K. et Roth R.H. (1972) Dopaminergic neurons: Inhibition of firing by gamma-hydroxybutyrate. *Proceedings of the Fifth International Congress of Pharmacology.* p.246.

White F.J. (1996) Synaptic regulation of mesocorticolimbic dopamine neurons. *Annu. Rev. Neurosci.* 19: 405-436.

Wise R.A. et Rompré P.P. (1989) Brain dopamine and reward. *Annu. Rev. Psychol.* 40: 191-225.

Wolfson L.I., Sakurada O. et Sokoloff L. (1977) Effects of gamma-hydroxybutyrate on local cerebral glucose utilization in the rat. *J. Neurochem.* 29:777-783.

Yamada Y., Yamamoto J., Fujiki A., Hishikawa Y. et Kanedo Z. (1967) Effects of butyrolactone and gamma-hydroxybutyrate on the EEG and sleep cycle in man. *Electroencephalog. Clin. Neurophysiol.* 22: 558-562.

Yim C.Y. et Mogenson G.J. (1980) Electrophysiological studies of neurons in the ventral tegmental area of Tsai. *Brain Res.* 181: 301-313.

Xie X. et Smart T.G. (1992) Gamma-hydroxybutyrate hyperpolarizes hippocampal neurons by activating GABA-B receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 212: 291-294.

## Remerciements



Je tiens à remercier toutes les personnes impliquées de près ou de loin dans la réalisation de ce mémoire, plus particulièrement monsieur Roger Godbout (Ph.D.) pour sa disponibilité constante et son amour communicatif de la recherche scientifique. Je tiens également à souligner la participation de Véronique Girodias et Annie Chantale Dallaire, sans qui ce travail n'aurait pas été possible. Je remercie également mes parents, Hélène et Michel, pour leur support, et merci à Janick pour son aide technique inestimable et sa présence.