

2M11.2701.10

Université de Montréal

**Effets de traitements aux antidépresseurs sur les
transporteurs
sérotoninergiques et noradrénergiques chez le rat : une étude
radioautographique**

par

Caroline Hébert

Département de Physiologie

Faculté de Médecine

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

Mai, 1999

© Caroline Hébert, 1999



W
4
U58
1999
V.047

Identification du Jury

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

**Effets de traitements aux antidépresseurs sur les transporteurs
sérotoninergiques et noradrénergiques chez le rat : une étude
radioautographique**

présenté par:

Caroline Hébert

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Dr Vincent Castellucci, Ph.D.

Dr Tomás A. Reader, M.D., Ph.D.

Dr Robert Élie, M.D., Ph.D.

Dr Pierre-André Lavoie, Ph.D.

Président-rapporteur

Directeur de Recherche

Co-directeur de Recherche

Membre du jury

Mémoire accepté le 6 juillet 1999

Sommaire

Les antidépresseurs tricycliques (TCAs) et les inhibiteurs de recapture sérotoninergique (SRIs) sont les médicaments les plus fréquemment utilisés dans le traitement de la dépression et autres troubles affectifs. Ils bloquent les sites de recapture, ou transporteurs, en quelques minutes; cependant leur effet thérapeutique ne se produit qu'après 2 ou 3 semaines. Donc, le blocage des transporteurs de la noradrénaline (NA) et/ou de la sérotonine (5-HT) ne peut être responsable de leurs effets cliniques, à moins que ceux-ci ne soient dûs à des modifications à long-terme impliquant des changements dans l'expression, la distribution et/ou la densité des transporteurs. La fluoxétine et la venlafaxine agissent directement sur les transporteurs sérotoninergiques pour bloquer la recapture. Notre hypothèse est que le traitement chronique avec ces deux molécules devrait agir principalement sur les transporteurs de la sérotonine (5-HT), tandis que la désipramine et la venlafaxine, qui bloquent directement les sites de recapture noradrénergiques, devraient influencer les transporteurs de la noradrénaline (NA). Lors de cette étude, nous avons comparé les effets des bloqueurs et des non-bloqueurs sur les transporteurs 5-HT et NA dans des régions définies du cerveau du rat.

Des rats Sprague-Dawley ont été traités pendant 21 jours par administration intrapéritonéale quotidienne d'un de deux TCAs, soit désipramine (DMI; 10 mg/Kg) ou trimipramine (TRI; 5 mg/Kg), ou d'un de deux SRIs, soit fluoxétine (FLU; 2 mg/Kg) ou venlafaxine (VEN; 5mg/Kg); un cinquième groupe de rats, utilisé comme groupe témoin, a reçu des injections quotidiennes de salin. Les études topologiques ont été effectuées par radioautographie quantitative, en utilisant le [³H]citalopram pour marquer les transporteurs sérotoninergiques et la [³H]nisoxetine pour les sites de recapture noradrénergique de haute affinité. Nous avons lié ("channel link") la liaison spécifique avec la coupe histologique correspondante, ce qui nous a permis une analyse précise des différentes couches

corticales de plusieurs régions du cortex du rat.

Nous avons trouvé que le traitement avec les non-bloqueurs sérotoninergiques, soit la désipramine et de la trimipramine, entraînait une régulation à la hausse des transporteurs sérotoninergiques dans les cortex cingulaire, agrulaire insulaire et périrhinal par comparaison à l'effet de la fluoxétine ou la venlafaxine. Par ailleurs, une régulation à la hausse des sites de recapture noradrénergiques a été observée suite aux traitements chroniques avec la trimipramine ou la fluoxétine, pour toutes les régions cérébrales étudiées, par comparaison aux traitements aux bloqueurs noradrénergiques, soit la désipramine ou la venlafaxine.

Cette approche nous a permis de comparer différents antidépresseurs, et de déterminer leur transporteur-cible de préférence dans des régions définies du cerveau antérieur du rat.

Table des Matières

| | |
|---|----------|
| Sommaire | iii |
| Liste des tableaux | ix |
| Liste des figures | x |
| Liste des abréviations | xi |
| Remerciements | xiv |
| | |
| Chapitre I. Introduction | 1 |
| | |
| 1.1 Les systèmes sérotoninergiques et noradrénergiques | 2 |
| 1.1.1 La découverte des neurotransmetteurs | 2 |
| 1.1.2 Définition de la neurotransmission chimique | 4 |
| | |
| 1.2 Aspects biochimiques du système sérotoninergique | 7 |
| 1.2.1 La biosynthèse de la sérotonine | 7 |
| 1.2.2 Identification des voies sérotoninergiques | 10 |
| 1.2.3 Les voies sérotoninergiques | 11 |
| 1.2.4 Le système sérotoninergique caudal | 11 |
| 1.2.5 Le système sérotoninergique rostral | 12 |
| | |
| 1.3 Aspects biochimiques du système noradrénergique | 13 |
| 1.3.1 La biosynthèse de la noradrénaline | 13 |
| 1.3.2 Identification des voies noradrénergiques | 15 |
| 1.3.3 Les voies noradrénergiques | 15 |
| | |
| 1.4 Les transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques | 16 |
| 1.4.1 La découverte du transporteur noradrénergique | 16 |

| | | |
|-------|--|----|
| 1.4.2 | Structure moléculaire des transporteurs monoaminergiques | 18 |
| 1.4.3 | Évolution des transporteurs | 18 |
| 1.4.4 | Mécanisme des transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques | 20 |
| 1.4.5 | Régulation des transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques | 22 |
| 1.4.6 | Localisation des transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques | 23 |
| 1.5 | Implication de la sérotonine et de la noradrénaline dans la dépression et les troubles affectifs | 24 |
| 1.5.1 | Les années 1950 | 24 |
| 1.5.2 | Les théories biologiques de la dépression | 25 |
| 1.5.3 | Évidences de l'implication du système sérotoninergique dans la dépression | 26 |
| 1.5.4 | Evidences de l'implication du système noradrénergique dans la dépression | 28 |
| 1.6 | La problématique du délai thérapeutique | 29 |
| 1.7 | Molécules antidépressives utilisées dans cette étude | 30 |
| 1.7.1 | La désipramine | 30 |
| 1.7.2 | La trimipramine | 30 |
| 1.7.3 | La fluoxétine | 31 |
| 1.7.4 | La venlafaxine | 32 |

| | |
|--|----|
| Chapitre II. La problématique | 34 |
| Chapitre III. Analyses statistiques | 37 |
| 3.1 Analyses à priori | 38 |
| 3.2 Analyses à posteriori | 39 |
| Chapitre IV. Résultats | 41 |
| 4.1 Effects of chronic antidepressant treatments on 5-HT and NA transporters in rat brain: an autoradiographic study | 42 |
| Chapitre V. Discussion générale | 72 |
| 5.1 La technique de radioautographie | 73 |
| 5.2 Application anatomique de la technique de radioautographie quantitative | 79 |
| 5.3 Les modèles animaux de la dépression | 80 |
| 5.4 Interactions des systèmes monoaminergiques | 82 |
| 5.4.1 Interactions entre les systèmes sérotoninergiques et noradrénergiques | 83 |
| 5.4.2. Interactions entre les systèmes sérotoninergiques et dopaminergiques | 85 |
| 5.4.3 Interactions entre les systèmes noradrénergiques et dopaminergiques | 88 |
| 5.4.4 La maladie dépressive et les interactions entre les trois systèmes monoaminergiques | 90 |

| | | |
|-------------------|--|---------|
| 5.4.5 | Discussion des résultats en fonction des interactions monoaminergiques | 92 |
| 5.5 | Remise en question des théories sérotoninergiques et noradrénergiques de la dépression | 92 |
| 5.6 | Hétérogénéité de la réponse thérapeutique | 97 |
| Annexe | | 100 |
| | Autorisation des auteurs | 100 bis |
| | Renseignements concernant l'article | 101 |
| Références | | 102 |

Liste des tableaux

| | | |
|------|---|----|
| I. | Action des traitements pharmacologiques | 36 |
| II. | Transporteurs sérotoninergiques dans les aires corticales | 64 |
| III. | Transporteurs sérotoninergiques dans l'hippocampe et les noyaux Raphé et Locus coeruleus du tronc cérébral | 65 |
| IV. | Transporteurs noradrénergiques dans les aires corticales | 66 |
| V. | Transporteurs noradrénergiques dans l'hippocampe et les noyaux du Raphé et Locus coeruleus du tronc cérébral | 67 |

Liste des figures

| | | |
|----|---|----|
| 1. | Étapes de la neurotransmission | 6 |
| 2. | Synthèse de la sérotonine | 8 |
| 3. | Synthèse de la noradrénaline | 14 |
| 4. | Structure moléculaire des transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques | 19 |
| 5. | Schéma du mécanisme de transport du site de recapture sérotoninergique | 21 |
| 6. | Radioautogrammes du marquage au [³ H]citalopram | 69 |
| 7. | Radioautogrammes du marquage à la [³ H]nisoxétine | 71 |
| 8. | Schéma de l'échantillonnage radioautographique | 78 |

Liste des abréviations

| | |
|------------------|--|
| 5,7-DHT | 5,7-dihydroxytryptamine |
| 5-HIAA | Acide 5-hydroxyindole-3-acétique |
| 5-HT | sérotonine |
| 6-OHDA | 6-hydroxydopamine |
| AADC | Décarboxylase des L-acides aminés aromatiques |
| AI | Cortex agranulaire insulaire antérieur |
| AIP | Cortex agranulaire insulaire postérieur |
| ANOVA | Analyse de variance |
| ASA | Activité spécifique “actuelle” au moment de l’incubation |
| BDNF | Facteur neurotrophique dérivé du cerveau |
| Ca ⁺⁺ | Calcium |
| CA1 | Région 1 de la corne d’Ammon |
| CA2 | Région 2 de la corne d’Ammon |
| CA3 | Région 3 de la corne d’Ammon |
| CA4 | Région 4 de la corne d’Ammon |
| cAMP | AMP cyclique |
| cDNA | ADN complémentaire |
| Ci | Curies |
| Cin | Cortex cingulaire |
| CNS | Système nerveux central |
| CRF | Facteur de relâche de la corticotropine |
| CSF | Liquide céphalo-rachidien |
| DBH | Dopamine- β -hydroxylase |
| DG | Gyrus dentelé de l’hippocampe |
| DMI | Désipramine |
| DPM | Désintégrations par minute |
| ECT | Électroconvulsivothérapie |

| | |
|---------|---|
| Ent | Cortex entorhinal |
| Fro | Cortex frontal |
| FLU | Fluoxétine |
| GABA | Acide γ -amino-butyrrique |
| HCl | Hydrochlorure |
| HVA | Acide homovanilique |
| IA | Plan interaural |
| KCl | Chlorure de potassium |
| L-5-HTP | L-5-hydroxytryptophane |
| LC | Locus coeruleus |
| LNNA | Acid aminé neutre de haut poids moléculaire |
| MAO | Monoamine oxidase |
| mol | Moles |
| mRNA | ARN messenger |
| NA | Noradrénaline |
| NaCl | Chlorure de sodium |
| NARI | Inhibiteur de la recapture noradrénergique |
| NAT | Transporteur noradrénergique |
| nRD | Noyau Raphé dorsalis |
| nRM | Noyau Raphé médialis |
| nRMg | Noyau Raphé magnus |
| nROb | Noyau Raphé obscurus |
| nRPI | Noyau Raphé pallidus |
| Occ | Cortex occipital |
| OD | Densité optique |
| ODV | O-desméthyl-venlafaxine |
| Par | Cortex pariétal |
| PCR | Polymérase de réaction en chaîne |
| PET | Topographie par émission de positrons |

| | |
|------|--|
| Pir | Cortex piriforme |
| PKC | Protéine kinase C |
| PNMT | Phényléthanolamine <i>N</i> -méthyltransférase |
| PRh | Cortex périrhinal |
| S | Subiculum |
| SAMe | <i>S</i> -adénosyl-méthionine |
| SET | Transporteur sérotoninergique |
| SNRI | Inhibiteur de la recapture sérotoninergique et noradrénergique |
| SRI | Inhibiteur de recapture sérotoninergique |
| SSRI | Inhibiteur sélectif de recapture sérotoninergique |
| TCA | Tricyclique |
| Tem | Cortex temporal |
| TH | Tyrosine hydroxylase |
| TRI | Trimipramine |
| VEN | Venlafaxine |
| VMAT | Transporteur vésiculaire des monoamines |
| VNTR | Répétition en tandem à nombre variable |

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu mon directeur de recherche, le Dr. Tomás A. Reader, de m'avoir donné l'opportunité de compléter mes travaux de maîtrise dans son laboratoire. Je n'aurais pû souhaiter un meilleur environnement de travail et d'étude. Merci d'avoir toujours été généreux de votre temps, de votre patience et de vos connaissances...

Je remercie très sincèrement mon co-directeur, le Dr. Robert Élie, de m'avoir encouragé à poursuivre des études supérieures et d'avoir toujours été disponible afin de me guider par ses sages conseils . Merci pour tout...

Puisse ce mémoire aussi témoigner de mon immense gratitude...

À mes collègues et copines Nathalie et Angéline pour leur amitié et leur soutien...

À mes collègues Fatiha Radja, Emmanuel Nénonéné, Martin Carli, Ning Huang, Fatima Amdiss, Ariel Ase, Raquel Aloyz, Nathalie LeMarec et Catherine Strazielle, pour leur collaboration scientifique enrichissante...

À Jeanne Lavoie et Félicianna Cantin, pour avoir eu la patience de m'enseigner les techniques histologiques...

À mon cousin Pierre pour son encouragement et son soutien financier...

À Madeleine Orsiny pour sa présence, son écoute et son affection...

À Claude Gauthier pour son talent...

À tous les membres du département de physiologie, au sein duquel j'ai vécu des moments aussi agréables qu'enrichissants...

Et finalement, je tiens à remercier tout particulièrement mon mari, Pierre, pour son soutien, son amour et sa compréhension lors de ces mois où mon travail occupait la meilleure partie de mon temps et de mon attention...

Merci...

Pour mon mari et meilleur ami,

Pierre.

Chapitre I - Introduction

1.1 Les systèmes sérotoninergiques et noradrénergiques

1.1.1 La découverte des neurotransmetteurs

Bien que l'existence de substances messagères chimiques fut déjà postulée au début du XXIème siècle suite aux travaux de John Langley et Henry Dale (Langley, 1901; Dale 1906), ce n'est qu'en 1921 qu'elle fut confirmée par les expériences classiques d'Otto Loewi sur le rythme cardiaque de la grenouille (Loewi, 1921). La substance qu'il découvrit, et appela le "Vagusstoff"- substance vagale, s'avéra être l'acétylcholine. En 1936, Loewi et Dale obtinrent le prix Nobel de médecine pour leur découverte de la neurotransmission chimique (Loewi, 1960).

En 1868, Ludwig et Schmidt rapportèrent que la perfusion de muscles de chiens avec du sang défibriné augmentait la résistance vasculaire (Ludwig et Schmidt, 1868). Plusieurs autres physiologistes de cette époque, entres autres Mosso et Bernstein, confirmèrent les propriétés vasoconstrictives de coagulats sanguins provenant de différentes préparations animales (Janeway et coll., 1918). En 1900, Brodie observa que l'injection intraveineuse de sérum sanguin chez le chat produisait une bradycardie réversible, une hypotension et l'arrêt respiratoire, alors que l'injection de plasma ou de sérum bouillis ne produisait pas ces effets (Brodie, 1900). Certains auteurs (Meyer, 1906; Schlayer, 1907; Brökin et Trendelenberg, 1911) ont suggéré que la vasoconstriction du sang défibriné était induite par la présence d'épinephrine. D'autres chercheurs (Brodie, 1903; Janeway et coll., 1918) ont par contre postulé l'existence d'une nouvelle molécule qui serait formée ou relâchée lors de la coagulation sanguine. O'Connor résolut cette controverse par des expériences qui confirmèrent la deuxième hypothèse (O'Connor, 1911, 1912). Dans les années 30, Erspamer et ses collaborateurs caractérisèrent une amine qu'ils appelèrent "entéramine" (Vialli et coll., 1933). En 1948 aux États-Unis, Page et ses collègues isolèrent, la substance sanguine responsable de la

vasoconstriction et l'appelèrent "sérotonine" (Rapport et coll., 1948 a,b). Quelques années plus tard, différents groupes de chercheurs démontrèrent que l'entéramine et la sérotonine représentaient la même indoleamine (Rapport, 1949; Hamlin et Fischer, 1951; Speeter et coll., 1951; Asero et coll., 1952; Erspamer et Asero, 1952). Bacq suggéra alors que les termes entéramine et sérotonine soient abandonnés et remplacés par le nom chimique de la molécule soit la 5-hydroxytryptamine (Bacq, 1952). Erspamer accepta le compromis (Erspamer, 1954), mais les Américains conservèrent le nom de sérotonine (Villalon et coll., 1995). Il faut toutefois souligner que l'abréviation 5-HT découle de ce débat.

En 1895, Oliver et Schäfer décrivent les effets de l'administration d'extraits de la glande surrénalienne (Oliver et Schäfer, 1895). Leur étude a montré que ces extraits augmentaient la force de contraction et le rythme cardiaque, la contractibilité des muscles squelettiques et possédaient des propriétés vasoconstrictives. Il établit aussi que le principe actif de cette préparation provenait de la médulla surrénalienne, et non du cortex de cet organe. En 1897, Abel et Crawford purifièrent le composé actif de cette préparation et l'appelèrent "épinephrine" (Abel et Crawford, 1897). Quelques années plus tard, Jokichi Takamine rapporta que la substance isolée par l'équipe de Abel n'était pas un corps pur mais plutôt un mélange impur. En effet Takamine avait isolé un composé "pur" qu'il appella "adrénaline" (Takamine, 1902). Il s'ensuivit un débat où le terme épinephrine était utilisé en Europe, alors que les Américains usaient du terme "adrénaline" (Pettinger et Smyth, 1987; Garcia-Sainz, 1995). Cette double terminologie persiste encore dans la littérature. Apparemment, Abel aurait été le premier à isoler cette substance, bien que sous une forme de dérivé benzoyle, et Takamine aurait été le premier à isoler la forme pure de cette catécholamine (Max, 1986). L'adrénaline fut synthétisée par Meister Lucius en 1904. Langley, en 1905, rapporta que cette substance avait des

effets excitateurs sur le système sympathique (Langley, 1901; Cheymol, 1972).

En 1905, Elliott proposa que la stimulation des nerfs sympathiques entraînait la libération d'une substance similaire à l'adrénaline (Elliott, 1905). Bien qu'initialement cette hypothèse fut très mal reçue (Garcia-Sainz, 1995), 15 ans plus tard une équipe de chercheurs confirmèrent que la substance relâchée, suite à une stimulation de ces nerfs, n'était pas en effet l'adrénaline, bien qu'elle y fut similaire (Canon, 1921). Ces chercheurs dénommèrent cette nouvelle substance "sympathine". En 1948, von Euler suggéra que cette substance était la noradrénaline (von Euler, 1948). La noradrénaline et l'adrénaline sont deux amines adrénérgiques qui partagent la même famille de récepteurs: les adrénoccepteurs. En général on peut définir l'adrénaline comme étant l'hormone, et la noradrénaline comme étant le neurotransmetteur (Ariëns et coll., 1979). Julius Axelrod découvrit que la noradrénaline est convertie en adrénaline par la réaction de la transférase N-métyle (Axelrod, 1988). Axelrod, von Euler et Katz reçurent le prix Nobel de médecine en 1970 pour leurs découverte.

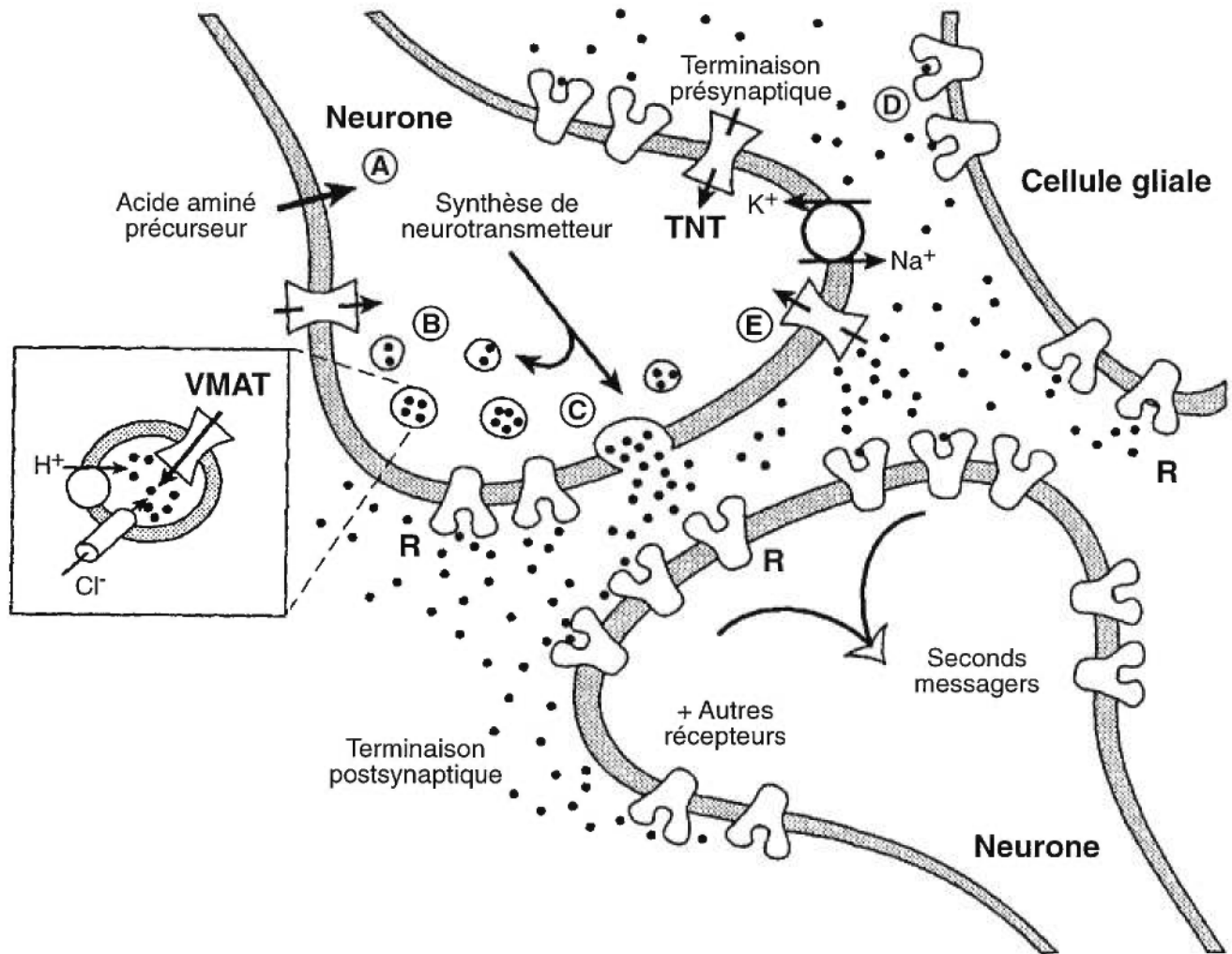
1.1.2 Définition de la neurotransmission chimique

On peut *a priori* définir un neurotransmetteur comme étant une substance chimique, relâchée par un neurone, qui affecte une autre cellule d'une manière spécifique. Cette définition élémentaire est constamment mise à jour afin d'incorporer les nouvelles informations provenant de l'électrophysiologie, de la neuroanatomie, de la neurochimie, et de la biologie moléculaire. De nos jours, une molécule ne peut être considérée comme neurotransmetteur que si elle répond aux cinq conditions suivantes (voir figure 1):

- ◆ Le neurone doit synthétiser le neurotransmetteur.
- ◆ Le neurone doit entreposer cette molécule.

Légende de la figure 1.

- A- Les monoamines sont synthétisées à partir d'acides aminés essentiels.
- B- Les monoamines sont emmagasinées dans des vésicules synaptiques grâce au transporteur monoaminergique vésiculaire (VMAT).
- C- Lorsqu'un potentiel d'action arrive à la terminaison présynaptique, les monoamines sont relâchées des vésicules dans l'espace synaptique.
- D- Les monoamines interagissent avec divers récepteurs pré- et post-synaptiques.
- E- Les monoamines sont "recaptées" par les transporteurs monoaminergiques.
- F- Finalement, le neurotransmetteur doit être inactivé, soit en étant physiquement retiré de l'espace synaptique (recapture), soit par dégradation enzymatique.



TNT: Transporteur de neurotransmetteur

R: Récepteur de neurotransmetteur

VMAT: Transporteur vésiculaire de monoamines



- ◆ Suite à un potentiel d'action, le neurotransmetteur doit être relâché par la terminaison nerveuse, ou terminal présynaptique, dans la fente synaptique.
- ◆ Cette substance doit interagir avec les récepteurs pré- et post-synaptiques. La recapture des neurotransmetteurs grâce au mécanisme de transporteurs permet une fine modulation de l'amplitude, de la durée et de l'étendue du signal (Blakely et coll., 1998).

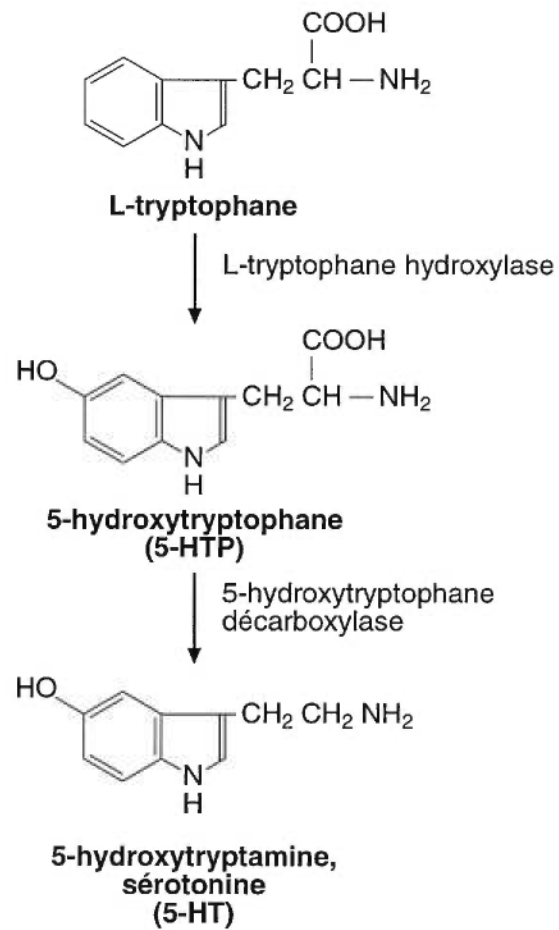
1.2 Aspects biochimiques du système sérotoninergique

1.2.1 La biosynthèse de la sérotonine

À sa découverte en 1946, la sérotonine fut baptisée "entéramine" parce qu'elle fut isolée à partir de cellules entérochromaffines de la muqueuse gastrointestinale. Sa structure chimique et sa voie de synthèse furent établis en 1948 et 1951 respectivement, et elle fut officiellement rebaptisée 5-hydroxytryptamine (5-HT) ou sérotonine (Owens et Nemeroff, 1994).

Comme la sérotonine ne passe pas la barrière hématoencéphalique, il est clair que le système nerveux central est capable de la synthétiser. Cette synthèse s'accomplit à partir d'un acide aminé essentiel le L-tryptophane et est schématisée à la figure 2. Cet acide aminé nous provient de l'alimentation. Si on élimine le L-tryptophane de la diète, le niveau de sérotonine du cerveau sera profondément diminué (Fernstrom et Wurtman, 1974). Ce n'est pas seulement le taux sanguin de L-tryptophane présent dans le sang qui détermine le niveau cérébral de sérotonine, mais aussi la concentration sanguine relative d'autres acides aminés qui compétitionnent pour le même transporteur ("Large Neutral Amino Acid Carrier", ou "LNAA carrier"). Ainsi les acides aminés neutres, en particulier la phénylalanine et les acides aminés aromatiques en général inhibent le transport cérébral du L-tryptophane (Daniel et coll. 1976). Le L-tryptophane est hydroxylé par la tryptophane

Synthèse de la Sérotonine



hydroxylase, pour former le L-5-hydroxytryptophane (ou L-5-HTP). La tryptophane hydroxylase ne se retrouve que dans les neurones sérotoninergiques, et peut donc servir à localiser ces derniers lors de techniques immunohistochimiques (Robinson et coll., 1968; Joh et coll., 1975). Dans les corps cellulaires neuronaux cette enzyme est en partie cytoplasmique, et en partie associée au réticulum endoplasmique et à l'appareil de Golgi. Dans les axones et les dendrites, elle est associée aux microtubules (Joh et coll., 1975). La tryptophane hydroxylase serait donc synthétisée dans le corps cellulaire et transportée, par le transport axonal antérograde, jusqu'aux boutons terminaux des neurones, où prend place la majeure partie de la synthèse sérotoninergique (Meek et Neff, 1972).

Le L-5-HTP est ensuite rapidement décarboxylé pour produire la 5-hydroxytryptamine (5-HT), plus communément appelée sérotonine. Bien que l'existence d'une décarboxylase spécifique et différente de celle présente dans les neurones catécholaminergiques ait été postulée (Sims et Bloom, 1973), on admet actuellement qu'une seule et même enzyme, la décarboxylase des acides aminés-L aromatiques ("Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase", ou AADC) serait impliquée. Il est possible qu'il existe deux isoformes de l'AADC avec une spécificité différente pour la 5-HTP et la L-DOPA (Boadle-Biber, 1993). La décarboxylation étant un processus très rapide, on ne trouve que de très faibles concentrations de L-5HTP dans le cerveau. Même si l'AADC joue un rôle crucial dans la synthèse des neurotransmetteurs monoaminergiques, elle n'est pas localisée exclusivement dans ces neurones. On l'a en effet aussi retrouvée dans des neurones ne contenant pas de sérotonine (Jaeger et coll., 1984). Plus récemment, on a postulé que cette enzyme pourrait aussi être impliquée dans l'apoptose et sa prévention (Berry et coll., 1996).

Plusieurs évidences suggèrent que l'activité enzymatique de la tryptophane hydroxylase et concurremment la formation de la sérotonine soient dépendantes du niveau de décharge des neurones

sérotoninergiques. En effet, la stimulation électrique de ces neurones augmente l'activité de la tryptophane hydroxylase (Boadle-Biber et coll., 1986) et la conversion *in vivo* du tryptophane en 5-HTP (Duda et Moore, 1985).

1.2.2 Identification des voies sérotoninergiques

Parmi l'ensemble des neurotransmetteurs identifiés, la sérotonine représente celui dont les voies nerveuses sont le plus vastement distribuées. Utilisant des techniques d'histochimie avec fluorescence, Falck et ses collaborateurs (Falck et coll., 1962) ont été les premiers à démontrer *in situ* la présence de voies indolaminergiques dans le cerveau du rat. Utilisant de la vapeur de formaldéhyde, les chercheurs ont transformé la sérotonine cérébrale en 6-hydroxy-3,4-dihydro- β -carboline, aussi appelé la 5-hydroxytryptoline, substance qui paraît jaune à la lumière ultra-violette. Comme la 5-hydroxytryptoline a une faible intensité d'émission et se décompose très rapidement, sa concentration cérébrale fut augmentée par un accroissement de la sérotonine en utilisant des inhibiteurs de la monoamine oxydase (MAO). De plus, on a confirmé la présence de terminaux sérotoninergiques par l'administration de la neurotoxine 5,7-dihydroxytryptamine, ou 5,7-DHT qui fait disparaître leur marquage (Baumgarten et Björklund, 1976). Aussi, un pré-traitement avec l'antidépresseur désipramine augmente la spécificité de la 5,7-DHT pour les neurones sérotoninergiques puisqu'il antagonise la neurotoxicité de cette molécule au niveau des neurones noradrénergiques et non au niveau des neurones sérotoninergiques (Björklund et coll., 1975).

1.2.3 Les voies sérotoninergiques

Dahlström et Fuxe (1964) ont décrit neuf groupes de cellules contenant de la sérotonine, qu'ils appelèrent B1 à B9. La plupart de ces groupes sont associés aux noyaux du raphé et à la région ou formation réticulée du tronc cérébral. Le noyau raphé dorsal contient le plus grand nombre de neurones sérotoninergiques. On a estimé qu'il contiendrait 11,500 cellules chez le rat (Descarries et coll., 1982) et environ 165,000 cellules chez l'humain (Törk, 1990). Il faut néanmoins noter que la plupart des cellules des noyaux du raphé ne sont pas de nature sérotoninergique (Descarries et coll., 1982; Nieuwenhuys, 1985). On peut diviser les projections sérotoninergiques en un système caudal qui projette dans le tronc cérébral et vers la moelle épinière, et un système rostral qui projette vers plusieurs régions du cerveau antérieur (Törk, 1990).

1.2.4 Le système sérotoninergique caudal

Le système sérotoninergique caudal comprend les groupes cellulaires B1 à B4 qui sont situés dans la région médiane et paramédiane de la protubérance et du bulbe. Certaines fibres sérotoninergiques, principalement celles qui ont le groupe B3 (noyau *Raphe magnus*; nRMg) comme origine, descendent dans les fascicules dorso-latéraux et se terminent dans la matière grise de la corne dorsale, principalement dans les laminae I et II de celle-ci. D'autres fibres qui ont les groupes B1 (noyau *Raphe pallidus*; nRPl) et B2 et B4 (noyau *Raphe obscurus*; nROb) se terminent dans la région des motoneurones de la corne ventrale. Finalement, les fibres sérotoninergiques ayant le groupe cellulaire B3 (medulla ventro-latérale rostrale) comme origine, établissent des synapses sur les neurones sympathiques préganglionnaires des colonnes intermédiolatérales au niveau de la moelle thoracique. Ces projections sérotoninergiques participent aux fonctionnements sensoriel, moteur et

autonome (Törk, 1990).

1.2.5 Le système sérotoninergique rostral

Le système sérotoninergique rostral prend ses origines dans les groupes cellulaires B5 à B9, qui sont situés dans la région plus rostrale du bulbe et du mésencéphale. En tout quatre systèmes de projections ont été décrits jusqu'à présent.

La voie ascendante ventrale origine principalement des groupes cellulaires B6, B7 et B8. Elle se termine dans le diencephale, les noyaux gris centraux, le système limbique et le cortex cérébral. Cette voie innerve la *Substantia nigra* ou substance noire, l'aire ventrale tegmentaire et le noyau interpedonculaire en passant par le mésencéphale. Une grande partie de la voie ventrale pénètre dans le faisceau prosencéphalique médian et projette dans différentes directions. Les projections diencephaliques se rendent à l'habénula médian, à plusieurs noyaux du thalamus, aux corps mammillaires et à plusieurs aires hypothalamiques. Parmi ces dernières, il faut signaler l'hypothalamus postérieur, les noyaux ventromédian et suprachiasmatique, et les aires préoptiques médianes et latérales. D'autres fibres se terminent dans le striatum ventral et dorsal, à savoir les noyaux caudé, putamen et accumbens. Les structures limbiques telles que l'amygdale, la formation hippocampale, les noyaux médians et latéraux du septum, le noyau olfactif antérieur, les tubercules olfactifs, la couche glomérulaire des bulbes olfactifs, et toutes les régions du cortex cérébral reçoivent les afférences de la voie ascendante ventrale (Törk, 1990).

La voie ascendante dorsale prend origine principalement dans les groupes cellulaires B7 et B8. Elle projette vers les neurones mésencéphaliques ("mesencephalic grey") ainsi que les colliculi supérieurs et inférieurs. Éventuellement, la majorité des axones pénètrent dans le faisceau

prosencephalique médian où ils se joignent à la voie ventrale ascendante pour former un système ascendant commun.

Une troisième voie prend origine dans les groupes cellulaires B2, B3 et B5, et ses projections se terminent sur le cortex cérébelleux et sur les noyaux profonds du cervelet (Nieuwenhuys, 1985).

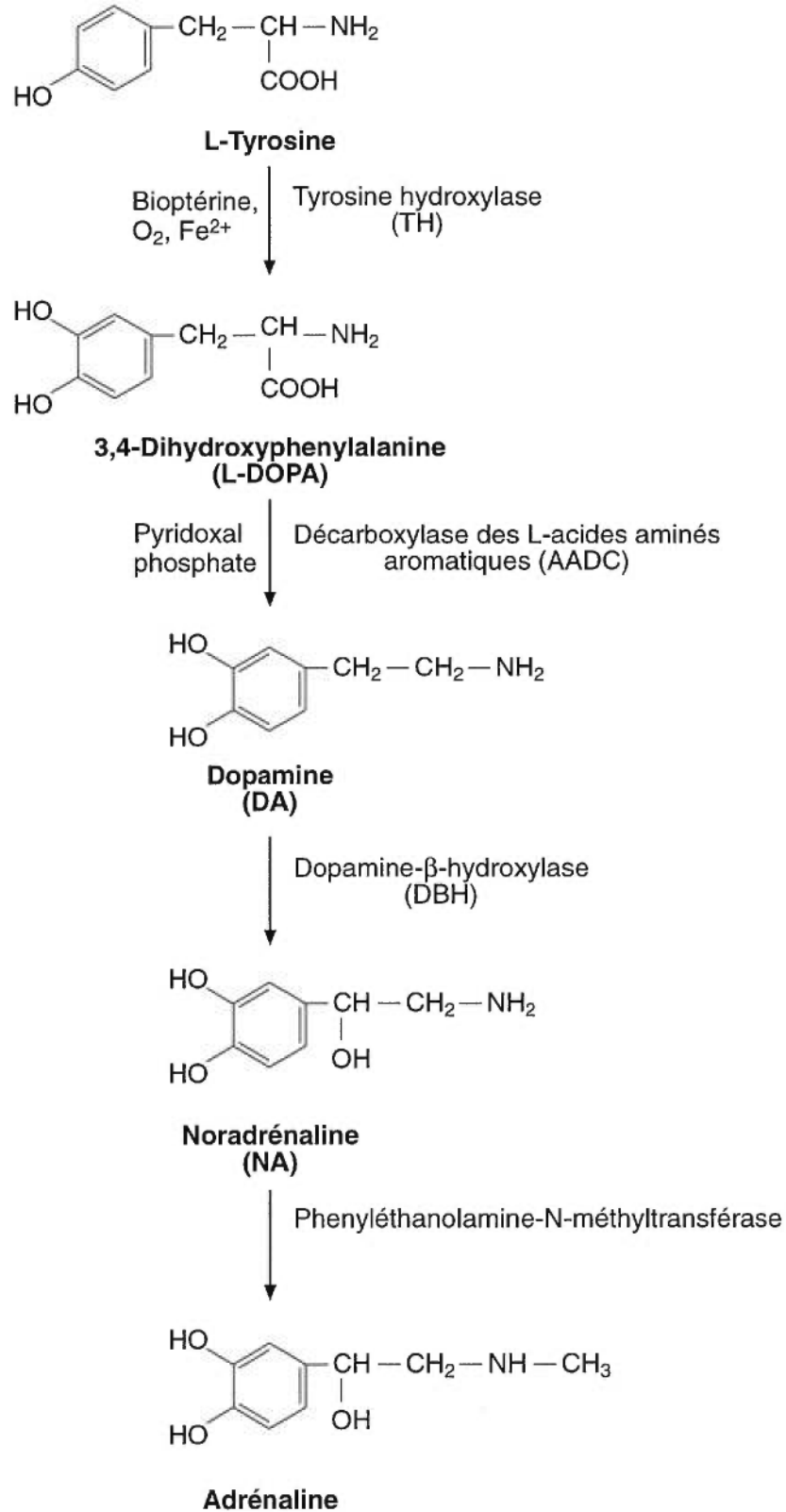
La quatrième voie, beaucoup plus dispersée, innerve plusieurs structures du bulbe et de la protubérance, notamment le *Locus coeruleus*, le noyau tegmental dorsal, l'olive inférieure, le noyau solitaire, la formation réticulée rhombo-encéphalique, et plusieurs noyaux de nerfs crâniens, dont le trijumeau (Nieuwenhuys, 1985).

1.3 Aspects biochimiques du système noradrénergique

1.3.1 La biosynthèse de la noradrénaline

La noradrénaline (NA) partage la même voie de synthèse que l'adrénaline et la dopamine. Ces trois molécules sont synthétisées à partir de la L-tyrosine, un acide aminé essentiel (Figure 3). En augmentant le taux de L-tyrosine dans la diète, on peut augmenter sa concentration plasmatique et augmenter le taux de synthèse de ces catécholamines (Wurtman et Fernstrom, 1975). La L-tyrosine est hydroxylée par la tyrosine hydroxylase (TH) pour produire la L-DOPA. Cette réaction oxydative requiert de la bioptérine comme co-facteur (Shiman et coll., 1971). La TH est retrouvée dans toutes les cellules qui synthétisent les catécholamines. Il existe quatre isoformes de cette enzyme dans le cerveau humain, et il a été suggéré que la présence ou quantité relative de chaque isoforme diffère entre les différentes populations de neurones catécholaminergiques (Lewis et coll, 1993). Le gène codant la tyrosine hydroxylase semble avoir une très grande homologie de séquence avec celui de la tryptophane hydroxylase. La L-DOPA est ensuite décarboxylée par l'AADC pour former la dopamine. La dopamine est ensuite convertie en noradrénaline par la dopamine β -hydroxylase, ou DBH, dans

Synthèse de la Dopamine, de la Noradrénaline et de l'Adrénaline



les cellules noradrénergiques et adrénérgiques. Cette enzyme est principalement retrouvée liée aux membranes internes des vésicules qui entreposent les catécholamines mais on retrouve aussi la forme non-liée à l'intérieur de ces mêmes vésicules. Dans la zone médullaire de la glande surrénale ainsi que dans quelques neurones du tronc cérébral qui utilisent l'adrénaline comme neurotransmetteur, la noradrénaline est convertie par déméthylation en adrénaline à l'aide de la phényléthanolamine *N*-méthyltransférase, ou PNMT.

1.3.2 Identification des voies Noradrénergiques

L'identification des voies noradrénergiques repose sur les travaux en histochimie de fluorescence de Falck et ses collaborateurs (Falck et coll., 1962). En présence de formaldéhyde, la noradrénaline se cyclise et présente à l'ultra-violet une fluorescence typique. Par ailleurs, les techniques immunocytochimiques ont permis d'identifier les neurones noradrénergiques renfermant la dopamine- β -hydroxylase (DBH), par opposition aux neurones dopaminergiques qui n'en contiennent pas. Similairement, on peut différencier les neurones noradrénergiques des cellules adrénérgiques en fonction de la présence ou de l'absence de la PNMT (Halasz et coll., 1977; Pierre et coll., 1997). De plus, les techniques d'hybridisation *in situ* ont permis de localiser les sites de recapture de la noradrénaline et ainsi confirmer la neuroanatomie de ce système (Foster et coll., 1991).

1.3.3 Les voies noradrénergiques

Le noyau *Locus coeruleus* du tronc cérébral et l'aire tegmentaire latérale constituent l'origine du système noradrénergique central. Le *Locus coeruleus*, par rapport à l'aire tegmentaire présente une densité plus élevée de neurones capables de synthétiser la noradrénaline (Leonard, 1997). Du

Locus coeruleus émergent un faisceau ventral et un faisceau dorsal (ventral and dorsal bundles). La voie ventrale innerve le tronc cérébral et l'hypothalamus, tandis que la voie dorsale envoie des projections vers la moelle épinière et le cervelet; certaines de ses fibres passent par le faisceau prosencéphalique médian pour innerver le cortex cérébral et l'hippocampe (Grzanna et Fritschy, 1991). Les projections du *Locus coeruleus* vers le thalamus, le cortex cérébral, l'amygdale, l'hippocampe et l'hypothalamus seraient impliquées dans l'affect (Moore et Bloom, 1979). Par contre, les axones provenant de l'aire tegmentaire projettent sur des noyaux impliqués dans le système moteur (Grzanna et Fritschy, 1991).

1.4 Les transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques

L'inactivation de la transmission sérotoninergique et noradrénergique se fait principalement par un mécanisme de recapture par des sites, ou protéines, appelés transporteurs (Iversen, 1975). Il existe deux catégories de transporteurs: les transporteurs vésiculaires et les transporteurs de la membrane plasmique (Nelson et Lill, 1994). Les transporteurs de la membrane plasmique sont hautement spécifiques pour un substrat.

1.4.1 La découverte du transporteur noradrénergique

L'existence de ce transporteur fut suggérée dès 1932 (Burn, 1932). Lorsque la noradrénaline et l'adrénaline tritiées sont administrées par voie sanguine à faibles doses, la radioactivité se retrouvait dans les tissus périphériques, et ce principalement dans les neurones sympathiques (Axelrod et coll., 1959; Withby et coll., 1961). Après destruction de ces neurones sympathiques, on observe une diminution de la noradrénaline dans les organes périphériques (Zaimis et coll., 1965; Iversen et coll.,

1966; Sjöqvist et coll., 1967). Après lésion des voies noradrénergiques ascendantes, on observe aussi une diminution de la noradrénaline tritiée dans les fractions synaptosomales provenant des régions qui reçoivent ces voies (Kuhar, 1973). Ces résultats ont donc suggéré qu'il existait un mécanisme de capture de la noradrénaline par les neurones sympathiques, et que l'action de ce neurotransmetteur pourrait être terminée, ou inactivée, par ce mécanisme après sa libération dans la fente synaptique (Amara et Kuhar, 1993). Ce phénomène a été décrit sous le vocable de capture, ou *uptake* en anglais. De plus, les substances pharmacologiques qui inhibent ce système de recapture augmentent la neurotransmission de la noradrénaline alors que les médicaments qui inhibent le métabolisme de ce neurotransmetteur n'ont pas d'effet (Iversen, 1967, 1975).

La biologie moléculaire a permis d'approfondir nos connaissances sur ces sites de recapture. Le premier transporteur à être cloné fut le site de recapture de l'acide γ -amino-butérique (GABA), chez le rat, puis chez l'humain (Guastella et coll., 1990; Nelson et coll., 1990). Le transporteur de la noradrénaline chez l'humain fut ensuite identifié (Pacholczyk et coll., 1991) par clonage d'expression ("expression cloning"), suivi rapidement de l'identification des ADN complémentaires (cDNA). Enfin, le clonage subséquent des transporteurs de la dopamine (Shimada et coll., 1991; Kilty et coll., 1991; Giros et coll., 1991; Usdin et coll., 1991) et de la sérotonine (Hoffman et coll., 1991; Blakely et coll., 1991) fut réalisé grâce à la technique de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) et à leur homologie de séquence. Ces quatre transporteurs ainsi que ceux de la glycine, de la taurine, de la proline, de la betaine/GABA et de la créatine appartiennent tous à une même famille de gènes, soit celle des transporteurs dépendants du sodium et du chlore (Kitayama et Dohi, 1996; Bonish et Eiden, 1998).

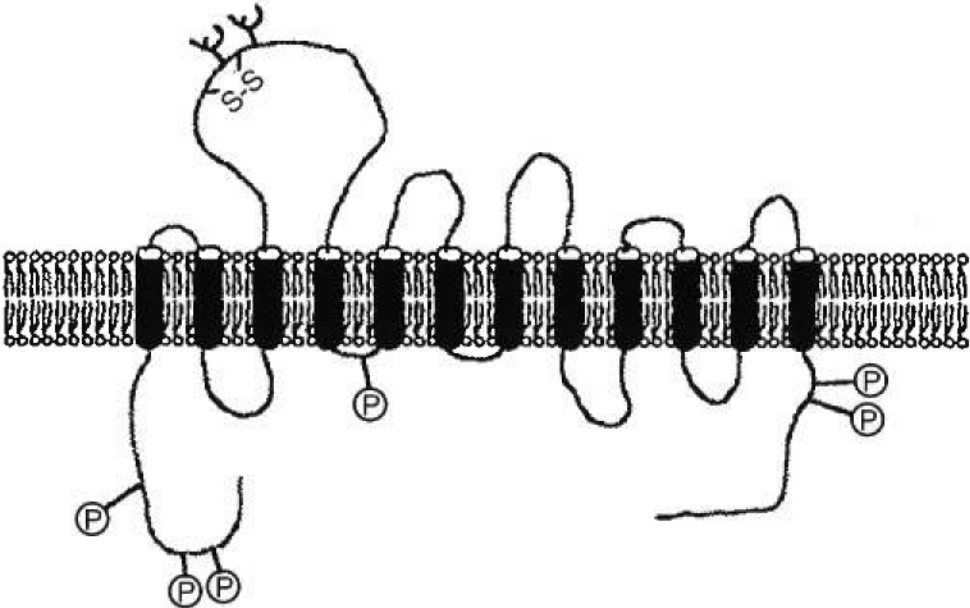
1.4.2 Structure Moléculaire des Transporteurs Monoaminergiques

L'homologie de séquence entre les transporteurs des trois monoamines, soit la sérotonine (Figure 4a), la noradrénaline (Figure 4b) et la dopamine est très élevée, et ces trois sites de recapture constituent la sous-famille génique des transporteurs monoaminergiques (Kitayama et Dohi, 1996). Ces transporteurs sont constitués d'environ 600 acides aminés qui forment 12 segments hydrophobiques transmembranaires. On croit que leurs extrémités amine et carboxyle sont intracellulaires. Il existe une grande boucle entre les domaines transmembranaires 3 et 4, qui contient des sites pour la glycosylation. De plus, il existe dans les domaines intracellulaires des sites de phosphorylation qui pourraient interagir avec la protéine kinase C (PKC), la protéine kinase dépendante de l'AMP cyclique (cAMP) et la protéine kinase dépendante du calcium et de la calmoduline (Ca^{++} /calmoduline) (Kitayama et Dohi, 1996).

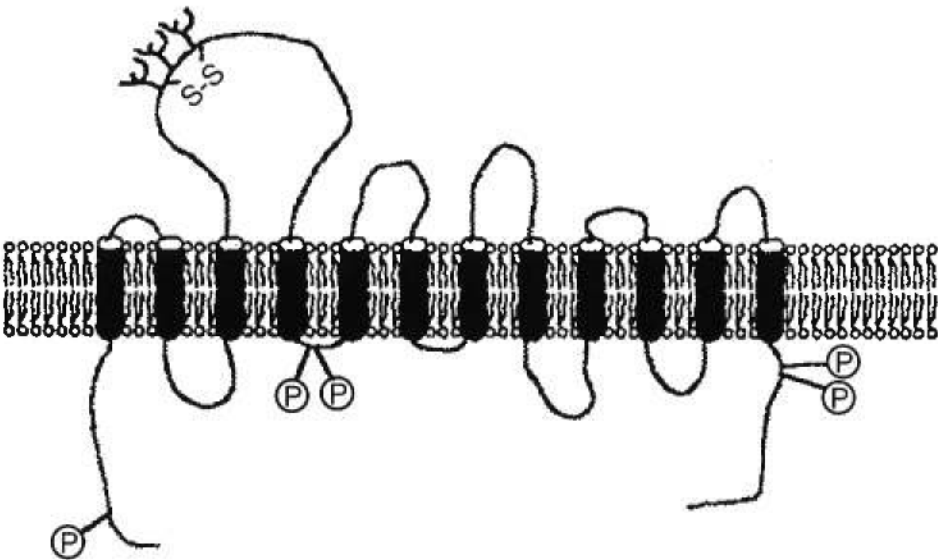
1.4.3 Évolution des Transporteurs

Les insectes et les vers sont les organismes les plus primitifs chez qui on a trouvé les transporteurs dépendants du sodium et du chlore (Liu et coll., 1992). On pense donc que cette famille de sites de recapture a divergé des autres il y a environ 0.5 milliard d'années. Il faut toutefois noter qu'un gène hautement homologue à ceux de ces transporteurs a été trouvé chez des bactéries thermophiles, bien que ceci pourrait être dû à une évolution convergente (Nelson et Lill, 1994). Il est probable que l'émergence de la famille des transporteurs dépendants du sodium et du chlore ait été concomitante avec le développement des cellules neuronales (Nelson et Lill, 1994). Comme l'homologie entre les transporteurs de la noradrénaline et de la dopamine est plus grande que celle entre les transporteurs sérotoninergiques et ceux des catécholamines, on croit que ces derniers ont

A-Transporteur Sérotoninergique (SERT)



B-Transporteur Noradrénergique (NET)



- Y Sites de glycosylation
- S-S Pont intramoléculaire de disulfide
- P Sites de phosphorylation Ser/Thr potentiel

probablement divergé plus tôt. Il est aussi intéressant de noter que les transporteurs ont probablement précédé l'évolution des récepteurs (Nelson et Lill, 1994).

1.4.4 Mécanisme des transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques

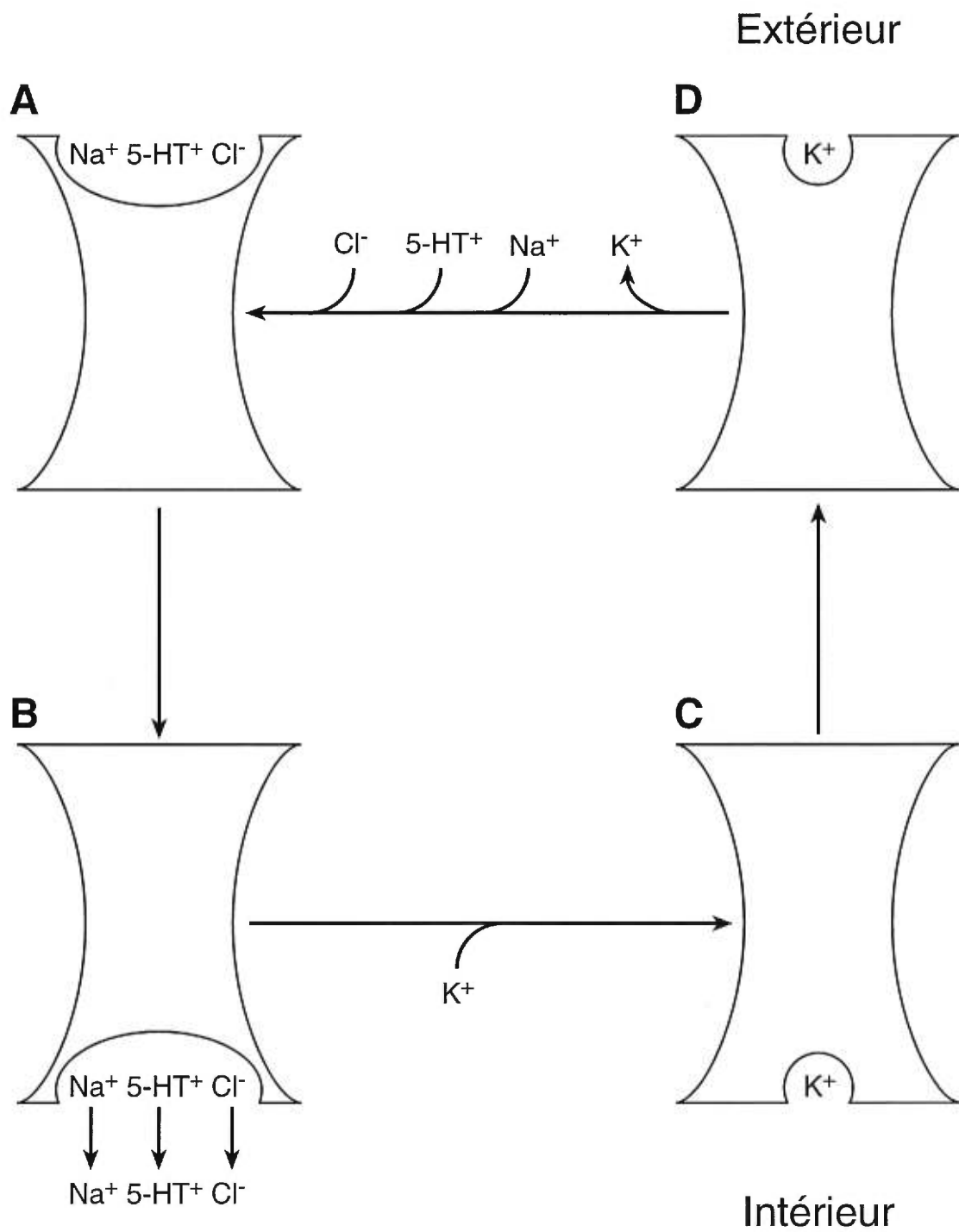
Tous les transporteurs aminergiques ont les caractéristiques d'un système de transport secondaire (Ross, 1982), c'est à dire que ces transporteurs:

- ◆ sont saturables.
- ◆ sont dépendants de la température et du sodium.
- ◆ requièrent de l'énergie.
- ◆ sont inhibés par la ouabaine et les inhibiteurs spécifiques de recapture.

Le transport au niveau des sites de recapture monoaminergiques se fait par l'intermédiaire de canaux ioniques (De Felice et Blakely, 1996; Sonders et Amara, 1996).

La recapture de la noradrénaline est absolument dépendante de la présence du sodium et du chlore. Le transporteur doit premièrement lier un ion de sodium, puis un ion de chlore avant de pouvoir lier la noradrénaline. Ces deux ions sont transportés comme des co-substrats (Harder et Bonisch, 1985; Graefe et Bonisch, 1988). Pour la recapture de la sérotonine dans les neurones un ion de sodium, puis une molécule de sérotonine protonée se lient au transporteur (voir figure 5). Le chlore n'est pas nécessaire pour cette liaison, mais sa liaison est requise pour le transport. Il y a ensuite une translocation de ces trois composantes, suite au changement de conformation du transporteur. Le sodium, le chlore et la sérotonine sont ensuite dissociés du côté cytoplasmique de la membrane. Un ion de potassium se lie ensuite au transporteur qui retourne à sa conformation d'origine et permet ainsi au cycle de recommencer (Marcusson et Ross, 1990). Il faut toutefois noter

Schéma du mécanisme de transport du site de recapture sérotoninergique



que ce mécanisme de recapture de la sérotonine n'est pas le même pour les neurones et les plaquettes. En effet, lors de la recapture dans les plaquettes l'initiation du cycle requiert deux ions de sodium et non pas un seul comme c'est le cas pour les neurones (Marcusson et Ross, 1990).

Il faut noter que sous certaines conditions expérimentales, le transporteur de la dopamine peut être responsable de la recapture de la sérotonine. De plus, dans certaines régions du cerveau, la recapture de la noradrénaline par son transporteur est le principal mécanisme responsable de l'inactivation de cette icatécholamine (Frazer et Daws, 1998). Le mécanisme de transport pour ce transporteur est similaire à celui de la sérotonine (Bönish et Brüss, 1994).

1.4.5 Régulation des transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques

L'expression des transporteurs est sujette à une régulation. Il est raisonnable de spéculer que la phosphorylation pourrait contrôler soit la densité soit l'activité des transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques d'une manière similaire à la régulation des récepteurs couplés aux protéines *G* (Levitan, 1994; Fergusson et coll., 1996). Les agents qui augmentent les niveaux de cAMP, la toxine du choléra et la forskoline causent une régulation à la hausse du transporteur sérotoninergique dans des cellules issues d'une lignée de cellules placentaires choriocarcinomateuses humaines (Cool et coll., 1991). Par contre, un autre groupe de chercheurs a trouvé une régulation à la baisse de la recapture sérotoninergique dans des cellules PC12 du rat suite à ces traitements (King et coll., 1992). Ces résultats suggèrent que la régulation des transporteurs pourrait différer selon l'espèce (Kitayama et Dohi, 1996) ou selon le type de cellules.

L'expression génique du transporteur sérotoninergique est régulée *in vitro* par des voies de messagers secondaires dépendantes et indépendantes de l'cAMP. De plus, leur expression *in vivo*

peut être influencée par les hormones stéroïdiennes ainsi que par les antidépresseurs (Bradley et Blakely, 1997). Récemment, certains polymorphismes ont été décrits pour le promoteur du gène du site de recapture sérotoninergique humain, et ces polymorphismes paraissent avoir un impact sur l'expression de ce gène et de sa protéine (Lesch et coll., 1996).

La glycosylation pourrait aussi jouer un rôle régulateur. Cette réaction semble en effet être nécessaire pour la stabilité optimale du transporteur sérotoninergique dans la membrane plasmique, mais elle n'aurait aucun effet pour la liaison du substrat et sa translocation (Tate et Blakely, 1994).

1.4.6 Localisation des transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques

L'expression des transporteurs monoaminergiques n'est pas restreinte au système nerveux central. L'expression des sites de recapture sérotoninergiques et noradrénergiques n'est pas confinée aux neurones qui synthétisent respectivement ces substances (Bönisch et Eiden, 1998). Il faut aussi noter que ces neurotransmetteurs, en particulier la noradrénaline, peuvent aussi être retirés de l'espace synaptique, après qu'ils aient été relâchés par un neurone, par des cellules adjacentes non-neuronales, telles que les syncytiotrophoblastes placentaires humains (Ramamoorthy et coll., 1993) et les cellules myométriales du lapin (De La Lande et coll., 1991). Ce transport est une voie importante pour l'inactivation de ces neurotransmetteurs (Schömig, 1994).

En se basant sur des études réalisées avec les transporteurs dopaminergiques, on croit que les transporteurs des monoamines sont localisés sur les membranes pérисynaptiques et sur les segments entre les varicosités de la membrane neuronale. Ils seraient absents des membranes du corps cellulaire et de l'espace synaptique (Nirenberg et coll, 1996, 1997).

1.5 Implication de la sérotonine et de la noradrénaline dans la dépression et les troubles affectifs

1.5.1 Les années 1950

Un des développements neuropsychopharmacologiques les plus importants de ce siècle fut la découverte, en 1952, de la chlopromazine (Largactil™), un dérivé de la phénothiazine comme agent antipsychotique (Maj, 1995). Les chercheurs essayaient de trouver des substances pharmacologiques de structure similaire qui pourraient aussi avoir une action neuroleptique. C'est ainsi que l'imipramine (Tofranil™) fut découverte en 1957. Ce médicament s'avéra n'avoir aucune propriété antipsychotique, mais par contre être efficace pour le traitement de la dépression (Kuhn, 1958).

Dans ces années, on traitait la tuberculose avec l'iproniazide (Marsilid™). Ce médicament antituberculeux avait beaucoup d'effets secondaires. On s'aperçut ainsi que certains patients qui recevaient ce traitement devenaient euphoriques (Kline, 1958). L'ipronazide est un inhibiteur de la monoamine oxydase (MAO). Les compagnies pharmaceutiques commencèrent donc à tester d'autres inhibiteurs de la MAO sur des modèles animaux de dépression (Richelson, 1991).

La réserpine provient de la plante *Rauwolfia serpentina*. Cette plante est connue et utilisée depuis des siècles par la médecine populaire indienne (Maj, 1995). En 1931, on suggéra cette substance pour le traitement de la haute pression artérielle de l' "insanité" (Sen et Bose, 1931). Dans ce cas, l' "insanité" n'était pas la dépression, mais son antipode la manie. Il faut aussi noter que la réserpine cause un état dépressif chez 10% des sujets humains (Goodwin et Bunney, 1971).

1.5.2 Les théories biologiques de la dépression

Au début des années 1960, des groupes de chercheurs ont démontré que l'imipramine et ses dérivés chimiques agissent en bloquant la recapture de la sérotonine (Alpers et Himwich, 1969) et de la noradrénaline (Axelrod, 1971). Cette observation, combinée au fait que la réserpine diminue les niveaux de noradrénaline et de sérotonine, ont poussé Schildkraut à émettre sa théorie biogénique de la dépression (Schildkraut, 1965), selon laquelle cette pathologie serait due à un dérèglement dans un des trois systèmes monoaminergiques.

Au début des années 1970, Prange et ses collègues ont proposé l'hypothèse "*permissive des troubles affectifs*" (Prange et coll., 1974). Selon ces auteurs, la psychose maniacodépressive aurait comme base physiopathologique des niveaux bas de sérotonine. L'état affectif serait par contre relié au niveau de noradrénaline. Ainsi l'état dépressif se manifesterait lorsque les niveaux de sérotonine et de noradrénaline sont abaissés. Par contre lorsque le niveau de sérotonine est abaissé et que le niveau de noradrénaline est élevé, l'état de manie prévaudrait. Comme l'anomalie sérotoninergique serait primaire, le traitement spécifique de cette psychose devrait être basé sur la normalisation des niveaux sérotoninergiques.

L'hypothèse de Prange pourrait être reliée au "*modèle bidimensionnel*" des troubles affectifs (Emrich et Wolf, 1990), selon lequel il y aurait deux centres dans le cerveau qui contrôleraient l'humeur (*mood*). Ces centres pourraient s'influencer mutuellement, et chacun pourrait être influencé indépendamment par des traitements pharmacologiques. Ce modèle a été développé afin d'expliquer l'absence de différences d'efficacité entre les traitements affectant le système sérotoninergique et ceux qui influencent le système noradrénergique (Emrich et coll., 1987).

De nos jours, on croit que ces hypothèses restent un peu trop simplistes (Meltzer, 1991;

Nestler, 1998; Nemeroff, 1998) puisque tous les systèmes monoaminergiques peuvent interagir entre eux. De plus d'autres systèmes non-monoaminergiques pourraient être aussi impliqués.

1.5.3 Évidences de l'implication du système sérotoninergique dans la dépression

En 1976, Asberg et ses collaborateurs ont démontré que le niveau de l'acide 5-hydroxyindole-3-acétique, ou 5-HIAA, qui est le métabolite principal de la sérotonine, était significativement diminué dans le liquide céphalo-rachidien (CSF) chez 40% des patients déprimés, et ont suggéré une distribution bimodale de ces patients en fonction de cette caractéristique biochimique (Asberg et coll., 1976b). De plus, ils ont observé que les patients présentant une concentration faible de 5-HIAA dans le CSF avaient une prévalence élevée de tendance suicidaire (Asberg et coll., 1976a). Des études plus récentes semblent confirmer que le niveau de 5-HIAA dans le CSF pourrait servir de prédicteur du suicide et de l'agressivité ainsi que pour des problèmes d'impulsivité (Golden et coll., 1991).

Comme mentionné précédemment, on sait depuis longtemps que la réserpine et la *p*-chlorophénylalanine, qui réduisent le niveau endogène de sérotonine, peuvent causer un état émotionnel dépressif (Owens et Nemeroff, 1994). De plus, certaines études ont rapporté que le niveau plasmique du précurseur de la sérotonine, le L-tryptophane, serait réduit chez les patients déprimés (Meltzer et Lowy, 1987; Quintana, 1992). Un repas pauvre en cet acide aminé essentiel peut précipiter, très rapidement après son ingestion, une rechute chez des patients dont la dépression est contrôlée par un traitement antidépresseur (Delgado et coll., 1990). Le tryptophane a été suggéré comme médicament potentiel, et une étude épidémiologique a estimé à 10 millions le nombre de personnes qui ont augmenté leur consommation de cet acide aminé essentiel (Roberts, 1990). Il est important de signaler que le tryptophane n'augmente pas seulement les taux sanguins de sérotonine,

mais aussi celui d'autres protéines (Garrett et coll., 1984). Ainsi, de fortes doses de L-tryptophane augmentent la concentration de sérotonine extracellulaire par un facteur de deux, mais aussi celle de l'acide quinolique, une excitotoxine issue d'une autre voie métabolique, par un facteur de 80 (During et coll., 1989).

Les inhibiteurs de la MAO, les tricycliques et les inhibiteurs sélectifs de la recapture sérotoninergique ("*Selective Serotonin Re-uptake Inhibitors*", ou SSRIs) induisent pour la plupart une augmentation de la sérotonine au niveau du système nerveux central, soit en inhibant son catabolisme (inhibiteur de la MAO), soit en réduisant sa recapture par le blocage des transporteurs et prolongeant ainsi sa durée d'activité (tricycliques et SSRIs) (Frazer, 1997). De Montigny et Aghajanian (1978) furent les premiers à rapporter qu'un traitement aux antidépresseurs tricycliques augmentait l'excitabilité des neurones du cerveau antérieur à la sérotonine et le traitement aux électrochocs (ECT) semble avoir le même effet (de Montigny, 1984).

La fluoxétine fut le premier SSRI à être décrit (Wong et coll., 1974; Fuller, 1974). Depuis, plusieurs autres SSRIs ont été développés (Richelson, 1996; Stahl, 1998). Ces médicaments ont des structures moléculaires très différentes, mais sont regroupés sous le terme de SSRIs à cause de leur action pharmacologique commune (Fuller, 1991). Ces médicaments sont mieux tolérés que les inhibiteurs de la MAO et les tricycliques, parce qu'ils causent moins d'effets indésirables. Malgré tout, les patients traités aux SSRIs se plaignent de nausées, de céphalées et souvent de dysfonction sexuelle (Nemeroff, 1998). Des études *post-mortem* sur des cerveaux humains ont démontré une diminution marquée des transporteurs sérotoninergiques chez les patients déprimés (Stanley et coll., 1982; Perry et coll., 1983). De plus, des études effectuées sur des plaquettes provenant de patients déprimés ont confirmé une diminution de sites de recapture sérotoninergique (Briley et coll., 1980; Paul et coll.,

1981; Nemeroff et coll., 1988). Plus récemment, des études de tomographie par émission de positrons (“*Positron Emission Tomography*”; PET) ont démontré que les patients souffrant de dépression avaient un profil d’utilisation de glucose différent des sujets normaux. On observe en effet une diminution significative du métabolisme glucidique cérébral chez le malade (Mann et coll., 1996). De plus, une autre étude *in vivo* chez l’humain a montré une réduction de la densité des transporteurs sérotoninergiques chez les patients souffrant de dépression majeure (Malinson et coll., 1998).

1.5.4 Évidences de l’implication du système noradrénergique dans la dépression

Bien que le système sérotoninergique semble clairement impliqué dans la dépression, certains auteurs doutent que ce neurotransmetteur soit le seul impliqué (Staley et coll., 1998). En effet, le système noradrénergique joue vraisemblablement un rôle dans l’étiopathogénie de la maladie, puisque les inhibiteurs de la MAO et les tricycliques affectent ce système de neurotransmission au même titre que la transmission sérotoninergique.

Il existe des anomalies aux niveaux des adrénorécepteurs des plaquettes sanguines chez les patients humains souffrant de dépression (Murphy et coll., 1974; Leonard, 1984).

Une nouvelle classe de substances pharmacologiques qui bloquent exclusivement les transporteurs noradrénergiques a été développée vers la fin des années 1980. Ces substances, comme l’oxaprotiline (Delini-Stula et Mogilnicka, 1988) et la reboxetine, sont connues sous le nom de “*NorAdrenergic Re-uptake Inhibitors*”, ou NARIs.

1.6 La problématique du délai thérapeutique

Il existe un délai entre l'amorce d'un traitement aux antidépresseurs et la réponse thérapeutique au traitement. L'efficacité antidépressive de ces molécules ne peut donc être attribuée à leurs effets aigus sur la neurotransmission. Par ailleurs, il faut signaler que l'électroconvulsivothérapie comporte elle aussi un délai thérapeutique (Carlsson, 1981). Cette réponse retardée pourrait s'expliquer par des adaptations physiologiques chroniques, telles que l'activation chronique des récepteurs adrénergiques de type β . Pour appuyer ce point, Vetulani et ses collègues (1976) ont rapporté que l'administration chronique des tricycliques, mais non leur administration aiguë, entraînait en présence de noradrénaline une désensibilisation de la synthèse de cAMP dans des tranches du cerveau antérieur de rat. Cette désensibilisation était accompagnée d'une diminution du nombre de récepteurs adrénergiques β pour certains antidépresseurs, mais pas tous (Banerjee et coll., 1977). Ces adaptations pourraient aussi affecter les autorécepteurs sérotoninergiques ou noradrénergiques. En effet, le délai thérapeutique pourrait être causé par une désensibilisation qui s'effectuerait plus rapidement au niveau des récepteurs présynaptiques qu'au niveau des récepteurs post-synaptiques (Svensson et coll., 1981). Certaines études ont aussi démontré une régulation à la baisse des récepteurs sérotoninergiques 5-HT₂ (Andree et coll., 1986). Ces régulations à la baisse sont intéressantes puisqu'elles correspondent sur le plan temporel au début de l'activité antidépressive (Sulser, 1983). Il est aussi possible que les transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques soient régulés par le traitement chronique aux antidépresseurs, et que cette adaptation physiologique puisse expliquer, du moins en partie, le délai thérapeutique.

Il est intéressant de noter que les effets indésirables des antidépresseurs sont plus sévères au cours des premières semaines de traitement qui précèdent l'activité antidépressive. Ces effets

secondaires pourraient impliquer des récepteurs postsynaptiques cholinergiques ou des récepteurs adrénergiques, et contribuer aussi au délai avant qu'il n'y ait adaptation (Carlsson, 1981).

1.7 Molécules antidépressives utilisées dans cette étude

1.7.1 La désipramine

La désipramine (NorpraminTM, PertofraneTM) est un tricyclique qui possède la structure moléculaire d'une amine secondaire et qui bloque presque exclusivement la recapture de noradrénaline (Richelson, 1994; Tatsumi et coll., 1997). Des études antérieures ont démontré une diminution de transporteurs noradrénergiques suite à un traitement chronique avec cette amine (Bauer et Tejani-Butt, 1992). Cette réduction ne serait pas liée à l'ARN messager (*mRNA*) du transporteur noradrénergique puisque cet ARN messager augmente lors d'un traitement à la désipramine (Szot et coll., 1993; Shores et coll., 1994). Avec un traitement chronique à la désipramine Cheetham et ses collègues (1993) n'ont trouvé aucun changement dans la densité des transporteurs sérotoninergiques. Par contre deux études ont démontré une diminution de ces sites de recapture suite au traitement à la désipramine (Bauer et Tejani-Butt, 1992; Zhu et Orway, 1997).

1.7.2 La trimipramine

La trimipramine (SurmontilTM) est un antidépresseur tricyclique efficace (Settle et Ayd, 1980), mais *atypique*. Comme la plupart des tricycliques, elle a été originellement synthétisée comme agent antihistaminique (Tatsumi et coll., 1997). À l'encontre des autres antidépresseurs, elle n'a pas d'effet sur le sommeil paradoxal (Berger et Riemann, 1993). Elle ne bloque que très faiblement la

recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (Jones et Olpe, 1984), ce qui suggère que cette action de blocage n'est pas à la base de son efficacité thérapeutique (Richelson, 1994). Son administration chronique n'entraîne pas une régulation à la baisse des adrénocéphes de type β (Kopanski et coll., 1983; Hauser et coll., 1985). Par contre, ce médicament a la même affinité pour le récepteur dopaminergique D_2 que la clozapine, un antipsychotique efficace, ce qui laisse penser qu'il pourrait agir sur le système dopaminergique. Son utilisation a même été suggérée pour le traitement de la schizophrénie (Eikmeier et coll., 1991). Une étude récente a décrit une régulation à la hausse des récepteurs dopaminergiques $D_{2/3}$, ainsi que des adrénocéphes de type α_1 (Maj et coll., 1998). Cette observation n'a pas, à notre connaissance, été confirmée. Par contre, la trimipramine ne semble pas affecter la densité des sites de recapture sérotoninergiques (Dewar et coll., 1993).

1.7.3 La fluoxétine

La fluoxétine (ProzacTM) est le premier inhibiteur sélectif de recapture sérotoninergique à être synthétisé. Cette molécule a une demie-vie de deux à quatre jours, et son métabolite actif, la norfluoxétine une demie-vie de sept à quatorze jours (Van Moffaert et coll., 1995). La fluoxétine est hautement sélective dans son action pharmacologique sur le transporteur sérotoninergique (Richelson, 1994). Ce médicament n'entraîne pas la régulation à la baisse des récepteurs adrénergiques de type β (Fuxe et coll., 1983; Wang et coll., 1985; Baron et coll., 1988). Ses effets sur les récepteurs sérotoninergiques $5-HT_{1A}$ et $5-HT_2$ sont controversés. En effet, certaines études ont rapporté une régulation à la baisse des récepteurs $5-HT_{1A}$ (Peroutka et Snyder, 1980; Dumbrille-Ross et Tang, 1983; Welner et coll., 1989), mais d'autres chercheurs n'ont pas observé de changements de leur densité lors d'un traitement à la fluoxétine (Hwang et coll., 1980; Stolz et coll., 1983; Fuxe et coll.,

1983). Certaines études ont rapporté soit une augmentation des récepteurs 5-HT₂ (Dumbrille-Ross et Tang, 1983; Wamsley et coll., 1987; Hrdina et Vu, 1993), soit une diminution de ces récepteurs (Stolz et coll., 1983; Eison et coll., 1991) soit enfin une absence d'effet (Peroutka et Snyder, 1980; Fuxe et coll., 1983). La même inconsistance est retrouvée avec les transporteurs sérotoninergiques; ainsi, même si certaines études ont signalé une régulation à la hausse des transporteurs sérotoninergiques avec un traitement chronique à la fluoxétine (Hrdina et Vu, 1993), d'autres auteurs n'ont observé aucune altération (Dewar et coll., 1993; Gobbi et coll., 1997).

1.7.4 La venlafaxine

Bien que la venlafaxine (Effexor™) ait été souvent décrite comme un inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline, ce n'est pas tout à fait le cas. En effet, les propriétés pharmacologiques de la venlafaxine dépendent de la dose utilisée. Ainsi à faibles doses, elle agit essentiellement comme un SSRI. À doses moyennes elle bloque en plus la recapture de la noradrénaline. Enfin, à très fortes doses elle inhibe en plus la recapture de la dopamine (Muth et coll., 1986; Bolden-Watson et Richelson, 1993; Stahl, 1998). Il faut noter qu'une étude sur les transporteurs monoaminergiques humains a classé la venlafaxine comme étant un SSRI (Tatsumi et coll., 1997). La capacité de la venlafaxine à bloquer les transporteurs monoaminergiques *in vitro* est faible par comparaison à celle de la paroxétine, pour les transporteurs sérotoninergiques, et à celle de la désipramine, pour les sites de recapture noradrénergiques (Bolden-Watson et Richelson, 1993, Béïque et coll., 1998). La venlafaxine n'a aucune action sur les récepteurs cholinergiques, histaminiques, et adrénergiques (Goldberg, 1995), ce qui explique peut-être le peu d'effets indésirables rapportés avec ce médicament. Son métabolite actif principal, la O-desméthyl-venlafaxine

(ODV), est produit dans le foie par le système du cytochrome P450 D6, et montre un profil pharmacologique similaire à la substance mère. La demi-vie plasmatique de la venlafaxine est de cinq heures environ, et celle de la ODV de onze heures. Des études cliniques ont démontré son efficacité dans le traitement de la dépression majeure (Schweizer et coll., 1991; Montgomery, 1993). Son intérêt thérapeutique serait lié à une réduction notable du délai thérapeutique habituel des SSRI, voire des tricycliques (TCA) (Rickels, 1991; Montgomery, 1995).

Chapitre II- La Problématique

Il a été clairement démontré que l'administration de la plupart des antidépresseurs altère le nombre de sites de liaison (B_{max}) de certains récepteurs neurochimiques, en particulier une diminution des récepteurs adrénérgiques de type β . Récemment, il a été aussi démontré que les sites de recapture, ou transporteurs, des neurotransmetteurs peuvent être modifiés suite à un traitement pharmacologique (Carli et coll., 1997).

Nous avons donc décidé d'examiner l'effet de l'administration chronique d'antidépresseurs sur les transporteurs afin de déterminer si ceux-ci étaient sujets à une régulation suite aux traitements pharmacologiques.

Puisque la majorité des antidépresseurs agissent en bloquant directement la recapture, soit de la noradrénaline (e.g. DMI), soit de la sérotonine (e.g. FLU), soit des deux (e.g. VEN), nous avons spécifiquement examiné les transporteurs de la noradrénaline (NAT) et de la sérotonine (SET) après un traitement chronique de différents antidépresseurs. Nous avons choisi quatre antidépresseurs, ayant des mécanismes d'action pharmacologique différents sur les SETs et les NATs (voir tableau I).

Pour chacun des deux transporteurs ciblés par cette étude, nous avons comparé entre eux les médicaments qui avaient une action directe de blocage, puis ceux qui n'avaient pas d'action directe de blocage. Par la suite nous avons contrasté les antidépresseurs "bloqueurs" et les "non-bloqueurs", et finalement nous avons comparé les groupes traités aux antidépresseurs avec le groupe témoin. Ces comparaisons ont été effectuées dans plusieurs régions cérébrales du rat. De plus, pour les régions corticales, nous avons divisé ces aires en couches laminaires afin d'examiner la distribution des deux transporteurs dans celles-ci et de déterminer si les traitements avaient un effet différent selon les couches et les régions.

Tableau I - Actions des Traitements Pharmacologiques:

| <u>Traitement</u> | <u>A- Actions Noradrénergiques</u> | <u>B- Actions sérotoninergiques</u> |
|--|---|--|
| Désipramine: (Tricyclique Classique) | Bloque les transporteurs NA | Aucune action |
| Trimipramine: (Tricyclique Atypique) | Aucune action | Aucune action |
| Fluoxétine: (SSRI) | Aucune action | Bloque les transporteurs 5-HT |
| Venlafaxine: (SNRI) | Bloque les transporteurs NA | Bloque les transporteurs 5-HT |
| Salin | Aucune action | Aucune action |

Chapitre III - Analyses Statistiques

3.1 Analyses à priori

Les données expérimentales, exprimées en femtomoles/milligramme de protéines ont été résumées de façon descriptive en utilisant, pour chaque région cérébrale évaluée et pour chaque médicament administré, la moyenne arithmétique et l'erreur-type de cette moyenne.

La signification statistique des différences observées entre les moyennes des cinq traitements pharmacologiques a été estimée pour chaque région cérébrale séparément en utilisant une analyse de variance (ANOVA) pour groupes parallèles. Cette analyse a permis de démontrer qu'il n'existait jamais au test du χ^2 de Bartlett (Winer, 1971) une hétérogénéité de variance dans l'erreur expérimentale des cinq groupes. Cette condition d'application de l'analyse de variance est la même qui sous-tend le test de "t" de Student (Winer, 1971) ou l'analyse de Dunnett. En absence d'hétérogénéité des variances dans l'erreur expérimentale, l'analyse de variance, tout comme le test de "t" de Student pour deux groupes (Winer, 1971) utilise une variance résiduelle globale (Winer, 1971). La variation observée entre les moyennes des cinq groupes expérimentaux est par la suite représentée par quatre sources de variation, dont la somme représente la variation totale des traitements. Ces comparaisons dites *à priori*, ou orthogonales, réfèrent à la problématique du projet de recherche. Comme les effectifs pour le première série avec la [³H]nisoxetine étaient inégaux, les coefficients polynomiaux furent orthogonalisés selon la procédure de Gram-Schmidt (Draper et Smith, 1981). Ainsi dans l'évaluation de la liaison de la [³H]nisoxetine aux transporteurs noradrénergiques (voir tableau Ia) nous avons comparé la trimipramine (TRI) à la fluoxétine (FLU), ces deux médicaments n'affectant pas sur un plan théorique la liaison de la [³H]nisoxetine. De façon similaire nous avons comparé la désipramine (DMI) à la venlafaxine (VEN), ces deux molécules inhibant directement les transporteurs noradrénergiques. Nous avons ensuite contrasté les inhibiteurs

(DMI et VEN) aux non-inhibiteurs (FLU et TRI). Finalement, l'ensemble des médicaments pharmacologiquement actifs fut comparé au groupe témoin. Pour l'évaluation de la liaison du [³H]citalopram aux transporteurs sérotoninergiques, le même modèle conceptuel fut utilisé (voir tableau Ib). Ainsi la DMI fut comparée à la TRI, la FLU à la VEN, les deux tricycliques aux hétérocycliques, et l'ensemble des molécules pharmacologiques au groupe témoin.

Dans certains cas, il nous a paru pertinent, à l'intérieur de la même région, de comparer la densité de liaison des ligands entre des couches superficielle, intermédiaire, voire profonde. Le modèle des cinq groupes parallèles est alors couplé à un facteur de sous-divisions laminaires en mesures répétées. En effet, chaque rat sert alors de son propre témoin. Il s'agit essentiellement de la même analyse que précédemment (ANOVA) mais appliquée à un plan factoriel (facteur laminaire X facteur médicament). Les comparaisons *à priori* (Tableau Ia et Ib) ont été effectuées en regard des sous-divisions laminaires pour rechercher leurs similitudes (pas d'interaction) ou leurs différences (interaction) potentielles.

Pour toutes les analyses effectuées, un seuil critique de signification statistique de 5% a été utilisé ($\alpha = 0.05$).

3.2 Analyses à Postérieur

Nous n'avons pas procédé à des analyses *à postérieur* vu que nous avons un modèle expérimental conceptuel. En effet dans le plan expérimental le plus simple, soit cinq groupes parallèles, il eut fallu procéder à dix tests de "t" de Student et accepter ainsi dix erreurs expérimentales par variable. Dans le cas d'une factorielle 2 x 5, 45 tests de "t" auraient dû être effectués et pour une factorielle de 3 x 5, 105 tests de "t" eussent été nécessaires. La correction de

Bonferroni exigeant que la probabilité observée soit multipliée par le nombre possible de comparaisons, il eut été impossible de dégager les comparaisons significatives non seulement sur le plan statistique mais aussi sur le plan biologique. Les comparaisons de Dunnett, un peu moins restrictives que les tests de “*t*” multiples sur la probabilité des différences, n’ont pas été recherchées. En effet cette étude ne représentait pas pour nous un dépistage d’activité pharmacodynamique où l’activité des médicaments était tout à fait inconnue. Si le but recherché était seulement de corroborer ou non des résultats publiés par d’autres chercheurs dans des conditions expérimentales mal définies et pas nécessairement similaires aux nôtres, nous aurions certes utilisé ce modèle pour une étude pilote.

Chapitre IV - Résultats

Effects of chronic antidepressant treatments on 5-HT and NA transporters in rat brain: an autoradiographic study ¹

Caroline Hébert^a, Angelina Habimana^b, Robert Élie^{b,c}, and Tomás A. Reader^{a*}

^aCentre de Recherche en Sciences Neurologiques, Département de Physiologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montreal, Quebec H3C 3J7 Canada

^bDépartement de Pharmacologie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montreal, Quebec H3C 3J7 Canada

^cCentre de Recherche Fernand-Seguin, Montreal, Quebec H1N 3V2

Running title Effects of Antidepressants on 5-HT and NA Transporters

Keywords Trimipramine; Desipramine; Venlafaxine; Fluoxetine; Citalopram; Nisoxetine

¹Supported by the Réseau de Recherche en Santé Mentale, Fonds de la recherche en santé du Québec.

*Corresponding author.

Dr. T.A. Reader Tel: (514) 343-6370; Fax: (514) 343-2111; E-mail: readert@ere.umontreal.ca

Département de physiologie, Faculté de médecine

Université de Montréal

C.P. 6128 Succursale Centre-ville

Montréal (Québec) Canada H3C 3J7

Abstract

Tricyclic antidepressants and serotonin (5-HT) uptake inhibitors rapidly block uptake sites, or transporters; however, their therapeutic effects are only seen after 2 to 3 weeks of treatment. Thus, direct blockade of 5-HT and noradrenaline (NA) transporters cannot account entirely for their clinical efficacy, and other long-term changes may be involved. Adult Sprague-Dawley rats were treated for 21 days with daily injections of either desipramine, trimipramine, fluoxetine or venlafaxine; a fifth group that was used as a control, received daily saline injections. Identified cortical areas, hippocampal divisions and nuclei raphe dorsalis, raphe medialis and locus coeruleus were examined by quantitative autoradiography using [³H]citalopram to label 5-HT transporters, or [³H]nisoxetine for NA transporters. The treatments with desipramine and trimipramine, which do not directly inhibit 5-HT uptake compared to the 5-HT uptake blockers fluoxetine and venlafaxine, lead to increases in 5-HT transporter densities in cingulate, agranular insular and perirhinal cortices. For NA transporters, increases in [³H]nisoxetine binding were found in the trimipramine- and fluoxetine-treated animals *versus* the animals treated with the NA uptake site blockers desipramine and venlafaxine, ; this generalized up-regulation was observed in all regions examined. Also, there was a decrease in NA transporters in the locus coeruleus of desipramine-treated animals as compared to the VEN treated ones. The present study allowed us to document differential effects of antidepressants on 5-HT and NA transporters in the rat forebrain, and indicates that these drugs have distinct consequences in specific brain areas.

Introduction

Clinical observations as well as numerous experimental findings have implicated central monoaminergic systems in depression and related mood disorders (Schildkraut 1965; Richelson 1991; Heninger et al 1996). Moreover, most of the currently prescribed antidepressants presumably affect monoamine levels by affecting directly either serotonin (5-HT), or noradrenaline (NA) transporters, or both (Frazer 1997). Although the direct blockade of such uptake sites can account for an acute elevation of the respective neurotransmitters causing a down-regulation of monoamine receptors, or a decreased production of intracellular second messengers (Charney et al 1981), it does not temporally correlate with the therapeutic effects of these drugs, which only appear 2 to 3 weeks after the onset of treatment. Therefore, it was deemed of interest to further examine the distribution, or topology, as well as the properties of transporters that underlie the purported mechanism of action of antidepressant drugs. It is also generally accepted that 5-HT, NA and related transporters are quite stable proteins, and that their *primary ligand recognition sites* are less likely than pharmacological receptors to be subjected to regulations in response to changes in neurotransmitter levels due to drug treatment. However, recent studies have demonstrated that changes in 5-HT transporters can indeed occur. For example, there have been reports of [³H]citalopram binding increases following chronic lithium treatment (Carli and Reader 1997) as well as after administration of L-tryptophan, thiamine and amantadine (Le Marec et al 1998). If such adaptative modifications of transporters can occur following the chronic administration of antidepressants, they could perhaps underlie their delayed onset of effects.

An increasing body of evidence has proposed important interactions between the serotonergic and noradrenergic systems in animal models as well as in clinical cases of depression (Potter 1996). Some of these interactions can occur at the classical postsynaptic receptor level, due to changes in

endogenous levels of neurotransmitters, or to alterations in the expression of receptor proteins. However, there could be changes in these interactions at the presynaptic level, due to alterations in the specific NA and/or 5-HT transporters, or uptake sites that constitute the main mechanism of inactivation for these transmitters and at the same time are target of antidepressant compounds. Therefore, it is important to examine if and how chronic antidepressant treatments affect both the 5-HT and the NA uptake sites, and this is now possible with the availability of novel markers for these transporters. Although a few previous studies have examined the effect of antidepressants on 5-HT (Dewar et al 1993; Hrdina and Vu 1993) or on NA transporters (Bauer and Tejani-Butt 1992), they have not studied the effects of antidepressants on both types of uptake sites concurrently.

The classical tricyclic antidepressant desipramine (DMI) is well known to potently block NA transporters, but has practically no affinity for the 5-HT system (Richelson 1996). Indeed, previous studies (Bauer and Tejani-Butt 1992) had already shown that treatment with DMI leads to a reduction of [³H]nisoxetine binding in some areas of the rat brain. The compound fluoxetine (FLU) is a very selective 5-HT re-uptake inhibitor, or SSRI; it binds potently, and almost exclusively to 5-HT transporters (Richelson 1996). The novel antidepressant venlafaxine (VEN) has been classified as a 5-HT and NA re-uptake inhibitor, or SNRI; however, it blocks 5-HT transporters more potently than NA uptake sites (Richelson 1996). Finally, trimipramine (TRI) is an atypical tricyclic antidepressant which inhibits neither NA nor 5-HT transporters (Richelson 1996), and to date its exact antidepressant mechanism of action has eluded explanations (Berger and Gastpar 1996).

The aim of the present study was to contrast the effects of these antidepressants, and determine if and how these compounds affect 5-HT and NA uptake sites, or transporter proteins. The 5-HT transporters were labelled with [³H]citalopram (Hyttel 1982); this ligand is an excellent marker of 5-HT uptake sites (D'Amato et al 1987; Plenge et al 1991; Arranz 1994) and particularly suitable for

autoradiographic surveys (Duncan et al 1992; Strazielle et al 1996; Carli and Reader 1997; Le Marec et al 1998). The NA transporters were studied with [³H]nisoxetine (Wong et al 1982), a selective radioligand suitable for homogenate binding (Tejani-Butt et al 1990) as well as for autoradiographic studies (Charnay et al 1995; Gehlert et al 1995; Tejani-Butt 1992).

Methods and Materials

Animals and Treatments

This study was carried out with adult male Sprague-Dawley rats (300-350g) purchased from Charles River (St-Constant, Québec). All animal procedures were in strict accordance with the *Guide for the Care and Use of Experimental Animals* (Canadian Council on Animal Care, 1993) and the protocols were approved by the *Comité de Déontologie pour l'Expérimentation Animale* of the Université de Montréal. The rats were treated for 21 days by daily i.p. administration of desipramine HCl (Sigma Chemical Co.; St. Louis, MO; DMI, 10 mg/Kg), fluoxetine HCl (Lilly Research Laboratories; FLU, 2 mg/Kg), trimipramine (Rhône-Poulenc; TRI, 5 mg/Kg) or venlafaxine HCl (Wyeth-Ayerst Research; VEN, 5 mg/Kg); a fifth group of control rats received daily equivalent volumes of saline. Each group consisted of six rats. The animals were killed by decapitation 72 hours after the last injection, their brains quickly removed, frozen in *N*-methylbutane cooled to -40°C with liquid nitrogen, and then stored at -80°C.

Radioligand binding procedures

The frozen brains were serially cut into 20µm thick coronal sections with a cryostat; the sections were mounted on 0.2% gelatin / 0.033% chromium potassium sulfate coated slides, and kept at -80°C until use. The sections (three slides per animal, *i.e.* two for total binding, and one for non-specific labelling) were preincubated for 15 min at 25°C in Tris-HCl 50 mM buffer at pH 7.40, containing either 120 mM NaCl and 5 mM KCl, or 300 mM NaCl and 5 mM KCl, for 5-HT and NA transporters,

respectively. For 5-HT transporters, the slides were transferred to a fresh incubation buffer containing 2 nM [³H]citalopram (DuPont, Boston, MA; 81 Ci/mmol). Non-specific labelling was determined with 20 μM (final concentration) of fluoxetine HCl; the incubation proceeded for 120 minutes at 25°C. For NA transporters, the incubations were carried out with 3 nM [³H]nisoxetine (Amersham, Arlington Heights, IL; 85 Ci/mmol) at 4°C for 4 hours, and non-specific labelling was determined with 1 μM (final concentration) of mazindol (Sandoz). The slides were then washed in ice-cold (0-4°C) buffer (4 x 2 min for [³H]citalopram and 3 x 5 min for [³H]nisoxetine), rinsed in cold deionized distilled water, and dried under a stream of cold air. The sections and [³H]Microscales™ standards (Amersham) were apposed to tritium sensitive [³H]Hyperfilm (Amersham), placed in autoradiographic cassettes and the films were developed after 3 weeks (5-HT transporters) or 6 weeks (NA transporters). One slide per animal and ligand was then stained with cresyl-violet to obtain a more precise localization of the anatomical regions.

Autoradiographic techniques

Densitometric analyses of the films were performed with the MCID™ image analysis system (Imaging Research, ST-Catharines, ON). Standard curves generated from the [³H]Microscales™ were used to convert the optic densities into femtomoles per milligram of protein (Unnerstall et al 1982; Reader and Strazielle 1998). Specific binding was determined by subtracting the digitized image of non-specific labelling (channel 2) from the digitized image of total binding (channel 1). This resulted in a digitized image of specific binding (channel 3). To maximize the precision of the localization, the channels containing the digitized image of specific labelling (channel 3) and the image of the cresyl-violet stained section (channel 4) were linked. This permitted us to sample on the image of the Nissl-stained section, while the actual measurements were taken from the same area on the specific binding image that had been stored in channel 3.

Anatomical localization criteria

The stereotaxic atlas of Paxinos and Watson (1997) was used to define anatomical structures, and the cytoarchitectonic criteria of Zilles (1985) were applied for cortical areas and layers. The cingulate (Cin) cortex consisting of Cg1 and Cg2 was divided into the superficial layer I (Cin I) and the deeper layers II-VI (Cin II-VI). The frontal (Fro) cortex included regions Fr1, Fr2 and Fr3, and was divided into the superficial layer I (Fro I), the middle layers II-IV (Fro II-IV), and the deeper layers V-VI (Fro V-VI). Similarly the parietal (Par) cortex, which consisted of region Par1, was divided into layers I (Par I), II-IV (Par II-IV) and V-VI (Par V-VI). The piriform (Pir) cortex, that is made of three cytoarchitectonic layers, was divided arbitrarily into superficial (Pir I) and deeper layers (Pir II). The anterior agranular insular cortex (AI) that included the AID and AIV divisions of the agranular insular cortex, as well as the posterior agranular insular cortex (AIP), were not subdivided in layers due to the homogenous appearance of labelling, but were contrasted to each other. The occipital (Occ) cortex included the visual areas Oc2MM, Oc2ML, Oc2L, Oc1M, Oc1B; it was subdivided into superficial layer I (Occ I), intermediate layers II-IV (Occ II-IV) and deep layers (Occ V-VI). The temporal (Tem) cortex included Te1, Te3 and Te2, and was also subdivided into superficial (Tem I), intermediate (Tem II-IV) and deep (Tem V-VI) layers. The entorhinal was subdivided into superficial (Ent I), intermediate (Ent II) and deep (Ent III) layers, while the perirhinal (PRh) was taken as a whole. For the hippocampus, measurements were taken in both its dorsal and ventral components, mainly from the CA1-CA4 divisions of Ammon's horn, as well as from the dentate gyrus (DG) and the ventral subiculum (S). In the caudal-most sections of the first series of slides, several of the brainstem nuclei were identified; however, in this study only the measurements for nucleus raphe dorsalis (nRD) and nucleus raphe medialis (nRM) are reported. In the case of the locus coeruleus (LC), readings were taken from a second set of slides, which contained serial and successive sections of the brainstem, extending from interaural (IA) plane 0.50 mm to -5.20 mm (Paxinos and Watson 1997). This nucleus was sampled in at least 2-3 different levels per animal, from IA -0.16 mm to -1.52

mm. Multiple readings were taken of each region, so that it was covered in its entirety, thus taking into account the possible heterogeneity of labelling.

Statistical analyses

Two different comparison schemes were designed, one for [³H]citalopram binding to 5-HT transporters, and another for [³H]nisoxetine binding to NA transporters. For 5-HT transporters, differences were first assessed between the two 5-HT transporter blockers, namely FLU and VEN, and then between TRI and DMI, that do not directly inhibit 5-HT uptake. These two groups were contrasted (5-HT transporter blockers *versus* non-blockers, or FLU + VEN *versus* TRI + DMI), and finally differences between the control group and the antidepressant treated animals were assessed. For NA transporters, differences were first assessed between VEN and DMI, then between FLU and TRI; these two groups (VEN + DMI *versus* FLU + TRI) were then contrasted. The final comparison was made between the antidepressant treated groups and the control group. All differences in specific binding densities between the five treatment groups were assessed using an analysis of variance (ANOVA; Fischer and Yates, 1957; Frank and Althoen 1994). Whenever contrasting different cortical laminae was of interest, a two factor analysis design was used. In all cases, the critical level of significance was set at 0.05.

Results

[³H]Citalopram binding to 5-HT transporters

In cingulate cortex (Fig. 6 A,B) of all treated groups, [³H]citalopram labelling in the superficial layer (Cin I ; 295.4 ± 12.39 fmol/mg protein) was greater ($F_{1,25} = 373.18$) than in the deeper layers (Cin II-VI; 174.2 ± 7.25 fmol/mg protein). Specific [³H]citalopram binding in the animals treated with 5-HT transporter blockers (FLU + VEN) was significantly reduced ($F_{1,25} = 5.38$) by contrast to those that had received the 5-HT transporter non-blockers (TRI + DMI), in both lamina I and laminae II-IV

(Table II). In frontal cortex, [³H]citalopram binding had a characteristic pattern (Fig. 6 A,B), and a decrease ($F_{\text{lin},50} = 438.66$) was observed from layer I to Layer V-VI in all groups. This significant reduction in binding was greater ($F_{\text{quad},50} = 10.60$) from Fro I to Fro II-IV ($\Delta = 103.42$ fmol/mg protein) than from Fro II-IV to Fro V-VI ($\Delta = 59.55$ fmol/mg protein). However, no differences were observed between the treatment groups, regardless of the lamina(e) considered. In parietal cortex (Fig. 6 A-C), there was a similar gradient of 5-HT transporters; *i.e.*: specific [³H]citalopram binding decreased from Par I to Par V-VI ($F_{\text{lin},50} = 1224.71$). This reduction was greater from Par I to Par II-IV ($\Delta = 144.48$ fmol/mg protein) than from Par II-IV to Par V-VI ($\Delta = 75.05$ fmol/mg protein), indicating again a quadratic trend ($F_{\text{quad},50} = 40.84$). However, regardless of the lamina(e) considered, no significant differences between drug treatments were observed. In piriform cortex (Fig. 6 A-C), there was a significant decrease in labelling ($F_{1,25} = 94.90$) from Pir I to Pir II, but no drug effects on [³H]citalopram labelling were documented. The two divisions of the agranular insular cortex revealed similar densities of labelling, and chronic antidepressant treatment with 5-HT transporter blockers resulted in a significantly sparser [³H]citalopram binding than chronic treatment with 5-HT transporter non-blockers ($F_{1,25} = 6.22$). In occipital cortex (Fig. 6 D,E) of all groups, [³H]citalopram binding decreased from Occ I to Occ V-VI ($F_{\text{lin},50} = 559.69$) and, as was the case for Fro and Par cortices, this diminution was biphasic ($F_{\text{quad},50} = 7.70$); the difference between Occ I and Occ II-IV was greater ($\Delta = 58.04$ fmol/mg protein) than between Occ II-IV and Occ V-VI ($\Delta = 38.44$ fmol/mg protein). However, no drug effects were demonstrated in this cortical area. In temporal cortex (Fig. 6 D,E), once again specific [³H]citalopram binding was lower in the deeper layers when comparing lamina I to laminae V-VI ($F_{\text{lin},50} = 268.91$), as well as when contrasting layers II-IV to the two others ($F_{\text{quad},50} = 17.18$). No drug effects on 5-HT transporters were documented. In the entorhinal area (Fig. 6 D,E) there was a particular distribution of 5-HT transporters, and for all animal groups labelling in the superficial Ent I (364.9 ± 15.7 fmol/mg protein) differed ($F_{\text{lin},50} = 11.70$; $F_{\text{quad},50} = 36.46$) from both Ent II (294.8 ± 10.92 fmol/mg protein) and Ent III (330.3 ± 10.30 fmol/mg protein). However, and

in contrast to Fro, Par, Tem and Occ areas, Ent II did not differ significantly from Ent III. No differences in drug effects were found. In perirhinal cortex (Fig. 6 D,E), the animals treated with 5-HT transporter blockers (FLU and VEN), by contrast to the non-blocker treated ones (TRI and DMI), showed a significant ($F_{1,25} = 6.84$) reduction in [^3H]citalopram binding.

In the hippocampus (Fig. 6 C,D), 5-HT transporters were measured (Table III) in the four divisions of Ammon's horn as well as in the dentate gyrus and subiculum. For Ammon's horn, the rank order of [^3H]citalopram labelling was CA2 > CA3 > CA1 > CA4, leading to a significant difference amongst the four areas ($F_{3,75} = 363.86$). There was also substantial labelling in the subiculum (Fig. 6D) but only a sparse binding in the DG. Regardless of area, no significant differences in drug effects were observed in the hippocampal divisions.

The highest densities of [^3H]citalopram labelling were observed in the brainstem, and corresponded to nuclei raphe dorsalis (nRD) and medialis (nRM); binding densities were significantly higher ($F_{1,25} = 48.96$) in nRD than in nRM (Fig. 6E). There were no differences in binding between all the treatment groups for the two nuclei. Another brainstem nucleus surveyed was the locus coeruleus (LC; Fig. 6F), which exhibited relatively high densities of 5-HT transporters (Table III), but again there were no labelling differences between the different treated groups.

[^3H]Nisoxetine binding to NA transporters

In Cin cortex (Fig. 7 A,B), [^3H]nisoxetine binding (Table IV) was greater in Cin I than in Cin II-IV ($F_{1,23} = 291.24$). Significant differences ($F_{1,23} = 25.11$) were found between the animals treated with either of the two NA transporter blockers (VEN and DMI) and those that received either of the two other antidepressants (FLU and TRI); this difference was more pronounced in Cin I than in Cin II-VI ($F_{1,46} = 7.41$). In Fro cortex (Fig. 7 A,B), the binding densities decreased from lamina I to laminae V-

VI ($F_{\text{lin},46} = 303.33$), but this diminution was greater ($F_{\text{quad},46} = 18.73$) from lamina I to laminae II-IV ($\Delta = 19.96$ fmol/mg protein) than it was from Fro II-IV to Fro V-VI ($\Delta = 8.12$ fmol/mg protein). As in the Cin cortex, a significant reduction in [^3H]nisoxetine labelling was found when the animals treated with the NA transporter blockers were contrasted to those that had received FLU and TRI ($F_{1,23} = 22.36$). This difference was more marked in lamina I than in the others, leading to a significant interaction between the drug contrast and the layers ($F_{1,69} = 7.75$). Indeed, the difference was significant in the superficial ($F_{1,23} = 14.58$) and intermediate ($F_{1,23} = 5.90$) layers, but not in the deepest laminae. In Par cortex there was a similar gradient in the distribution of NA transporters as in Fro cortex with significant linear ($F_{\text{lin},46} = 366.34$) and quadratic ($F_{\text{quad},46} = 8.37$) [^3H]nisoxetine binding gradients from lamina I to laminae V-VI. There again, a significant difference between the treatments with NA transporter blockers and non-blockers was observed ($F_{1,23} = 22.60$). The drug effect was observed in layer I ($F_{1,23} = 14.18$) and layers II-IV ($F_{1,23} = 6.49$) but not in the deeper layers V-VI; this pharmacological difference, according to regions, lead to a significant interaction ($F_{1,69} = 7.32$). Labelling was rather homogeneous in the Pir cortex (Fig. 7 A-C), and there were no differences in [^3H]nisoxetine binding between Pir I and Pir II. In both Pir divisions, a significant difference between the NA transporter blockers and non-blockers was observed ($F_{1,23} = 17.06$). For the AI cortex, there was significantly more labelling in the AIP than in the AI division ($F_{1,23} = 166.16$). A similar reduction in [^3H]nisoxetine binding was observed with the NA blockers by comparison to the non-blockers ($F_{1,23} = 25.51$) regardless of region. In Occ cortex (Fig. 7 D,E), the decrease in [^3H]nisoxetine binding from lamina I to laminae V-VI ($F_{\text{lin},46} = 195.69$) exhibited a quadratic trend ($F_{\text{quad},46} = 9.99$). After antidepressant treatments, VEN and DMI reduced [^3H]nisoxetine labelling by contrast to the non-blockers ($F_{1,23} = 12.99$). The Tem cortex exhibited a similar gradient in NA transporter distribution (Fig. 7 D,E). There was a decrease in [^3H]nisoxetine labelling from lamina I to laminae V-VI ($F_{\text{lin},46} = 164.46$) with a quadratic trend ($F_{\text{quad},46} = 54.33$). Again, DMI and VEN reduced [^3H]nisoxetine binding by contrast to TRI and FLU ($F_{1,23} = 16.00$). For the Ent area (Fig.

7 D,E), [³H]nisoxetine labelling in lamina I (64.5 ± 2.75 fmol/mg protein) was lower ($F_{\text{in},46} = 4.68$) than in Ent II (68.9 ± 3.31 fmol/mg protein) and Ent III (68.5 ± 3.50 fmol/mg protein); however, binding in Ent II did not differ significantly from Ent III. A significant ($F_{1,23} = 24.13$) decrease in [³H]nisoxetine labelling was observed between the animals treated with NA transporter blockers and those treated with non-blockers.

In the hippocampus (Table V), the distribution of NA transporters was measured in the same divisions as for 5-HT transporters (Fig. 7 C,D). For Ammon's horn, a significant ($F_{3,69} = 42.54$) difference in binding densities was found between the regions, the rank order being CA4 > CA3 > CA2 > CA1. There was also high labelling in the subiculum (Fig. 7 D), but only a very sparse binding in the DG. Significant reductions in [³H]nisoxetine binding were observed after the treatment with the NA transporter blockers DMI and VEN by contrast to FLU and TRI, in all the hippocampal divisions, *i.e.*: in CA1 ($F_{1,23} = 11.82$), CA2 ($F_{1,23} = 9.87$), CA3 ($F_{1,23} = 10.85$), CA4 ($F_{1,23} = 13.34$), DG ($F_{1,23} = 22.40$) and subiculum ($F_{1,23} = 12.19$).

In brainstem (Fig. 7 F), the labelling in nRD was 2-3 fold the levels measured in nRM ($F_{1,22} = 233.1$). There was a significant reduction in [³H]nisoxetine binding after VEN and DMI treatment when contrasted with the non-blockers, in nRD ($F_{1,23} = 18.88$) and nRM ($F_{1,23} = 10.27$). In the LC, that showed the highest levels of [³H]nisoxetine labelling (600-800 fmol/mg protein), there were differences between the NA transporter blockers and the non-blockers ($F_{1,25} = 7.85$), and also between the DMI-treated rats and those that had received VEN ($F_{1,25} = 7.81$).

Discussion

Previous studies have examined the effects of chronic antidepressant treatments on 5-HT uptake sites, but the findings have often been inconsistent. For example, after a 21-days treatment with the 5-HT

uptake site inhibitor citalopram, there were no changes in [³H]cyanoimipramine labelling in Par, Pir, PRh and retrosplenial cortices nor in the hippocampal CA1-CA3 and DG divisions (Kovachic et al 1992). Also, no changes in 5-HT transporters following chronic treatments with fluoxetine, trimipramine or imipramine (Dewar et al 1993), nor after citalopram or desipramine administration (Cheetham et al 1993) were found by homogenate binding with [³H]paroxetine. In contrast, after a chronic treatment with fluoxetine, autoradiography revealed an increase in [³H]paroxetine labelling in all layers of the fronto-parietal cortex, in deep layers of the striate, or visual cortex, and in CA1 (Hrdina and Vu 1993). It has also been reported that [³H]paroxetine binding is increased in the hippocampus, decreased in hypothalamus and unchanged in cortex, septum and striatum of two animal models of depression, namely in learned helplessness and in spontaneously helpless rats (Edwards et al 1991). More recently, a survey of 5-HT transporters by autoradiography with [³H]citalopram revealed no changes in the dorsal and median raphe nuclei, nor in [³H]citalopram homogenate binding in hippocampus and cerebral cortex following chronic fluoxetine or citalopram treatments (Gobbi et al 1997). Thus, it would seem that few if any effects are caused by antidepressants on 5-HT transporters, even if some of these compounds are quite selective 5-HT uptake blockers. A possible explanation for some of these controversies on 5-HT transporters is that changes may be limited to particular and discrete CNS areas, or their mode of action may not involve direct modifications in the transporter densities, and they may be depicted as being invariable.

The effects of antidepressants on NA transporters has not been examined in the past in great detail because of the lack of a suitable marker of uptake sites. With the availability of [³H]nisoxetine for quantitative autoradiography, a down-regulation of NA transporters after a chronic treatment with DMI was documented in CA2, CA3 and DG as well as in several amygdaloid and thalamic nuclei, but no changes were observed in other regions, including CA1 and LC, (Bauer and Tejani-Butt 1992). A similar effect of DMI on NA transporters was also demonstrated by *in vitro* studies with PC12 cells

in culture, and this down-regulation was evident as early as 4 hours of incubation, increased with time, and was dose dependent (Zhu and Ordway 1997). The possible changes of NA transporters following antidepressant treatments are pertinent to a recent report showing that in the mid-caudal LC of patients retrospectively diagnosed with major depression there are lower densities of [³H]nisoxetine binding in the absence of changes in NA cell counts (Klimek et al 1997).

Overall, the present available studies suggest that NA and 5-HT transporters may not be subjected to classical pharmacological regulations as are monoamine receptors, even though these uptake sites are direct target sites for some antidepressants such as desipramine and fluoxetine. Moreover, previous findings in animal models of depression with less selective ligands, or in human *post mortem* studies, are not consistent with those obtained in animals treated with antidepressant compounds. It is also noteworthy that none of the studies reviewed above have contrasted the possible effects of the different chronic antidepressant treatments on both NA and 5-HT transporters.

In the present study [³H]citalopram binding to 5-HT transporters was greater in the superficial layers than in the deeper laminae of all cortical regions studied (Table II). Furthermore, in all the regions where optical density readings were made at three laminar levels, except in the entorhinal cortex, this decrease exhibited both a linear and quadratic trend, implying that the difference in binding densities was greater between the superficial and intermediate layers, than between the intermediate and deep layers; such a laminar distribution of the 5-HT innervation in rat neocortex is known from studies of [³H]5-HT uptake (Audet et al 1989). In the Ent cortex, although the superficial lamina had significantly greater [³H]citalopram binding densities than the two deeper divisions, the two latter did not significantly differ between themselves; this difference could be attributed to the fact that this cortex is phylogenetically older, and may thus receive a very distinct innervation. In most of the brain regions examined no differences were observed between the pharmacological treatments. However, differences between the direct 5-HT blockers and non-blockers were found in the Cin, AI and PRh

cortices. For these three cortical regions, chronic FLU and VEN treatment lead to significantly sparser 5-HT transporter binding densities than chronic treatment with DMI and TRI which did not directly block these sites. This up-regulation of 5-HT transporters in response to non-blocking drugs compared to blocking ones does not follow the paradigm of receptor adaptation, but it is important to point out that these structures are transporters and not receptors, and thus may be subject to different regulatory mechanisms. None of the antidepressant drugs studied modified [³H]citalopram binding in the hippocampal divisions surveyed, nor in the brainstem nuclei examined.

A significant reduction in NA transporters, studied through [³H]nisoxetine binding, was observed after treatments with VEN and DMI when contrasted to the animals that received FLU and TRI in most regions studied, with the exception of the Fro V-VI and Par V-VI cortical regions and in the LC. In the superficial and deep layers of the Cin as well as in the superficial and intermediate laminae of the Fro and Par cortices, the density of NA transporters was lower in the animals treated with either VEN or DMI, than in those treated with either FLU or TRI. Similar observations were made in Pir, AI, Occ, Tem, Ent, and PRh. Here again, as seen with [³H]citalopram binding, there is seemingly an up-regulation following chronic treatment with non-blockers when contrasted to effects of blockers, and it is important to remember that transporters may not be regulated through the same adaptational mechanisms as receptors. It is noteworthy that the density of NA transporters was always greater in the superficial cortical layers than in the deeper ones, for all cortical regions examined except for the Ent cortex, where [³H]nisoxetine binding densities were greater in the deeper layers than in the superficial one, and for the Pir cortex, where no differences between the superficial and deep divisions could be documented. Once again the phylogenic origin of these two structures which differs from the other cortical regions sampled in this study, could be a possible explanation for the different pattern of binding observed. For all other cortical regions, differences between drug treatments were always more pronounced in the superficial cortical layers than in the deeper ones.

Because the binding densities were highest in the superficial layer, it is logical that differences between the various treatments would be easiest to document at this level than in the deeper laminar subdivisions where the transporters were less abundant; this might explain why no differences in treatment effects were found in the deepest layers of Fro and Par cortices. Also, a similar effect of NA transporter blockers was observed in all hippocampal regions as well as in the two raphe nuclei, namely a significant up-regulation of [³H]nisoxetine binding following treatment with FLU and TRI compared to the animals that received VEN and DMI. In the locus coeruleus there was decrease of NA transporters after DMI treatment compared to the animals that had received VEN. This down-regulation of NA transporters caused by DMI was not found in previous studies (Bauer and Tejani-Butt 1992); however, such discrepancy could be due to the different anatomical localization of the sampling. In this regard, it is interesting to note that a down-regulation of [³H]nisoxetine binding was described in the LC from human patients retrospectively diagnosed as suffering from major depression, but only in its mid-caudal portion (Klimek et al 1997). The amount of labelling in any division of the LC depends on the heterogeneity of this nucleus, particularly when neuronal NA bodies are compared to the surrounding neuropil, and these local differences in the distribution of NA transporters may account for some of the incongruities (Bauer and Tejani-Butt 1992; Klimek et al 1997). Also, and as was the case for the other regions, there was a down-regulation of [³H]nisoxetine binding in the animals treated with NA transporter blockers when compared to the rats that had received the NA non-blocking antidepressant drugs.

Although most antidepressants target the serotonergic and/or noradrenergic systems, we cannot exclude the fact that their beneficial effects could be due to other transmitter systems, such as the dopaminergic and/or the substance P systems, either through direct or indirect action. Some clinically efficacious antidepressants, such as bupropion, more potently block DA than either 5-HT or NA transporters both in vitro and in vivo (Ascher 1995). However a direct dopaminergic effect can

probably be ruled out since no decrease of the dopamine metabolite homovanillic acid (HVA) was found in the cerebrospinal fluid of patients following acute treatment (Golden et al 1988a), which indicates that bupropion does not directly inhibit DA uptake (Frazer 1997). Though it only weakly blocks 5-HT and NA uptake sites, bupropion does affect NA turnover (Golden et al 1988b). Of the antidepressants surveyed in this study, fluoxetine has the highest DA uptake blocking potency, followed by trimipramine, venlafaxine, and desipramine, and because of the complexity of monoamine interactions, a dopaminergic role in depression cannot be ruled out. Substance P is another neurotransmitter which may affect synaptic transmission in depression (Fuxe et al 1983). Indeed, recent evidence suggests that specific substance P blockers have antidepressant effects (Kramer et al 1998). Although chronic fluoxetine treatment did not affect levels of substance P in the cerebrospinal fluid of patients (Martensson et al 1989), chronic trimipramine treatment has been reported to increase the sensitivity of neurons in the cingulate cortex to substance P (Jones and Olpe 1984); thus a possible explanation of trimipramine's antidepressant action could be through this peptidergic neurotransmitter system.

In conclusion, this study reports significant differences between the way chronic treatment with blockers and non-blockers affected NA and 5-HT transporters. The effects on NA transporter sites seem to be more generalized, as the changes in [³H]nisoxetine binding were observed in the majority of brain regions examined. However, [³H]citalopram binding revealed that there was a certain heterogeneity in 5-HT transporter adaptations to these treatments, and these varied according to the region. Furthermore, where differences were found, pharmacological treatment with drugs which did not directly block the transporter of interest almost always seemingly revealed up-regulations when contrasted to treatment with drugs that directly blocked the transporter examined.

Aknowledgements

The authors thank Wyeth-Ayerst Research (Ville St-Laurent, Québec), Rhône-Poulenc Pharma Inc. (Montréal, Québec), Lilly Research Laboratories (Indianapolis, IN) and Sandoz Canada (Dorval, Québec), for the generous gifts of venlafaxine HCl, trimipramine, fluoxetine HCl and mazindol, respectively.

References

- Arranz B, Marcusson J (1994): [³H]Paroxetine and [³H]citalopram as markers of the human brain 5-HT uptake site: a comparison study. *J Neural Transm* **97**: 27-40.
- Ascher JA, Cole JO, Colin J-N, Feigner JP, Ferris RM, Fibiger HC, et al (1995): Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity. *J Clin Psychiatry* **56**: 395-401.
- Ase AR, Amdiss F, Hébert C, Huang N, van Gelder NM, Reader TA (1999): Effects of antipsychotic drugs on dopamine and serotonin contents and metabolites, dopamine and serotonin transporters, and serotonin_{1A} receptors. *J Neural Transm* **106**: 75-105.
- Audet MA, Descarries L, Doucet G (1989): Quantified regional and laminar distribution of the serotonin innervation in the anterior half of adult rat cerebral cortex. *J Chem Neuroana.* **2**: 29-44.
- Bauer ME, Tejani-Butt SM (1992): Effects of repeated administration of desipramine or electroconvulsive shock on norepinephrine uptake sites measured by [³H]nisoxetine autoradiography. *Brain Res* **582**: 208-214.
- Berger M, Gastpar M (1996): Trimipramine: a challenge to current concepts on antidepressives. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* **246**: 235-239.
- Carli M, Reader TA (1997): Regulation of central serotonin transporters by chronic lithium: an autoradiographic study. *Synapse* **27**: 83-89.
- Charnay Y, Leger L, Vallet PG, Hof PR, Jouvét M, Bouras C (1995): [³H]nisoxetine binding sites in the cat brain: an autoradiographic study. *Neuroscience* **69**: 259-270.
- Charney DS, Menkes DB, Heninger GR (1981): Receptor sensitivity and the mechanism of action of antidepressant treatment: implications for the etiology and therapy of depression. *Arch Gen Psychiatry* **38**: 1160-1180.
- Cheetham SC, Vigger JA, Slater NA, Heal DJ, Buckett WR (1993): [³H]Paroxetine binding in rat frontal cortex strongly correlates with [³H]5-HT uptake: effect of administration of various antidepressant treatments. *Neuropharmacology* **32**: 737-743.
- D'Amato RJ, Largent BL, Snowman AM, Snyder SH (1987): Selective labeling of serotonin uptake sites in rat brain by [³H]citalopram contrasted to labeling of multiple sites by [³H]imipramine. *J Pharmacol Exp Ther* **242**: 364-371.

- Descarries L, Soucy JP, Lafaille F, Mrini A, Tanguay R (1995): Evaluation of three transporter ligands as quantitative markers of serotonin density in rat brain. *Synapse* **21**: 131-139.
- Dewar KM, Grondin L, Nénonéné EK, Ohayon M, Reader TA (1993): [³H]Paroxetine binding and serotonin content of rat brain: absence of changes following antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* **23**: 137-142.
- Duncan GE, Little KY, Kirkman JA, Kaldas RS, Stumpf WE, Breese GK (1992): Autoradiographic characterization of [³H]imipramine and [³H]citalopram binding in rat and human brain: species differences and relationships to serotonin innervation patterns. *Brain Res* **591**: 181-197.
- Edwards E, Harkins K, Wright G, Henn F (1991): Modulation of [³H]paroxetine binding to the 5-hydroxytryptamine uptake site in an animal model of depression. *J Neurochem* **56**: 1581-1586.
- Fischer RA, Yates F (1957): *Statistical Tables for Biological, Agricultural, and Medical Research*. Oliver and Boyd, London.
- Frank H, Althoen SC (1994): *Statistics: Concepts and Applications*. New York: Cambridge University Press.
- Frazer A (1997): Pharmacology of antidepressants. *J Clin Psychopharm* **17**: (Suppl. I), 2S-18S.
- Fuxe K, Ogren SO, Agnat, LF, Benefati F, Fredholm B, Andersson K, et al (1983): Chronic antidepressant treatment and central 5-HT synapses. *Neuropharmacology* **38**: 389-400.
- Gehlert DR, Schober DA, Gackenheimer SL (1995): Comparison of (R)-[³H]tomoxetine and (R/S)-[³H]nisoxetine binding in rat brain. *J Neurochem* **64**: 2792-2800.
- Gobbi M, Crespi D, Foddi MC, Fracasso C, Mancini L, Parotti L, et al (1997): Effects of chronic treatment with fluoxetine and citalopram on 5-HT uptake, 5-HT_{1B} autoreceptors, 5-HT₃ and 5-HT₄ receptors in rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **356**: 22-28.
- Golden RN, Rudorfer MV, Sherer MA, Linnoila M, Potter WZ (1988a): Bupropion in depression. I. Biochemical effects and clinical response. *Arch Gen Psychiatry* **45**: 139-143.
- Golden RN, DeVane CL, Laizure SC, Rudorfer MV, Sherer MA, Potter WZ (1988b): Bupropion in depression. II. The role of metabolites in clinical outcome. *Arch Gen Psychiatry* **45**: 145-149.
- Heninger GR, Delgado PL, Charney DS (1996): The revised monoamine theory of depression: A modulatory role for monoamines, based on new findings from monoamine depletion experiments in humans. *Pharmacopsychiatry* **29**: 2-11.

- Hrdina PD, Vu TB (1993): Chronic fluoxetine treatment upregulates 5-HT uptake sites and 5-HT₂ receptors in rat brain: an autoradiographic study. *Synapse* **14**: 324-331.
- Hyttel J (1982) Citalopram: basic and clinical studies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **6**: 275-336.
- Jones RSG, Olpe, HR (1984): An increase in sensitivity of rat cingulate cortical neurones to substance P occurs following withdrawal of chronic administration of antidepressant drugs. *Br J Pharmacol* **81**: 659-664.
- Klimek V, Stockmeier C, Overholser J, Meltzer HY, Kalka S, Dilley G, et al (1997): Reduced levels of norepinephrine transporters in the locus coeruleus in major depression. *J Neurosci* **17**: 8451-8458.
- Kovachic GA, Aronson CE, Brunswick DJ (1992): Effects of repeated administration of antidepressants on serotonin uptake sites in limbic and neocortical structures of rat brain determined by quantitative autoradiography. *Neuropsychopharmacol* **7**: 317-324.
- Kramer MS, Cutler N, Feighner J, Srivastava H, Carman J, Sramek JJ, et al (1998). Distinct mechanism for antidepressant activity by blockade of central substance P receptors. *Science* **281**: 1640-1645.
- Le Marec N, Hébert C, Amdiss F, Botez MI, Reader, TA (1998): Regional distribution of 5-HT transporters in the brain of wild type and 'Purkinje cell degeneration' mutant mice: a quantitative autoradiographic study with [³H]citalopram. *J Chem Neuroanat* **15**: 155-171.
- Martensson B, Nyberg S, Toresson G, Brodin E, Bertilsson L (1989): Fluoxetine treatment of depression. Clinical effects, drug concentrations and monoamine metabolites and N-terminally extended substance P in cerebrospinal fluid. *Acta Psychiatr Scand* **79**: 586-596.
- Paxinos G, Watson C (1997): *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego: Academic Press.
- Plenge P, Møllerup ET, Laursen H (1991). Affinity modulation of [³H]imipramine, [³H]paroxetine and [³H]citalopram to the 5-HT transporter from brain and platelets. *Eur J Pharmacol* **206**: 243-250.
- Potter WZ (1996): Adrenoceptors and serotonin receptor function : relevance to antidepressant mechanisms of action. *J Clin Psychiatry* **57**: Suppl. 4, 4-8.

- Reader TA, Strazielle C (1999): Quantitative autoradiography of monoamine uptake sites and receptors in rat and mouse brain. In: Boulton AA, Baker GB, Bateson A, editors. *Cell Neurobiology Techniques, Neuromethods Vol. 33*, Totowa New Jersey: Humana Press, pp 1-51.
- Richelson E (1991): Biological basis of depression and therapeutic relevance. *J Clin Psychiatry* **52**: Suppl. 6, 4-10.
- Richelson E (1996): Synaptic effects of antidepressants. *J Clin Psychopharm* **16**: Suppl 2, 1S-7S.
- Schildkraut JJ (1965): The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* **122**: 509-522.
- Strazielle C, Lalonde R, Riopel L, Botez MI, Reader TA (1996). Regional distribution of the 5-HT innervation in the brain of normal and lurcher mice as revealed by [³H]citalopram quantitative autoradiography. *J Chem Neuroanat* **10**: 157-171.
- Tejani-Butt SM (1992): [³H]Nisoxetine: a radioligand for quantitation of norepinephrine uptake sites by autoradiography or by homogenate binding. *J Pharmacol Exp Ther* **260**: 427-436.
- Tejani-Butt SM, Brunswick DJ, Frazer A (1990): [³H]nisoxetine: a new radioligand for norepinephrine uptake sites in brain. *Eur J Pharmacol* **191**: 239-243.
- Unnerstall JR, Niehoff DL, Kuhar MJ, Palacios JM (1982): Quantitative receptor autoradiography using [³H]Ultrafilm: application to multiple benzodiazepine receptors. *Neurosci Methods* **6**: 59-73.
- Wong DT, Threlkeld PG, Best KL, Bymaster FP (1982). A new inhibitor of norepinephrine uptake devoid of affinity for receptors in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* **222**: 61-65.
- Zhu MY, Ordway GA (1997): Down-regulation of norepinephrine transporters on PC12 cells by transporter inhibitors. *J Neurochem* **68**: 134-141.
- Zilles K (1985): *The Cortex of the Rat. A Stereotaxic Atlas*. Berlin: Springer-Verlag.

Table II
Serotonin Transporters Labelled with [³H]Citalopram in Cortical Areas

| Region | Control | Fluoxetine | Venlafaxine | Trimipramine | Desipramine | Fischer Coefficient |
|------------|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------------------|
| Cingulate | Cin I ^b | 286.61 ± 11.84 | 290.27 ± 30.76 | 245.11 ± 10.91 | 351.79 ± 27.48 | F _{1,25} = 5.38* |
| | Cin II-VI | 162.62 ± 7.37 | 172.45 ± 18.25 | 148.87 ± 7.76 | 201.11 ± 12.68 | |
| Frontal | Fro I ^b | 313.18 ± 12.60 | 332.85 ± 45.04 | 287.60 ± 15.22 | 358.31 ± 25.96 | F _{1,25} = 1.26 |
| | Fro II-IV ^c | 196.60 ± 11.70 | 245.62 ± 38.21 | 184.53 ± 11.66 | 254.78 ± 17.60 | |
| | Fro V-VI | 141.25 ± 4.57 | 177.80 ± 32.75 | 143.19 ± 6.75 | 185.28 ± 15.34 | |
| Parietal | Par I ^b | 346.06 ± 16.33 | 379.99 ± 40.69 | 304.08 ± 17.53 | 418.99 ± 23.11 | F _{1,25} = 2.02 |
| | Par II-IV ^d | 194.04 ± 11.28 | 230.01 ± 38.88 | 186.29 ± 13.21 | 240.75 ± 18.71 | |
| | Par V-VI | 126.71 ± 5.66 | 153.00 ± 25.52 | 129.57 ± 7.88 | 154.24 ± 11.79 | |
| Piriform | Pir I ^b | 373.07 ± 32.94 | 324.90 ± 27.79 | 335.92 ± 25.42 | 387.19 ± 22.15 | F _{1,25} = 1.83 |
| | Pir II | 300.17 ± 21.28 | 280.97 ± 27.79 | 292.66 ± 20.89 | 327.42 ± 19.36 | |
| Agranular | AI | 375.87 ± 24.87 | 372.36 ± 35.39 | 347.88 ± 21.80 | 457.51 ± 24.89 | F _{1,25} = 6.22* |
| | AIP | 403.37 ± 22.55 | 384.68 ± 30.01 | 471.53 ± 31.40 | 433.68 ± 14.21 | |
| Occipital | Occ I ^b | 271.45 ± 19.91 | 227.09 ± 20.36 | 216.86 ± 11.50 | 250.74 ± 18.94 | F _{1,25} = 1.25 |
| | Occ II-IV ^c | 187.03 ± 8.24 | 185.57 ± 18.26 | 164.20 ± 10.03 | 191.06 ± 9.07 | |
| | Occ V-VI | 142.32 ± 3.43 | 153.03 ± 17.65 | 131.10 ± 9.51 | 150.80 ± 10.08 | |
| Temporal | Tem I ^b | 246.98 ± 15.30 | 242.67 ± 18.59 | 212.91 ± 14.32 | 282.86 ± 15.88 | F _{1,25} = 3.47 |
| | Tem II-IV ^c | 219.53 ± 10.39 | 217.90 ± 16.74 | 214.06 ± 17.72 | 239.03 ± 14.20 | |
| | Tem V-VI | 173.52 ± 6.09 | 173.20 ± 14.78 | 164.80 ± 13.17 | 174.06 ± 12.34 | |
| Entorhinal | Ent I ^a | 444.72 ± 42.41 | 324.19 ± 25.60 | 323.82 ± 23.36 | 393.83 ± 38.99 | F _{1,25} = 3.29 |
| | Ent II ^d | 322.60 ± 25.96 | 272.29 ± 21.63 | 255.90 ± 15.08 | 342.63 ± 24.66 | |
| | Ent III | 343.68 ± 21.24 | 308.83 ± 21.09 | 312.30 ± 27.83 | 355.52 ± 26.18 | |
| Perirhinal | PRh | 371.89 ± 15.84 | 340.45 ± 21.62 | 313.05 ± 20.29 | 401.44 ± 26.67 | F _{1,25} = 6.84* |

The values are the mean ± SEM (n = 6) in femtomoles per milligram of protein. * P<0.05 FLU and VEN vs TRI and DMI; a p<0.01 and b p<0.001 Lamina I vs deepest laminae; c p<0.01 and d p<0.001 intermediate laminae vs other two.

Table III
Serotonin Transporters Labelled with [³H]Citalopram in Hippocampus, Raphe Nuclei and Locus Coeruleus

| Region | Control | Fluoxetine | Venlafaxine | Trimipramine | Desipramine | Fischer Coefficient |
|---------------------|-------------------|-------------------|-----------------|------------------|-----------------|--------------------------|
| Hippocampus | | | | | | |
| Ammon's horn CA1 | 284.39 ± 16.64 | 258.65 ± 25.37 | 248.36 ± 25.33 | 296.32 ± 16.09 | 261.26 ± 16.24 | F _{1,25} = 0.23 |
| CA2 | 478.06 ± 25.92 | 427.16 ± 40.52 | 485.04 ± 50.08 | 537.25 ± 24.32 | 499.06 ± 42.85 | F _{1,25} = 2.66 |
| CA3 | 404.01 ± 25.85 | 355.60 ± 26.65 | 374.23 ± 36.83 | 443.42 ± 24.32 | 395.10 ± 22.74 | F _{1,25} = 3.83 |
| CA4 | 192.00 ± 17.42 | 187.02 ± 20.04 | 202.34 ± 17.37 | 255.14 ± 13.60 | 225.71 ± 12.63 | F _{1,25} = 3.50 |
| Dentate gyrus DG | 190.43 ± 17.36 | 191.17 ± 14.95 | 163.17 ± 13.91 | 195.25 ± 13.81 | 192.75 ± 7.01 | F _{1,25} = 1.48 |
| Subiculum S | 376.06 ± 29.71(5) | 468.71 ± 61.81(2) | 435.31 ± 55.41 | 503.49 ± 15.58 | 421.94 ± 34.49 | F _{1,20} = 0.22 |
| Raphe Nuclei | | | | | | |
| Dorsalis nRD | 853.21 ± 85.72 | 1093.40 ± 113.64 | 1061.96 ± 87.15 | 1110.76 ± 155.94 | 1044.37 ± 64.09 | F _{1,25} = 0.00 |
| Medialis nRM | 679.70 ± 89.93 | 760.13 ± 45.54 | 763.39 ± 90.24 | 648.00 ± 100.36 | 848.14 ± 71.12 | F _{1,25} = 0.03 |
| Locus Coeruleus LC | 631.66 ± 36.85 | 660.09 ± 46.09 | 670.66 ± 37.97 | 686.67 ± 28.71 | 712.20 ± 47.04 | F _{1,25} = 0.73 |

The values are the mean ± SEM (n = 6, unless otherwise indicated) in femtomoles per milligram of protein.

Table IV
Noradrenaline Transporters Labelled with [³H]Nisoxetine in Cortical Areas

| Region | Control | Fluoxetine | Trimipramine | Venlafaxine | Desipramine | Fischer Coefficient |
|------------|------------------------|--------------|--------------|---------------|--------------|-----------------------------|
| Cingulate | Cin I ^b | 72.64 ± 9.13 | 89.49 ± 5.69 | 104.10 ± 8.52 | 60.05 ± 2.23 | F _{1,23} = 25.11** |
| | Cin II-VI | 37.33 ± 3.13 | 51.03 ± 4.46 | 58.74 ± 4.84 | 31.91 ± 4.24 | 35.82 ± 1.84 |
| Frontal | Fro I ^b | 62.84 ± 8.05 | 78.85 ± 5.56 | 101.72 ± 7.81 | 47.28 ± 8.64 | 62.11 ± 2.92 |
| | Fro II-IV ^d | 43.15 ± 2.95 | 59.41 ± 5.60 | 68.85 ± 5.81 | 38.01 ± 7.22 | 44.32 ± 3.55 |
| | Fro V-VI | 37.97 ± 1.55 | 49.64 ± 3.70 | 56.44 ± 6.46 | 32.13 ± 4.57 | 37.34 ± 2.78 |
| Parietal | Par I-II ^b | 52.10 ± 3.38 | 68.80 ± 5.60 | 79.95 ± 6.66 | 37.61 ± 6.80 | F _{1,23} = 22.60** |
| | Par II-IV ^d | 38.59 ± 2.97 | 53.54 ± 5.66 | 58.57 ± 4.68 | 31.92 ± 5.70 | 39.67 ± 4.62 |
| | Par V-VI | 32.04 ± 2.14 | 42.69 ± 3.91 | 47.94 ± 4.97 | 27.52 ± 3.72 | 32.35 ± 3.88 |
| Piriform | Pir I | 52.63 ± 4.44 | 63.15 ± 4.28 | 71.28 ± 7.52 | 42.96 ± 6.06 | F _{1,23} = 17.06** |
| | Pir II | 54.83 ± 5.04 | 64.81 ± 5.99 | 71.91 ± 6.90 | 42.60 ± 6.04 | 43.36 ± 4.98 |
| Agranular | AI ^c | 55.20 ± 4.88 | 70.07 ± 5.29 | 81.79 ± 6.57 | 44.57 ± 6.57 | F _{1,23} = 25.51** |
| | AIP | 74.02 ± 5.64 | 88.24 ± 7.14 | 100.22 ± 6.64 | 55.44 ± 8.04 | 64.97 ± 7.43 |
| Occipital | Occ I ^b | 56.50 ± 5.22 | 68.94 ± 5.51 | 67.97 ± 6.87 | 46.81 ± 6.48 | F _{1,23} = 12.99* |
| | Occ II-IV ^d | 40.23 ± 3.16 | 55.92 ± 4.89 | 53.47 ± 3.59 | 35.22 ± 4.84 | 42.72 ± 4.18 |
| | Occ V-VI | 34.46 ± 2.71 | 47.96 ± 4.39 | 47.23 ± 3.87 | 29.55 ± 3.61 | 37.94 ± 4.74 |
| Temporal | Tem I ^b | 53.99 ± 4.07 | 70.12 ± 5.66 | 68.53 ± 5.01 | 44.11 ± 5.06 | F _{1,23} = 16.00** |
| | Tem II-IV ^d | 38.14 ± 2.38 | 53.58 ± 5.10 | 52.27 ± 3.45 | 36.06 ± 4.42 | 42.31 ± 4.57 |
| | Tem V-VI | 40.24 ± 2.68 | 53.86 ± 4.85 | 50.73 ± 3.28 | 33.83 ± 3.89 | 43.07 ± 4.11 |
| Entorhinal | Ent I ^a | 65.28 ± 3.90 | 70.32 ± 4.66 | 77.08 ± 5.01 | 48.84 ± 5.37 | F _{1,23} = 24.13** |
| | Ent II ^c | 63.65 ± 5.18 | 77.25 ± 3.54 | 86.81 ± 5.70 | 56.38 ± 7.87 | 55.97 ± 3.66 |
| | Ent III | 61.49 ± 5.47 | 78.97 ± 2.98 | 88.02 ± 6.71 | 54.58 ± 6.80 | 54.84 ± 4.00 |
| Perirhinal | PRh | 75.52 ± 5.95 | 92.22 ± 3.44 | 99.93 ± 6.02 | 63.73 ± 8.53 | F _{1,23} = 19.68** |

The values are the mean ± SEM (n = 4-6) in femtomoles per milligram of protein. *p<0.01 and **p<0.001 FLU and TRI vs VEN and DMI; a p<0.05 and b p<0.001 Lamina I vs deepest laminae; c p<0.05 and d p<0.001 intermediate laminae vs other two; e p<0.001 AI vs AIP.

Table V
Noradrenaline Transporters Labelled with [³H]Nisoxetine in Hippocampus, Raphe Nuclei and Locus Coeruleus

| Region | Control | Fluoxetine | Trimipramine | Venlafaxine | Desipramine | Fischer Coefficient |
|-----------------------------|----------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------------|
| Hippocampus Ammon's horn | CA1 | 51.19 ± 5.51 | 71.27 ± 5.48 | 48.76 ± 7.68 | 44.69 ± 5.76 | F _{1,23} = 11.82* |
| | CA2 | 66.07 ± 8.97 | 101.46 ± 8.57 | 72.61 ± 12.33 | 74.39 ± 3.50 | F _{1,23} = 9.87* |
| | CA3 | 76.20 ± 6.77 | 98.62 ± 7.76 | 120.52 ± 9.92 | 82.06 ± 11.66 | F _{1,23} = 10.85* |
| | CA4 | 86.55 ± 11.32 | 114.34 ± 13.04 | 141.35 ± 16.72 | 83.87 ± 13.45 | F _{1,23} = 13.34* |
| | DG | 38.88 ± 4.88 | 55.34 ± 4.18 | 60.54 ± 6.19 | 34.94 ± 4.50 | F _{1,23} = 22.40** |
| Subiculum | S | 123.01 ± 16.58 | 173.36 ± 16.47 | 119.45 ± 18.72 | 112.49 ± 9.10 | F _{1,23} = 12.19* |
| Raphe Nuclei | nRD | 115.85 ± 10.54 | 175.90 ± 12.15 | 115.23 ± 15.43 | 111.12 ± 8.58 | F _{1,23} = 18.88** |
| | Dorsalis | 54.44 ± 3.25 | 63.01 ± 7.12 | 68.95 ± 8.01 | 45.26 ± 5.46 | F _{1,23} = 10.27* |
| | Medialis | | | | | |
| Locus Coeruleus | LC | 724.28 ± 40.58 | 758.28 ± 26.68 | 735.61 ± 30.47 | 597.91 ± 52.44 | F _{1,25} = 7.85** |

The values are the mean ± SEM (n = 4-6) in femtomoles per milligram of protein. *p<0.01 and **p<0.001 FLU and TRI vs VEN and DMI.

Figure Legends

Figure 6. Autoradiograms of total [^3H]citalopram labelling to 5-HT transporters in rat forebrain and brainstem in sections extending from interaural (IA) plane 10.7 to -0.8 mm (scale bar = 1 mm). The stereotaxic planes and nomenclature are following the rat stereotaxic atlas of Paxinos and Watson (1997). The optical density scale was converted to femtomoles per milligram of protein (18-1817 fmol/mg protein). The non-transformed autoradiographic images were digitized, and for the illustration, exported as FTP files that were re-sampled at a 300 x 300 dpi resolution. A) Section obtained from the rostralmost portion of the brain, showing the labelling in cortical areas, nucleus accumbens and olfactory tubercles; readings were taken at this level from Cin, Fro, Par, AI and Pir cortices. B) Section at the level of the anterior commissure showing the labelling in septum and rostral neostriatum; here readings were made from the Cin, Fro, Par, AI and Pir cortices. C) Section illustrating the caudal neostriatum, the globus pallidus, the anterior hypothalamus, thalamus and dorsal hippocampus; measurements were made at this level from the AIP, Par and Pir cortices as well as from the CA1 to CA4 divisions and the DG. D) Section showing the ventral hippocampus, amygdala, thalamus, hypothalamus and ventral hippocampus. For the hippocampus, the readings were from Ammon's horn, but also from the DG and the S. At this level, measurements were made from the Tem, Ent, PRh and Occ cortices. E) At the transition between the caudal mesencephalon and the pons, note the labelling in the periaqueductal gray, in substantia nigra and ventral tegmental area as well as in the interpeduncular nucleus; measurements were made here from Tem, Ent, PRh and Occ cortices as well as from the nRD and the nRM. F) The caudalmost section of this series is through the medulla oblongata, and illustrates the labelling in the central gray, and in the midline nuclei raphe interpositus and magnus; measurements were made here from the LC.

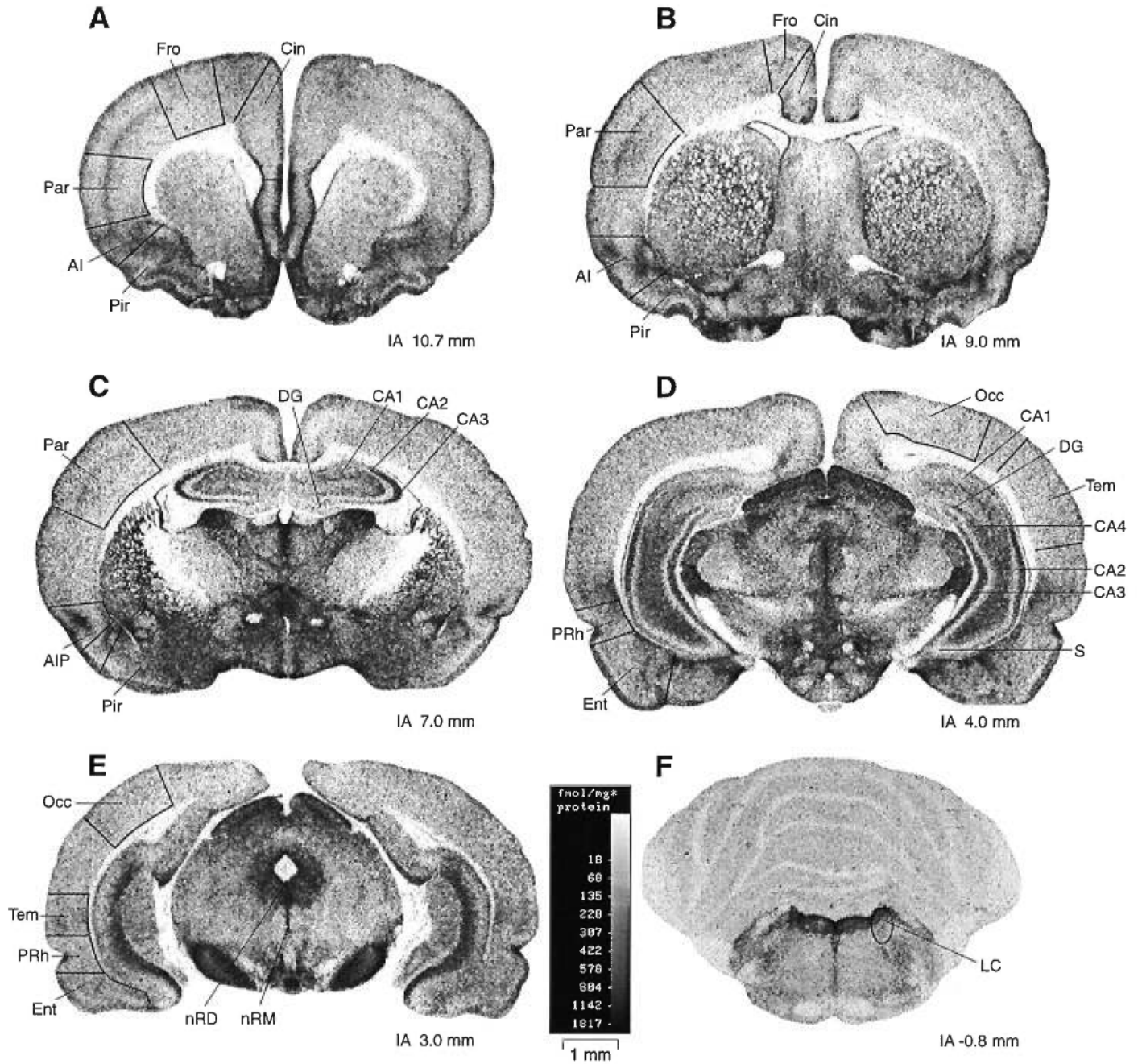
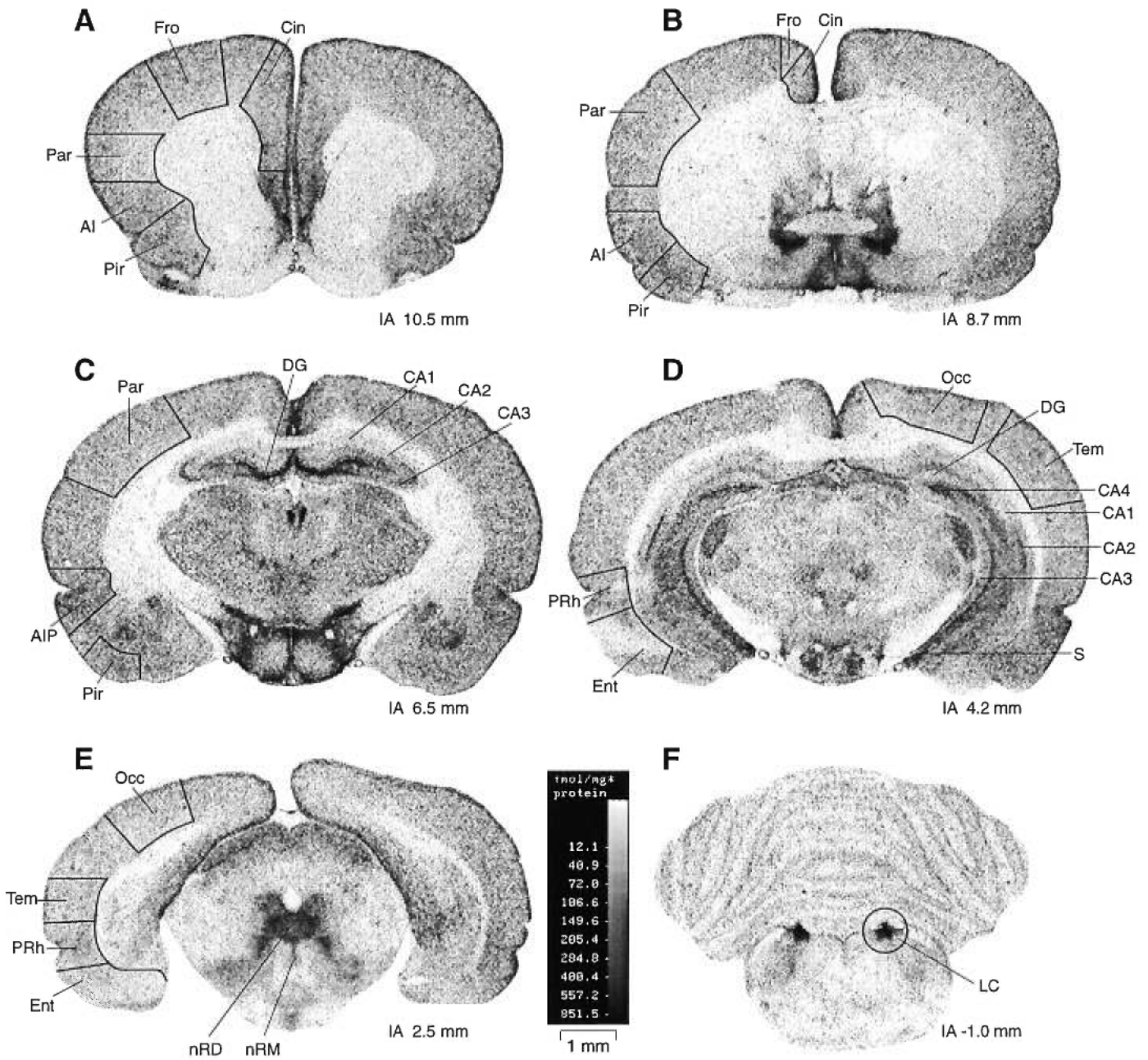


Figure 7. Autoradiograms of total [^3H]nisoxetine labelling to NA transporters in rat forebrain and brainstem in sections extending from interaural (IA) plane 10.5 to -1.0 mm (scale bar = 1 mm). The stereotaxic planes and nomenclature are following the rat stereotaxic atlas of Paxinos and Watson (1997). The optical density scale was converted to femtomoles per milligram of protein (12.1-851.5 fmol/mg protein). The non-transformed autoradiographic images were digitized, and for the illustration, exported as FTP files that were re-sampled at a 300 x 300 dpi resolution. A) Section obtained from the rostralmost portion of the brain, showing the labelling in cortical areas; readings were taken at this level from Cin, Fro, Par, AI and Pir cortices. B) Section at the level of the anterior commissure showing the labelling in the bed nucleus of the stria terminalis and medial preoptic area. At this level, readings were made from the Cin, Fro, Par, AI and Pir cortices. C) Section illustrating the thalamus, zona incerta, the ventro-medial hypothalamic nuclei, amygdala, and hippocampus; measurements were made here from Par, Pir and AIP cortices, as well as from Ammon's horn (CA1-CA4) and DG. D) Section showing the ventral hippocampus, amygdala, thalamus and hypothalamus. For the hippocampus, the readings for the S were taken at this level. The cortical areas measured at this plane were Occ, Tem, Ent and PRh. E) At the transition between the caudal mesencephalon and the pons, note the labelling in superior colliculus, lateral periaqueductal gray and tractus solitarius; measurements were made here from Occ, Tem, Ent and PRh cortices, as well as from nRD and nRM. F) The caudalmost section of this series is through the medulla oblongata and illustrates the very intense labelling of the LC.



Chapitre V - Discussion Générale

5.1 La technique de radioautographie

La radioautographie de coupes cérébrales permet la localisation très précise des sites de liaison de radioligands très spécifiques à des récepteurs ou des transporteurs de neuromédiateurs. Cette technique de marquage radioactif est utilisée depuis plusieurs années (Barnard, 1979; Rogers, 1979; Stumpf, 1971; Wamsley et Palacios, 1983), et avant même le développement de nouveaux ligands spécifiques, afin de localiser dans les organes et les tissus, la distribution de différents marqueurs (Reader et Strazielle, 1999).

Les techniques de liaison sur homogénats ont permis l'élaboration des techniques radioautographiques utilisant des ligands spécifiques, ainsi que leur application à la localisation des récepteurs et transporteurs pharmacologiques. Ces techniques classiques de liaison ont permis la détermination de paramètres nécessaires à la caractérisation des sites de liaison spécifiques à différents ligands. En effet, les techniques radioautographiques requièrent la détermination de plusieurs paramètres, notamment:

- ◆ La composition de la solution d'incubation (incubation medium).
- ◆ Le choix du ligand, ainsi que ses conditions d'incubation optimales (durée d'incubation, température, concentration).
- ◆ L'optimisation des rapports [liaison spécifique]/[liaison non-spécifique].
- ◆ L'élaboration d'un protocole de lavage, afin de retirer le plus de ligand non-lié (free) des sections tissulaires et diminuer ainsi la liaison non-spécifique.

Les techniques de liaison sur homogénats permettent l'optimisation du choix de ces conditions, et donc sont nécessaires à l'élaboration d'un protocole radioautographique utilisant un ligand spécifique.

L'étape la plus importante pour les techniques radioautographiques cérébrales est nécessairement celle du choix du ligand. En effet, c'est la localisation des sites de liaison de ce marqueur qui sera visualisée et quantifiée. La radioliasion spécifique doit aussi être saturable pour assurer un marquage complet de tous les sites de captage. Le profil pharmacologique du ligand doit être spécifique à une seule cible (incluant la stéréospécificité). Enfin, le ligand doit avoir une haute affinité pour son site primaire de reconnaissance (*primary ligand recognition site*). Toutes ces caractéristiques sont généralement déterminées à partir d'études de liaison sur homogénats. En effet avec les préparations d'homogénats, on peut varier les concentrations et les paramètres temporels pour optimiser la courbe de fixation du ligand et en déterminer les constantes cinétiques et des constantes d'inhibition (Reader et Strazielle, 1999).

La validité de la radioautographie quantitative repose surtout sur la précision des méthodes de collection des données brutes. Les systèmes d'analyse d'image informatisés permettent une haute résolution dans la quantification des densités optiques de films radioautographiques (Reader et Strazielle, 1999). De plus, ils permettent d'effectuer automatiquement la soustraction de deux images (Ramm, 1990; Ramm et coll., 1984). Pour notre étude, un système d'analyse d'image MCIDTM, développé par le Dr Peter Ramm à l'Université Brock, à St. Catharines en Ontario, a été utilisé. Ce système présente les caractéristiques physiques suivantes:

- ◆ Une lecture vidéo de haute résolution (*high resolution video scanning*).
- ◆ Une illumination constante du film (*constant back-film illumination*).
- ◆ Un point focal constant.
- ◆ Une capacité d'agrandissement.
- ◆ La possibilité d'utiliser différentes lentilles optiques.

- ◆ Une digitalisation des signaux analogiques.
- ◆ Une capacité d'emmagasinage de quatre images (4 canaux de lecture).

Ce système permet la lecture à l'intérieur d'un outil d'échantillonnage (*sample tool*) de la densité optique de plusieurs pixels, et en calcule leur moyenne.

La quantification de la densité du marquage est établie en fonction de la densité optique (OD). Lorsqu'on co-expose les sections radioactives avec des quantités connues de radioactivité, on peut générer une courbe étalon (Unnerstall et coll., 1982; Niehoff, 1986). La conversion des densités optiques en quantités de ligand liées se fait à l'aide de l'équation générale suivante:

$$\text{mmol/ mg * protéine} = OD_A \times [(\text{DPM} / \text{mg * protéine}) / (\text{OD})B] \times [\text{mmol/ (Ci)}C] \times [(1\text{Ci} / (2.22 \times 10^{12} \text{DPM}))]$$

où OD_A représente la densité optique de la région étudiée, le facteur B est la pente de la courbe étalon et le facteur C est l'activité spécifique du ligand corrigée pour sa dégradation radioactive (Unnerstall et coll., 1982). Il est aussi possible de transformer les densités optiques (OD) du marquage en femtomoles/milligramme de protéines par comparaison à des étalons commerciaux. Ces derniers sont apposés aux films lors de leur exposition. Après le développement des films, la valeur de l'étalon commercial en nanocuries / milligramme est transformée en femtomoles/ mg * protéines avec une correction pour la dégradation radioactive de l'isotope:

$$[(ST) (f) / (ASA)] * 10^{-12} / 0.3 = V$$

où ST est la valeur en nanocuries/milligramme de l'étalon à sa date de fabrication, f le facteur

correctif pour la dégradation, ASA l'activité du ligand pour la date de l'expérience (donc corrigée pour la dégradation de l'isotope), et V la valeur en femtomoles/ milligramme de protéines (Unnerstall et coll., 1982; Reader et Strazielle, 1999). La valeur 0.3 est la valeur moyenne de protéines contenues dans 1 milligramme de tissu sectionné (Unnerstall et coll., 1982). La calibration du système d'analyse d'image MCID™ à partir de l'étalon commercial permet d'obtenir la transformation quantitative automatisée des densités optiques.

Le nombre de sites de liaison (B_{MAX}) est généralement étudié dans des conditions de saturation, en utilisant une concentration de ligand radioactif de 10 à 20 fois supérieure à sa constante de dissociation (K_D). Cette constante représente l'affinité du ligand pour son site de liaison. La K_D est déterminée grâce à des courbes de saturation effectuées sur homogénats membranaires du tissu étudié. On calcule la B_{MAX} à partir de l'équation suivante:

$$B_{MAX} = B \times (K_D + L) / L$$

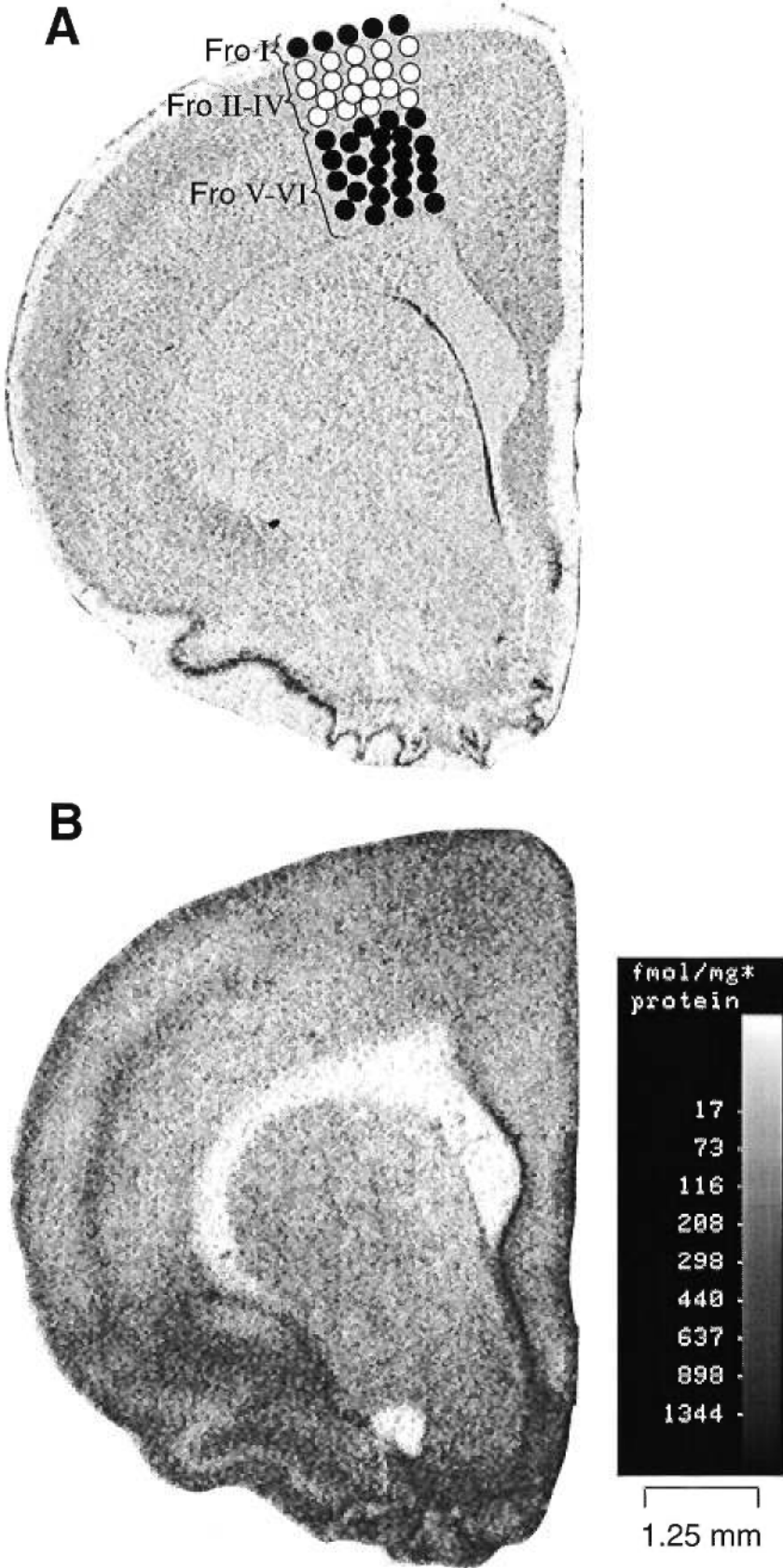
où B représente la liaison spécifique et L est la concentration de radioligand utilisée (Boyson et coll., 1986; Reader et coll., 1988b; Dewar et coll., 1989; Huang et coll., 1997).

La densité de marquage par le radioligand se calcule à partir de l'image du marquage spécifique. Pour obtenir cette image, la coupe du marquage *total* est premièrement digitalisée (canal 1). Ensuite, on y superpose la coupe du marquage *non-spécifique* (canal 2). On soustrait ensuite la deuxième de la première, ce qui résulte en une image qui représente le marquage *spécifique* du radioligand à ses sites de liaison (canal 3). On utilise un outil d'échantillonnage qui ne couvre qu'une partie constante de la surface de la région ciblée (voir figure 8). En effet, il est préférable d'utiliser

Légende de la figure 8.

Schéma de l'échantillonnage radioautographique

- A- Coloration au violet de crésyl d'une coupe au niveau interaural 10.7 mm (Paxinos et Watson, 1997) qui a été utilisée pour la radioautographie. Cette coupe a été digitalisée au canal 4. Les cercles représentent l'apposition de l'outil d'échantillonnage utilisé pour faire la lecture de la densité de la radioliation dans les trois régions du cortex frontal, soit Fro I, Fro II-IV et Fro V-VI.
- B- Marquage spécifique avec le [³H]citalopram de la même coupe qu'en A, sur laquelle la lecture des valeurs de densité de marquage du ligand a été effectué par la technique de liaison des canaux, ou *channel linkage technique*. Cette image a été digitalisée au canal 3.
- L'échelle étalon indique les densités de liaison en femtomoles/ milligrammes de protéines (17-1344 fmol/mg * protéines).



un outil d'échantillonnage plus petit et effectuer ainsi plusieurs lectures sur une même région, que de ne prendre qu'une seule lecture de la surface totale (Reader et Strazielle, 1999).

La technique radioautographique permet une localisation des sites de liaison beaucoup plus précise que les techniques de liaison sur homogénats membranaires (Reader et Strazielle, 1999). De plus la quantification des densités de marquage peut aussi être réalisée sur des régions anatomiques très précises. La radioautographie quantitative comporte néanmoins certains inconvénients. Ainsi, la densité du marquage observée peut être expliquée par le nombre de sites de liaison et/ou leur capacité à fixer le ligand. En effet, toute régulation, qu'elle soit à la hausse ou à la baisse, peut aussi bien être dûe à un changement de la B_{max} , c'est à dire du nombre des sites de liaisons du ligand, qu'à une altération de la K_D , c'est à dire de l'affinité des sites de liaison pour le ligand. Pour déterminer laquelle de ces valeurs a été modifiée par un traitement pharmacologique, il faudrait procéder à des courbes de saturation sur homogénats de membranes. Comme la régulation de l'affinité d'un récepteur pour son ligand est un phénomène plutôt rare, les modifications de la densité de marquage traduisent généralement un changement au niveau du nombre total des sites de liaison. Il se pourrait aussi que la K_D et la B_{MAX} soient toutes deux modifiées par un traitement pharmacologique. De plus, cette technique ne nous donne aucune information directe sur l'état fonctionnel, ou l'activité du site de liaison. En effet, elle ne permet que la détermination statique de la distribution des sites de marquage.

5.2 Application Anatomique de la technique de radioautographie quantitative

La détermination des régions anatomiques échantillonnées est effectuée par comparaison de l'image digitalisée à celle d'un atlas stéréotaxique du rat (Zilles, 1985; Paxinos et Watson, 1997). La

superposition d'une lame colorée au violet de Crésyl dans le canal 4 à l'image digitalisée du marquage spécifique du canal 3, permet une grande précision de l'échantillonnage, en particulier pour la détermination de la lamination corticale et pour les mesures au niveau des noyaux du tronc cérébral (figure 8). Cette superposition permet à l'analyseur d'image de lire, avec une très grande précision sur le canal 3, les aires qui sont facilement repérables sur le canal 4 (*channel linkage technique*).

5.3 Les modèles animaux de dépression

Les animaux utilisés dans cette étude étaient des rat normaux et donc ne représentaient pas un modèle animal de la dépression. Il existe différents modèles de l'état dépressif chez les animaux, mais ces modèles ne représentent pas nécessairement la pathologie humaine. Une corrélation significative entre des événements stressants et le déclenchement d'une dépression majeure chez l'humain a été rapportée (Bidzinska, 1984). Cette observation a servi de rationnel pour tenter d'obtenir un modèle animal de dépression induite par l'anxiété. En effet, il semble que le stress induit des problèmes émotionnels et motivationnels chez l'animal comparables à ceux observés chez l'homme (Plaznik et Kostowski, 1991). Différents niveaux de stress produisent différentes altérations sur les systèmes monaminergiques. Ainsi, un stress mineur n'affecte pas les niveaux endogènes de noradrénaline puisque la synthèse de cette dernière est équivalente à son utilisation (Leonard, 1997). Par contre, lorsque qu'un animal est placé dans une situation stressante au cours de laquelle il n'a pas de contrôle (comportement de résignation acquise ou *learned helplessness*), les niveaux de noradrénaline sont diminués puisque le taux de synthèse de ce neurotransmetteur ne peut compenser le degré de son utilisation. Finalement, suite à un stress sévère sous lequel l'animal retient quand même un certain contrôle, les niveaux de noradrénaline sont légèrement augmentés (Leonard, 1997).

Il existe une légère différence entre le stress aigu et le stress chronique. Le stress chronique serait un meilleur modèle de la dépression. En effet, suite à un stress chronique, la synthèse de noradrénaline au niveau du Locus coeruleus est augmentée. De plus, le taux d'utilisation de ce neurotransmetteur est diminué, ce qui entraîne une augmentation nette de sa concentration cérébrale (Anisman et Skar, 1978). De plus le stress chronique semble induire une diminution des adrénocéphes β , une augmentation des adrénocéphes α_1 et α_2 , ainsi qu'une diminution de la réponse de l'AMP cyclique. Ces changements physiopathologiques évoquent ceux qui sont observés chez les patients souffrants de dépression majeure. Chez les animaux, il est intéressant de signaler que le stress chronique induit aussi des changements dans la structure cellulaire des neurones. Ainsi, on retrouve un bourgeonnement cellulaire, ou *sprouting*, au niveau du Locus coeruleus. Ce phénomène pourrait être relié à la diminution de la densité des récepteurs de type β dans cette région du cerveau. Des altérations similaires de la densité des récepteurs adrénergiques dans la structure neuronale, et dans l'activité de l'AMP cyclique sont aussi retrouvées suite à un traitement aux antidépresseurs (Racagni et coll., 1991; Wong et coll., 1991). Les modèles de stress chronique incluent le modèle de la nage forcée ("forced swim test") et le modèle du comportement de résignation acquise ("learned helplessness") (Martin et coll., 1990).

Un autre modèle animal de la dépression est la bulbectomie olfactive. Le bulbe olfactif est une importante structure faisant partie du système limbique, et il projette directement à l'amygdale. Ce modèle animal semble refléter certains changements neurologiques observés dans la dépression. Notamment, on observe une diminution du niveau de la noradrénaline dans l'amygdale et une augmentation de la densité des adrénocéphes α_2 et β . Enfin, ces anomalies disparaissent avec un traitement chronique aux antidépresseurs (Van Riezen et Leonard, 1991).

Récemment, un modèle de souris transgéniques présentant des anomalies au niveau des récepteurs glucocorticoïdes a été proposé (Barden, 1999). Ces animaux présentent des changements neuroendocriniens et comportementaux compatibles avec la pathologie humaine de la dépression, et antagonisés par les traitements aux antidépresseurs. Ce modèle appuie la théorie neuroendocrinienne d'un dérèglement de l'axe hypothalamo-pituitaire-surrénalien dans cette pathologie.

Dans notre étude, nous avons évalué les sites d'affinité de molécules antidépressives dont l'activité pharmacologique a déjà été démontrée et caractérisée aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Comme la physiopathologie des modèles prédictifs pour la dépression chez l'homme n'est point connue et encore moins normalisée, il eut été difficile d'interpréter toute modification dans la densité des sites de liaison. Il faut souligner qu'il est possible que les modifications au niveau des mesures neurochimiques trouvées sur des animaux normaux ne traduiront pas nécessairement un effet qualitatif ou quantitatif des antidépresseurs chez l'homme. Toutefois, notre étude pourrait contribuer à cibler les structures neurochimiques et les régions anatomiques où les antidépresseurs vont se lier.

5.4 Interactions des systèmes monaminergiques

Il est évident que les systèmes de neurotransmission n'agissent pas de façon indépendante; au contraire ils interagissent entre eux afin de se moduler mutuellement (Reader et Jasper, 1984; Montgomery et Grottick, 1999). En effet, les trois systèmes monoaminergiques sont anatomiquement et fonctionnellement interreliés, et même si ces trois systèmes ne sont pas directement impliqués dans le transfert d'informations sensorielles et motrices, on accepte généralement que tous trois sont responsables de la modulation de ces informations (Tassin et coll., 1998).

5.4.1 Interactions entre les systèmes sérotoninergique et noradrénergique

Une relation possible entre les systèmes sérotoninergique et noradrénergique a été souvent rapportée (Vetulani et Sulser, 1975; Taylor et coll., 1990; Feighner, 1999). En effet, les neurones noradrénergiques du Locus coeruleus projettent sur les neurones sérotoninergiques du noyau Raphe dorsalis (Baraban et Aghajanian, 1981; Aston-Jones et coll., 1986). Les neurones sérotoninergiques du Raphe projettent à leur tour au locus coeruleus (Léger et Descarries, 1978; Léger et coll., 1979). De plus, la sérotonine et la noradrénaline ont des effets biochimiques réciproques sur leur taux de rechange, ou *turnover rate* (Pujol et coll., 1978; McRae-Degueurce et coll., 1982; Agren et coll., 1987).

Aghajanian et ses collaborateurs ont été parmi les premiers à étudier, du point de vue électrophysiologique, les interactions entre ces deux systèmes de neurotransmission (Tassin et coll., 1998). Deux observations découlent de leurs études; 1. la première est que l'administration d'agonistes sérotoninergiques, comme la mescaline et le LSD, diminue la fréquence de décharge des neurones noradrénergiques du Locus coeruleus, et facilite l'activation de ces neurones par des stimuli périphériques (Aghajanian, 1980); et 2. ces auteurs ont aussi remarqué que les neurones noradrénergiques exercent une action excitatrice tonique sur les neurones sérotoninergiques. Cette action s'effectue par la stimulation des adrénocéphes α_1 du noyau raphé dorsal (Aghajanian, 1985). Plus récemment, d'autres chercheurs ont confirmé ces résultats; en effet, l'injection par voie systémique d'un agoniste 5-HT₂, le DOI, augmente la réponse des neurones noradrénergiques suite à un stimulus périphérique sensoriel mais diminue l'activité basale de ces neurones. De plus, ces effets ne sont pas le résultat d'une action directe sur les neurones noradrénergiques puisqu'ils disparaissent suite à l'injection locale de DOI (Chiang et Aston-Jones, 1993).

Gorea et ses collaborateurs ont proposé que la régulation de l'activité basale des neurones noradrénergiques du Locus coeruleus par les récepteurs 5-HT₂ impliquerait le noyau hypoglossal prépositus plutôt que le cortex préfrontal, qui contient pourtant une densité élevée de ces récepteurs sérotoninergiques (Gorea et coll., 1991). On ne peut toutefois pas exclure la possibilité que les récepteurs 5-HT₂ du cortex préfrontal pourraient contribuer à l'augmentation de la capacité de réagir des neurones noradrénergiques suite à un stimulus périphérique. En effet, le DOI est un puissant inhibiteur de l'activité des neurones du cortex préfrontal (Ashby et coll., 1990).

Il est intéressant de souligner que l'ampérozide, un antagoniste des récepteurs 5-HT₂, augmente le taux basal de décharge des neurones noradrénergiques du Locus coeruleus (Haskins et coll., 1987). Il est toutefois possible que ce phénomène soit médié par l'effet de ce médicament sur les cellules dopaminergiques (Grenhoff et coll., 1990), et par l'augmentation de la libération dopaminergique dans le cortex préfrontal induite par des antagonistes des 5-HT₂ (Nomikos et coll., 1994; Schmidt et Fadayel, 1995). Les récepteurs 5-HT₂ semblent donc jouer un rôle important dans la régulation de l'activité et la réactivité (*reactivity*) des neurones noradrénergiques du Locus coeruleus. Bien que le site exact de ces interactions n'ait pas encore été identifié, le cortex préfrontal semble être un bon candidat, du moins en ce qui concerne la réactivité des neurones noradrénergiques (Tassin et coll., 1998). Le fait que le blocage des récepteurs 5-HT₂ induise une augmentation de l'activité et une diminution de la capacité de réaction, autant pour les neurones noradrénergiques que dopaminergiques, suggère l'existence d'un mécanisme de régulation commun pour ces deux types de neurones catécholaminergiques.

Différentes études ont examiné le rôle des adrénocéphes $\alpha 1$ et $\alpha 2$, et des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} (Baraban et Aghajanian, 1980; Manier et coll., 1987; Artigas et coll.,

1994; Rouquier et coll., 1994; Potter, 1996). Cependant, il est difficile d'expliquer ces interactions sérotoninergiques et noradrénergiques complexes, aucun modèle ne justifiant toutes les observations recueillies (Potter, 1996).

5.4.2 Interactions entre les systèmes sérotoninergiques et dopaminergiques

Les neurones sérotoninergiques projettent sur les cellules dopaminergiques de la substance noire et du striatum (Pasquier et coll., 1976), et modulent le taux de rechange dopaminergique (Fuenmayer et Bermudez, 1985). Les récepteurs dopaminergiques localisés sur les terminaisons sérotoninergiques de la substantia nigra diminuent la libération de sérotonine (Benkirane et coll., 1987). Chez le rat et le chien, les niveaux de sérotonine peuvent être corrélés de manière positive avec ceux de dopamine. De plus, les niveaux de leurs métabolites respectifs, soit l'acide 5-hydroxyindole acétique et l'acide homovanillique, démontrent une corrélation similaire à celle de leurs composés-mère dans plusieurs régions du cerveau (Agren et coll., 1986).

Les neurones dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale projettent vers plusieurs structures telles le noyau accumbens, le septum latéral et l'amygdale. Ils reçoivent aussi des afférences convergentes de plusieurs régions du cerveau et notamment du noyau raphé dorsal (Phillipson, 1979; Steinbusch, 1981). On trouve aussi de la sérotonine endogène, ainsi que des synapses qui sont modulées par la sérotonine lors de techniques d'immunolocalisation dans l'aire tegmentaire ventrale (Saavedra, 1977; Hervé et coll., 1987). Ces connections anatomiques sont à la base des interactions de ces deux systèmes (Montgomery et Grottick, 1999). Il semble y avoir une relation inhibitrice entre l'activité sérotoninergique et le fonctionnement du système dopaminergique (Weiner, 1973; Conrad et coll., 1974; Dray et coll., 1978; Waldmeier et Delini-Stula, 1979; Montgomery et Grottick,

1999).

Pessia et ses collaborateurs ont observé *in vitro* que la sérotonine, en stimulant pharmacologiquement les récepteurs 5-HT₂, augmente le taux de décharge de nombreuses cellules dopaminergiques situées dans l'aire tegmentaire ventrale (Pessia et coll., 1994). Par contre, il faut noter que des changements indirects du taux de décharge des neurones dopaminergiques peuvent découler de l'inhibition ou de l'excitation locales d'interneurones GABAergiques par la sérotonine (Pessia et coll., 1994). D'autres chercheurs ont rapporté que l'administration de ritansérine, un antagoniste des récepteurs 5-HT₂, par voie intraveineuse augmente le taux de décharge des neurones dopaminergiques (Ugedo et coll., 1989). Ce désaccord apparent entre les effets des agonistes et des antagonistes 5-HT₂, qui augmentent tous deux le taux de décharge des cellules dopaminergiques, démontre la complexité du système. En effet, il est probable que des circuits neuronaux différents soient activés par l'injection systémique d'une substance pharmacologique, et ces différents systèmes pourraient se moduler réciproquement (Tassin et coll., 1998).

Chez la souris, l'hyperactivité locomotrice déclenchée par l'amphétamine peut être bloquée par l'administration intrapéritonéale d'antagonistes 5-HT_{2A} comme l'ampérozide et le MDL 100,907 (Sorensen et coll., 1993). L'ampérozide a une plus grande affinité (K_i = 26 nM) pour les récepteurs 5-HT₂ que pour tous les autres récepteurs monoaminergiques (Haskins et coll., 1987). Le MDL 100,907 est un antagoniste très puissant des récepteurs 5-HT_{2A} (K_i = 0.36 nM) (Haskins et coll., 1987). L'hyperactivité locomotrice induite par l'amphétamine serait le résultat d'une relâche accrue de dopamine dans le noyau accumbens. Le blocage des récepteurs 5-HT_{2A} par l'injection systémique d'ampérozide inhibe cette réponse à l'amphétamine (Ichiwaka et Meltzer, 1992). Cet effet de l'ampérozide sur la relâche dopaminergique semble être encore plus importante au niveau du cortex

préfrontal qu'au niveau du noyau accumbens (Pehek et coll., 1993; Nomikos et coll., 1994). Le MDL 100,907 augmente aussi la relâche de dopamine au niveau du cortex préfrontal (Schmidt et Fadayel, 1995).

Bien que la D-amphétamine augmente la libération de dopamine dans le noyau accumbens, elle réduit le taux de décharge des neurones dopaminergiques dans l'aire tegmentale ventrale (Wang, 1981), en agissant probablement comme agoniste partiel des récepteurs dopaminergiques présynaptiques de type D₂. Néanmoins, certains antagonistes 5-HT₂, comme le MDL 100,907, peuvent bloquer cet effet déresseur (Sorensen et coll., 1993). Si l'on adhère à l'hypothèse que les antagonistes 5-HT₂ ont un effet indirect sur les terminaisons présynaptiques dopaminergiques, il est possible que l'augmentation de l'activité neuronale soit associée à une diminution de la libération du neurotransmetteur (Tassin et coll., 1998).

La revue actuelle de la littérature sur les interactions entre les systèmes sérotoninergique et dopaminergique suggère que les neurones sérotoninergiques exercent un contrôle sur les cellules dopaminergiques qui est à la fois direct et indirect, excitateur et inhibiteur. Il est possible que les récepteurs 5-HT₂ modulent l'activité des neurones dopaminergiques à travers des circuits indirects (Tassin et coll., 1998). La stimulation de ces récepteurs sérotoninergiques pourrait ainsi contribuer à l'efficacité de la libération dopaminergique dans les structure sous-corticales, comme le noyau accumbens. Il est aussi possible que les neurones noradrénergiques, à leur tour, contribuent à former un lien entre les cellules dopaminergiques et sérotoninergiques (Tassin et coll., 1998).

5.4.3 Interactions entre les systèmes noradrénergiques et dopaminergiques

Il est intéressant de souligner que bien que les neurones noradrénergiques projettent vers la plupart des régions du cerveau, le système nigrostrié dopaminergique ne semble pas recevoir de connexions noradrénergiques directes (Tassin et coll., 1998). En effet, aucune fibre noradrénergique n'est localisée dans la partie ventrale compacte de la substance noire (Swanson et Hartman, 1975; Gaspar et coll., 1992), et le striatum ne reçoit aucune projection du Locus coeruleus (Room et coll., 1981) ni aucune terminaison noradrénergique chez le rat (Swanson et Hartman, 1975) et le primate (Gaspar et coll., 1985). Par contre, l'aire ventrale tegmentaire reçoit des projections noradrénergiques. Il faut toutefois souligner qu'aucune étude ultrastructurale n'a encore été effectuée afin de vérifier s'il s'agit de connexions directes ou indirectes (Swanson et Hartman, 1975; Simon et coll., 1979; Gaspar et coll., 1992). Il existe un réseau de terminaisons noradrénergiques au niveau des structures-cibles du système dopaminergique, soit le noyau accumbens, les noyaux du septum, l'amygdale, et le cortex cérébral. Par contre il n'existe aucune superposition complète entre les systèmes noradrénergique et dopaminergique (Tassin et coll., 1998). Ainsi, les réseaux de projections noradrénergiques et dopaminergiques semblent innervier des sous-noyaux différents au niveau de l'amygdale (Sadikot et Parent, 1990), du septum et du noyau du lit de la strie terminale, ou *bed nucleus of the stria terminalis* (Lindvall et Stenevi, 1978; Gaspar et coll., 1985).

Plusieurs études ont été effectuées afin de caractériser les interactions de ces deux systèmes catécholaminergiques au niveau de l'aire tegmentaire ventrale. Ainsi, Hervé et ses collaborateurs, en utilisant du 6-OHDA, ont effectué une lésion spécifique de la voie ascendante noradrénergique se terminant dans cette région (Hervé et coll., 1982). Ce type de lésion n'affecte pas l'innervation noradrénergique du cortex cérébral. Sept jours après l'injection du 6-OHDA, ces auteurs ont noté

que le rapport DOPAC/DA diminuait de 38% dans le cortex préfrontal, mais ne variait pas dans le noyau accumbens. Ces résultats suggèrent que les neurones noradrénergiques exercent un contrôle excitateur tonique et spécifique sur les neurones dopaminergiques mésocorticaux. Ces résultats sont de plus appuyés par une étude de microdialyse, effectuée sur des animaux éveillés (Gillibert, 1994). En effet Gillibert a trouvé une corrélation positive entre les niveaux extracellulaires de la noradrénaline du cortex préfrontal et ceux de la dopamine du le cortex cérébral.

Des études électrophysiologiques ont montré que la prazosine, un antagoniste des adrénocéphes α_1 diminuait les décharges en bouffées des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale (Grenhoff et Svensson, 1993). Cependant comme la prazosine fut administrée par voie intraveineuse; on ne peut exclure la possibilité que la modulation des neurones dopaminergiques soit causée par le blocage des récepteurs α_1 localisés hors de l'aire tegmentaire ventrale. Pan et ses collègues ont montré que l'administration d'amphétamine dans l'aire tegmentaire ventrale de rats anesthésiés, augmentait la libération de dopamine au niveau du noyau accumbens et du cortex préfrontal (Pan et coll., 1996). Ces études semblent donc indiquer l'existence d'une action excitatrice tonique, par les récepteurs α_1 , sur les neurones dopaminergiques mésocorticaux.

Il est possible qu'il existe aussi des interactions entre ces deux systèmes catécholaminergiques au niveau du cortex préfrontal. En effet, Tassin et ses collaborateurs ont observé que la destruction spécifique, par injection de 6-OHDA, de la voie ascendante noradrénergique, semblait induire un bourgeonnement collatéral, ou *collateral sprouting*, au niveau des neurones dopaminergiques mésocorticaux (Tassin et coll., 1979).

Des altérations au niveau du système noradrénergique peuvent altérer des comportements médiés par le système dopaminergique (Antelman et Caggiula, 1977).

5.4.4 La maladie dépressive et les interactions entre les trois systèmes monoaminergiques

Plusieurs auteurs ont déjà postulé que la dépression, ainsi que la réponse thérapeutique au traitement aux antidépresseurs impliquerait l'interaction de plusieurs systèmes de neurotransmission (Hsiao et coll., 1987). En effet, l'hypothèse de Prange propose que des anomalies au niveau des systèmes noradrénergique et sérotoninergique soient à la base de l'étiopathologie de cette maladie (Prange et coll., 1974). Antelman et Caggiula ont proposé que ce serait un dérèglement entre les systèmes dopaminergique et noradrénergique qui serait à l'origine cette pathologie (Antelman et Caggiula, 1977).

Les substances pharmacologiques qui agissent exclusivement sur le système sérotoninergique ont des effets modulateurs sur les système noradrénergiques et dopaminergiques (Feighner, 1999). Plusieurs études ont observé que la communication entre les récepteurs sérotoninergiques et noradrénergiques était augmentée suite à l'activation de la protéine kinase (Popoli et coll., 1995; Nibuya et coll., 1996). Les médicaments qui agissent sur ces deux systèmes concurremment, comme la venlafaxine, pourraient donc potentialiser les événements en cascade, ce qui devrait accroître la qualité de la réponse thérapeutique et en diminuer le délai (Derivan et coll., 1995).

Une étude a observé qu'il existait une différence au niveau des corrélations monoaminergiques entre les patients répondant bien à un traitement pharmacologique aux SSRI et les patients résistants à ce type de thérapie (Hsiao et coll., 1987). Ces auteurs proposent que chez les patients résistants, les changements normalement induits par les antidépresseurs soient freinés par un découplage des systèmes monoaminergiques. Il est donc probable que les relations entre les trois systèmes monoaminergiques pourraient être aussi, sinon plus, importants que le niveau d'activité des systèmes individuels. Chez l'humain, Geraciotti et ses collaborateurs n'ont pas observé de différence entre des

patients souffrant de dépression majeure et des témoins sains dans les niveaux céphalorachidiens de tryptophane, de noradrénaline, d'acide 5-hydroxyindole acétique, ou de 3-méthoxy-4-hydroxy-phénylglycol, qui est le métabolite principal de la noradrénaline (Geraciotti et coll., 1997). Ils ont par contre observé une corrélation négative et linéaire entre les concentrations moyennes d'acide 5-hydroxyindole acétique et de noradrénaline dans le liquide céphalo-rachidien des témoins sains, alors que cette relation n'était pas présente chez les malades. Ces auteurs proposent que c'est le dérèglement dans la relation entre les systèmes sérotoninergique et noradrénergique qui entraînerait la pathologie dépressive.

Il est possible que les monoamines ne régulent pas directement l'humeur, mais il est certain que ces amines biogènes jouent un rôle critique dans la génération et le maintien de la réponse aux antidépresseurs. En effet, on peut provoquer une rechute de la maladie chez des patients en rémission, en diminuant le niveau endogène de ces neurotransmetteurs (Delgado et coll., 1993; Miller et coll., 1996a,b) De plus, on peut aussi induire une rechute chez des patients en rémission qui ne prennent plus d'antidépresseurs suite à un traitement pharmacologique réussi, une lumbinothérapie, ou *light therapy*, ou une rémission spontanée (Miller et coll., 1996b; Berman et coll., 1999). Finalement, tous les antidépresseurs efficaces, connus à ce jour, induisent des changements dans le métabolisme des récepteurs monoaminergiques et dans les niveaux de ces neurotransmetteurs chez des animaux de laboratoire sains (Heninger et coll., 1996). Ces données suggèrent que les systèmes monoaminergiques sont nécessairement, mais non exclusivement, impliqués dans la réponse thérapeutique aux antidépresseurs. D'après ce raisonnement l'interaction des systèmes monoaminergiques avec d'autres systèmes neurobiologiques serait nécessaire pour expliquer l'efficacité clinique des antidépresseurs (Heninger et coll., 1996).

5.4.5 Discussion des résultats en fonction des interactions monoaminergiques

Plusieurs études (Jordan et coll., 1994; Hughes et Stanford, 1996; Tassin et coll., 1998) ont rapporté que la fluoxétine a un effet plus prononcé sur la transmission noradrénergique que sur la transmission sérotoninergique. Ce phénomène paradoxal pourrait être expliqué par la plus grande sensibilité des neurones noradrénergiques aux stimuli externes. En effet, une légère modification du système de recapture sérotoninergique entraîne des modifications importantes sur les niveaux extracellulaires de la noradrénaline (Aston-Jones et Bloom, 1981). Ce phénomène ne reflète pas nécessairement un effet direct de la fluoxétine sur le système de recapture noradrénergique. En effet, la fluoxétine pourrait bloquer d'autres récepteurs, tels les récepteurs nicotiques (Garcia-Collunga et coll., 1997) ou les récepteurs 5-HT_{2C} (Ni et Miledi, 1997) qui modèleraient la libération de la noradrénaline. De plus, l'élévation des niveaux de sérotonine extracellulaire, induite par un traitement aux SSRI, pourrait moduler la libération de noradrénaline, soit localement (Blandina et coll., 1991) ou indirectement par stimulation des récepteurs 5-HT₂ qui à leur tour stimuleraient les neurones noradrénergiques du Locus coeruleus (Chiang et Aston-Jones, 1993). D'autre part, on a observé que, chez des patients déprimés traités aux NARI, il y avait une augmentation importante de la libération de cortisol médiée par la sérotonine, ou *5-HT mediated cortisol response*, suite à l'administration de la d-fenfluramine (Cleare et coll., 1997). Une interprétation possible de ce fait clinique est que les aspects neuroendocrinologiques impliquant la sérotonine seraient indépendants de l'humeur et/ou de la dépression.

5.5 Remise en question des théories sérotoninergiques et noradrénergiques de la dépression

Le mécanisme d'action par lequel les antidépresseurs régulent l'affect demeure, encore à ce

jour, inconnu. Certaines hypothèses peuvent néanmoins être postulées. Ainsi, les systèmes noradrénergiques et sérotoninergiques sont certainement impliqués. Cependant, il n'est pas certain que l'augmentation de ces neurotransmissions, par le blocage de leur transporteurs, soit responsable de leur efficacité thérapeutique. Il est intéressant de mentionner que la tianeptine, un antidépresseur cliniquement efficace et présentement utilisé en France, augmente la recapture sérotoninergique (Guelfi et coll., 1989; Fattacini et coll., 1990), ce qui va à l'encontre des théories actuelles de l'étiopathologie de la dépression.

Les traitements non-pharmacologiques de la dépression tels que la privation de sommeil (Schliger et Tolle, 1980), la thérapie d'avancement des rythmes circadiens, ou *phase advance therapy* (Wehr et coll., 1979), et les thérapies psychologiques (Frank et coll., 1990) sont souvent cliniquement efficaces. Par contre, il n'existe aucune évidence physiologique qu'elles agissent sur les systèmes noradrénergiques et sérotoninergiques.

Il se pourrait que les modifications observées sur les systèmes noradrénergiques et sérotoninergiques représentent un effet non spécifique à l'activité antidépressive de ces molécules. En effet, ces substances pharmacologiques pourraient agir directement sur un troisième système (Charney, 1998), à savoir le système dopaminergique, la substance P, ou des récepteurs glucocorticoïdes. Cette action indirecte pourrait se faire soit directement sur des récepteurs d'un autre système de neurotransmission, soit sur des mécanismes intracellulaires en influençant les facteurs de transcription, de croissance ou l'expression des gènes.

En effet, certains antidépresseurs ont montré une activité pharmacologique principale sur le système dopaminergique et se sont révélés être des antidépresseurs efficaces. La bromocriptine (Theohar et coll., 1982) et le piribedil (Post et coll., 1978) sont deux agonistes sur des récepteurs

dopaminergiques. Le bupropion (Ascher, 1995; Frazer, 1997) agit aussi principalement sur le système dopaminergique. Ce médicament, sous l'appellation de Zyban™, a récemment trouvé une nouvelle application dans le traitement du tabagisme (Hughes et coll., 1999; Raymond et coll., 1999). Il est aussi intéressant de souligner que les neuroleptiques, ou agents antipsychotiques, peuvent aussi être utilisés, à faibles doses, comme antidépresseurs (Robertson et Trimble, 1982). Il faut toutefois noter qu'ils sont rarement utilisés à cette fin à cause de leurs effets indésirables. Il est connu que les médicaments antipsychotiques atypiques augmentent la relâche de dopamine dans le système mésocortical (Ichikawa et Meltzer, 1990a) et maintiennent l'activité dopaminergique dans les systèmes mésocortical et nigrostriatal en présence d'apomorphine (Ichikawa et Meltzer, 1990b); cette action sur le système dopaminergique pourrait sous-tendre leur action antidépressive.

Le système neuronal peptidergique qui utilise la substance P comme neurotransmetteur pourrait aussi affecter la transmission synaptique dans les troubles affectifs (Fuxe et coll., 1983). En effet, une étude récente suggère que des antagonistes des récepteurs spécifiques à ce neurotransmetteur sont efficaces dans le traitement de la dépression (Kramer et coll., 1998). Il a été rapporté que le traitement chronique à la fluoxétine n'influence pas les niveaux de substance P dans le liquide céphalo-rachidien de malades déprimés (Martensson et coll., 1989). Par contre, on a rapporté qu'un traitement chronique à la trimipramine augmente la sensibilité des neurones du cortex cingulaire à la substance P (Jones et Olpe, 1984).

Il a été suggéré que la dépression puisse être causée par un dérèglement des systèmes de seconds messagers. Plusieurs études ont rapporté que les antidépresseurs de différentes classes pharmacologiques, avaient le même effet sur ces systèmes de signalisation intracellulaire, en particulier ceux dépendants de l'AMP cyclique (Nomura et coll., 1987; Nestler et coll., 1989; Nibuya

et coll., 1996). Il existe au moins cinq étapes entre l'activation des récepteurs monoaminergiques et l'hydrolyse de l'AMP cyclique par la phosphodiesterase. Chacune de ces étapes pourrait donc subir à une régulation par les antidépresseurs. D'après Watchel (1989) le système de l'adénylate cyclase serait sous-activé alors que celui de la protéine kinase C serait suractivé dans l'état dépressif. Ce déséquilibre entre les deux systèmes de seconds messagers jouerait un rôle dans la pathologie de la dépression.

Certaines études ont rapporté que les antidépresseurs influencent un des facteurs trophiques du cerveau, notamment le *Brain Derived Neurotrophic Factor*, ou BDNF (Nibuya et coll., 1995, 1996). En effet, une étude a observé que le stress réduit les niveaux de synthèse du BDNF dans la région hippocampale CA3. On a proposé que cette réduction pourrait contribuer à la perte d'épines dendritiques ce qui entraînerait une vulnérabilité accrue de ces neurones (Duman et coll., 1997). De plus, les traitements chroniques aux antidépresseurs et l'électroconvulsivothérapie augmentent l'expression de BDNF dans les régions hippocampales.

Il a aussi été suggéré que les antidépresseurs pourraient avoir une action sur des structures intracellulaires. D'après Brunello et ses collègues (1990), le traitement chronique à la fluoxétine, l'oxaprotiline et les tricycliques classiques, activerait la protéine kinase II, ce qui à long terme affecterait les microtubules et modifierait ainsi le transport axonal. Ce mécanisme d'action s'effectuerait par un système de phosphorylation dépendant de l'AMP cyclique (Racagni et coll., 1992). Le décours temporel de cet effet est en accord avec le délai thérapeutique des antidépresseurs. De plus l'atteinte des microtubules semble être dépendante de la dose. Racagni et ses collègues proposent que l'efficacité à fortes doses de la fluoxétine soit liée à une altération du transport axonal. Cette hypothèse permettrait alors le caractère ubiquitaire de cette molécule capable de contrôler

partiellement l'anorexie et les troubles obsessifs-compulsifs.

Le système GABAergique a aussi été suggéré comme cible d'action des antidépresseurs. Cette implication découle de trois observations. Premièrement, il existe une diminution de ce neurotransmetteur dans plusieurs tissus des patients déprimés. Par ailleurs, le niveau de GABA dans le liquide céphalo-rachidien chez ces mêmes patients est significativement plus bas que celui des sujets contrôles. Finalement, l'activité de la décarboxylase de l'acide glutamique, l'enzyme qui est responsable de la synthèse du GABA, est diminuée de 40 % dans le cortex frontal de patients déprimés (Lloyd et coll., 1989, 1990; Shiah et Yatman, 1998). Il est intéressant de noter que les médicaments anticonvulsivants, comme la carbamazépine et le valproate, ont une action antidépressive, mais leur efficacité est moindre que celle des tricycliques (Post, 1982; Calabrese et coll., 1990).

Il faut souligner que la *S*-adénosyl-méthionine, ou SAME, a une action antidépressive (Agnoli et coll., 1976; Rosenbaum et coll., 1990). Cette substance cérébrale, en libérant des groupements méthylés, interfère avec plusieurs voies métaboliques. Il est possible d'augmenter la concentration cérébrale de SAME par voie orale. De plus, son efficacité thérapeutique semble être de 7 jours lorsqu'elle est administrée parentéralement (Fava et coll., 1995).

L'axe hypothalamo-pituitaire-surrénal a aussi été impliqué dans la dépression. En effet, des anomalies au niveau de cet axe ont été parmi les premières observations de dérèglements biologiques dans cette pathologie (Rothschild et coll., 1993; Nemeroff, 1996; Young et Vasquez, 1996). En effet entre le tiers et la moitié des patients déprimés démontrent une hyperactivité de cet axe. De plus la dexaméthasone ne réduit pas le niveau de glucocorticoïdes chez les patients comme elle le fait chez les sujets normaux. Ce phénomène de suractivation est en accord avec l'observation qu'une

exposition excessive au stress, ou une réponse excessive au stress quotidien semble jouer un rôle dans l'étiopathologie de la dépression (Heim et coll., 1997). Plus récemment, le modèle de souris transgéniques présentant des anomalies des récepteurs glucocorticoïdes semble refléter, du moins sur un plan comportemental et neuroendocrinien, les signes de la dépression (Barden, 1999).

Le facteur de relâche de la corticotropin (CRF) a aussi été considéré. Les compagnies pharmaceutiques ont développé plusieurs antagonistes de ce facteur dans l'espoir de trouver une nouvelle classe d'antidépresseurs (Nemeroff, 1998). De plus, certains antagonistes de la synthèse stéroïdienne, comme la métyrapone, ou des récepteurs glucocorticoïdes, comme le RU489, pourraient avoir une efficacité dans le traitement de la dépression (Wolkowitz et coll., 1993; Thakore et Dinan, 1995; Ghadirian et coll., 1995). Une approche pharmacologique éventuelle serait de cibler les protéines "chaperones" qui lient et séquestrent habituellement les récepteurs glucocorticoïdes dans le cytoplasme, ou qui interfèrent avec leur capacité de liaison à l'ADN pour activer certains gènes (Caamano et coll., 1995).

5.6 Hétérogénéité de la réponse thérapeutique

Il est important de souligner que tous les patients souffrant de dépression ne réagissent pas de la même façon aux traitements antidépresseurs. Ainsi de 20 à 40 % des malades ne montrent aucune amélioration suite à un traitement aux SSRI (Ontiveros et coll., 1991; Nemeroff, 1998). De plus, certains types de dépression, comme la dysthymie, semblent être plus réfractaires que d'autres (Meltzer, 1991). Le lithium semble augmenter l'efficacité de la fluoxétine et de la désipramine dans certains cas réfractaires (Ontiveros et coll., 1991). Il a été rapporté que l'addition du pindolol, un

antagoniste des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{2A/C}, potentialiserait l'effet des SSRI lors de dépressions réfractaires et réduirait le délai thérapeutique (Nelson, 1998; Maes et coll., 1999). L'addition de la miansérine semble produire le même effet (Maes et coll., 1998). Il faut toutefois signaler l'incidence d'effets indésirables sérieux, notamment le syndrome de la sérotonine centrale (*central serotonin syndrome*) lors d'utilisation conjointe de SSRI et de lithium. Par contre, la thérapie d'augmentation au pindolol ne semble pas produire ces effets néfastes (Schweitzer et Tuckwell, 1998).

Récemment, on a observé des polymorphismes dans le gène codant le transporteur sérotoninergique humain. Ces polymorphismes semblent être responsables d'une susceptibilité accrue à l'anxiété (Lesch et coll., 1996), à la dépression (Collier et coll., 1996a; Flattem et coll., 1997) et à l'autisme (Cook et coll., 1997). Ces polymorphismes pourraient aussi expliquer l'hétérogénéité de la réponse thérapeutique. Ainsi une étude a observé que l'efficacité de la fluvoxamine dans le traitement de la dépression délusionnelle était reliée au génotype allélique du promoteur du gène codant pour le site de recapture sérotoninergique (Smeraldi et coll., 1998). Il existe deux polymorphismes du gène codant pour le site de recapture sérotoninergique. La première région polymorphique décrite fut une répétition en tandem de nombre variable (*variable number tandem repeat*, ou VNTR) dans le deuxième intron de ce gène (Lesch et coll., 1994). Des variations alléliques de cette région ont été associées à la dépression majeure (Ogilvie et coll., 1996) et à la psychose maniaco-dépressive (Battersby et coll., 1996) dans une population écossaise. Il faut toutefois souligner que ces résultats n'ont pas été retrouvés dans des populations japonaise (Kunugi et coll., 1996) et allemande (Stober et coll., 1996). Néanmoins, des études plus récentes semblent appuyer l'observation originale d'Ogilvie et ses collaborateurs (Collier et coll., 1996a, 1996b). On ne sait pas

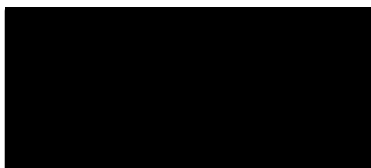
si les variations alléliques dans cette région influencent directement ou indirectement l'expression du transporteur sérotoninergique (Ogilvie et Harmar, 1997).

Le deuxième polymorphisme est celui du site promoteur du transporteur sérotoninergique (Heils et coll., 1996). Il existe deux variantes communes de ce polymorphisme une forme longue et une forme courte. La variante courte semble réduire le niveau d'ARN messager du gène, ainsi que la capacité de recapture sérotoninergique du transporteur (Lesch et coll., 1996). Il existe une corrélation entre le nombre d'allèles courtes et cette diminution de capacité de recapture. Une étude a rapporté que cette variante courte est plus fréquente chez les patients souffrant de troubles affectifs (Collier et coll., 1996c). Des études récentes ont aussi trouvé une corrélation entre ce polymorphisme et les traits de personnalité reliés à l'anxiété, en particulier le "neurotisme" (Kumakiri et coll., 1999; Murakami et coll., 1999). Ce polymorphisme pourrait expliquer la prédisposition de ces personnes aux maladies affectives (Jardine et coll., 1984; Mazzanti et coll., 1998).

Le développement de la pharmacogénétique, par l'élaboration de traitements pharmacologiques adaptés au génotype du malade, ouvre une perspective thérapeutique considérable pour la thérapie chimique des troubles affectifs majeurs. Les études sur la dépression et son traitement pharmacologique ont impliqué plusieurs systèmes de neurotransmission. Une meilleure compréhension du fonctionnement cérébral normal semble nécessaire à la résolution des états pathologiques.

Annexe

J'autorise Mademoiselle Caroline Hébert à utiliser l'article intitulé "Effects of chronic antidepressant treatments on 5-HT and NA transporters in rat brain: an autoradiographic study", soumis à la revue *Biological Psychiatry*, et dont je suis co-auteur, pour son mémoire de maîtrise intitulé "Effets de traitements aux antidépresseurs sur les transporteurs sérotoninergiques et noradrénergiques chez le rat: une étude radioautographique".



Dr. Tomás A. Reader

Le 17 mai 1999

Date



Dr. Robert Élie

17 Mai 1999

Date



Mlle. Angelina Habimana

16 mai 1999

Date

Renseignements concernant l'article

L'article intitulé "*Effects of chronic antidepressant treatments on 5-HT and NA transporters in rat brain: an autoradiographic study*" a été soumis à la revue scientifique *Neurochemistry International*. Nous sommes présentement en attente d'une décision de la part des éditeurs.

J'ai collaboré, avec Mademoiselle Angéline Habimana, à l'administration quotidienne, par injections intrapéritonéennes, des substances pharmacologiques étudiées, chez les rats. J'ai prélevé les cerveaux, effectué les coupes histologiques à l'aide d'un cryostat, incubé les lames, développé et analysé les films radioautographiques. J'ai procédé aux analyses statistiques des données sous la supervision du Dr Robert Élie. J'ai rédigé le manuscrit sous la supervision du Dr Tomás Reader.

Références

References

- Abel JJ, Crawford AC (1897) On the blood-pressure raising constituent of the suprarenal capsule. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **8**: 151-156.
- Aghajanian GK (1980) Mescaline and LSD facilitate the activation of locus coeruleus neurons by peripheral stimuli. *Brain Res.* **186**: 492-498.
- Aghajanian GK (1985) Modulation of a transient outward current in serotonergic neurones by α_1 -adrenoceptors. *Nature* **315**: 501-503.
- Agnoli A, Andreoli V, Casacchia M, Cerbo R (1976) Effects of S-adenosyl-L-methionine (SAMe) upon depressive symptoms. *J. Psychiatr. Res.* **13**: 43-54.
- Agren H, Mefford IN, Rudorfer MV, Linnoila M, Potter Wz (1986) Interacting neurotransmitter systems: A non-experimental approach to the 5-HIAA-HVA correlation in humans. *J. Psychiatry Res.* **20**: 175-193.
- Agren H, Koulu M, Saavedra JM, Potter WZ, Linnoila M (1987) Circadian covariation of norepinephrine and serotonin in the locus coeruleus and dorsal raphe nucleus in the rat. *Brain Res.* **397**: 353-358.
- Alpers HS, Himwich HE (1969) An in vitro study of effects of tricyclic antidepressant drugs on the accumulation of C-14 serotonin by the rabbit brain. *Biol. Psychiatry* **1**: 81-85.
- Amara SG, Kuhar MJ (1993) Neurotransmitter transporters: recent progress. *Annu. Rev. Neuroscience* **16**: 73-93.
- Andree TH, Mikuni M, Tong CY, Koenig JI, Meltzer HY (1986) Differential effect of subchronic treatment with various neuroleptic agents on serotonin₂ receptors in rat cerebral cortex. *J. Neurochem.* **46**: 191-197.

- Anisman H, Sklar LS (1978) Catecholamine depletion upon re-exposure to stress: mediation of the escape deficits produced by inescapable shock. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **93**: 610-617.
- Antelman SM, Caggiula AR (1977) Norepinephrine-dopamine interactions and behavior. *Science* **195**: 646-653.
- Ariënz EJ, Beld AJ, Rodriguez de Miranda JF, Simonis AM (1979) *The pharmacon-receptor-effector concept. A basis for understanding the transmission of information in biological systems.* Dans: *The receptors. A comprehensive treatise.* Ed. O'Brien RD. Vol. 1 Plenum Press: New York. pp 33-91.
- Arranz B, Marcusson J (1994) [³H]Paroxetine and [³H]citalopram as markers of the human brain 5-HT uptake site: a comparison study. *J. Neural Transm.* **97**: 27-40.
- Artigas F, Perez V, Alvarez E (1994) Pindolol induces a rapid improvement of depressed patients treated with serotonin reuptake inhibitors. *Arch. Gen. Psychiatry* **51**: 248-251.
- Asberg M, Traskman L, Thoren P (1976a) 5-HIAA in the cerebrospinal fluid: a biochemical suicide predictor? *Arch. Gen. Psychiatry* **33**: 1193-1197.
- Asberg M, Thoren P, Traskman L, Bertilsson L et Ringberger V (1976b) Serotonin depression: a biochemical subgroup within the affective disorders. *Science* **191**: 478-480.
- Ascher JA, Cole JO, Colin J-N, Feighner JP, Ferris RM., Fibiger HC, Golden RN, Martin P, Potter WZ, Richelson E, Sulser F (1995) Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity. *J. Clin. Psychiatry* **56**: 395-401.
- Ase AR, Amdiss F, Hébert C, Huang N, van Gelder NM, Reader TA (1999) Effects of antipsychotic drugs on dopamine and serotonin contents and metabolites, dopamine and serotonin transporters, and serotonin_{1A} receptors. *J. Neural Transm.* **106**: 75-105.

- Asero B, Colò V, Ersprammer V, Versollone A (1952) Synthese des enteramines (5-oxytryptamin). *Liebigs. Ann. Chem.* **576**: 69.
- Ashby CR Jr, Jiang LH, Kasser RJ, Wang RY (1990) Electrophysiological characterization of 5-hydroxytryptamine₂ receptors in the rat medial prefrontal cortex. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **252**: 171-178.
- Ashton-Jones G, Bloom F (1981) Norepinephrine containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to the non-noxious environmental stimuli. *J. Neurosci.* **1**: 887-900.
- Aston-Jones G, Ennis M, Pieribone VA, Nickell WT, Shipley MT (1986) The brain nucleus Locus coeruleus: Restricted afferent controls of a broad efferent network. *Science* **234**: 734-737.
- Axelrod J, Weil-Malherbe H, Tomchick R (1959) The physiological disposition of ³H-epinephrine and its metabolite metanephrine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **127**: 251-256.
- Axelrod J (1971) Noradrenaline: fate and control of its biosynthesis. *Science* **173**: 598-606.
- Axelrod J (1988) An unexpected life in research. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **28**: 1-23.
- Bacq ZM, Fischer P, Ghiretti F (1952) Action de la 5-hydroxytryptamine chez les céphalopodes. *Arch. Int. Physiol.* **60**: 165-171.
- Banerjee SP, Kung LS, Riggi SJ, Chanda SK (1977) Development of beta-adrenergic receptor subsensitivity by antidepressants. *Nature* **268**: 455-456.
- Baraban JM, Aghajanian GK (1980) Suppression of firing activity of 5-HT neurons in the dorsal raphe by alpha-adrenoceptor antagonist. *Neuropharmacol.* **66**: 287-294.
- Baraban JM, Aghajanian GK (1981) Noradrenergic innervation of serotonergic neurons in the dorsal raphe: demonstration by electron microscopic autoradiography. *Brain Res.* **204**: 1-11.

- Barden N (1999) Regulation of corticosteroid receptor gene expression in depression and antidepressant action. *J. Psychiatry Neurosci.* **24**: 25-39.
- Barnard EA (1979) Visualization and counting of receptors at the light and electron microscopic levels. Dans *The Receptors I*. Edr. O'Brien RD. Plenum Press: New York. pp. 247-310.
- Baron B, Ogden A, Siegel B, Stegeman J, Ursillo R, Dudley M (1988) Rapid down-regulation of beta-adrenergic receptor subsensitivity by co-administration of desipramine and fluoxetine. *Eur. J. Pharmacol.* **154**: 125-134.
- Battersby S, Ogilvie AD, Smith CA, Blackwood DH, Muir WJ, Quinn JP, Fink G, Goodwin GM, Harmar AJ (1996) Structure of a variable number tandem repeat of the serotonin transporter gene and association with affective disorder. *Psychiatr. Genet.* **6**: 177-181.
- Bauer ME, Tejani-Butt SM (1992) Effect of repeated administration of desipramine or electroconvulsive shock on norepinephrine uptake sites measured by [³H]nisoxetine autoradiography. *Brain Res.* **582**: 208-214.
- Baumgarten HG, Björklund A (1976) Neurotoxic indoleamines and monoamine neurons. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**: 101-111.
- Béique JC, Lavoie N, de Montigny C, Debonnel G (1998) Affinities of venlafaxine and various reuptake inhibitors for the serotonin and norepinephrine transporters. *Eur. J. Pharmacol.* **349**: 129-132.
- Benkirane S, Arbilla S, Langer SZ (1987) A functional response to D-1 dopamine receptor stimulation in the central nervous system: Inhibition of the release of [³H]serotonin from the rat substantia nigra. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **335**: 502-507.
- Berger M, Gastpar M (1996) Trimipramine: a challenge to current concepts on antidepressives. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* **246**: 235-239.

- Berman RM, Narasimhan M, Miller HL, Anand A, Cappiello A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS (1999) Transient depressive relapse induced by catecholamine depletion: potential phenotypic vulnerability marker? *Arch. Gen. Psychiatry* **56**: 395-403.
- Berger M, Riemann D (1993) REM sleep in depression: an overview. *J. Sleep Res.* **2**: 211-223.
- Berry MD, Juorio AV, Li XM, Boulton AA (1996) Aromatic L-amino acid decarboxylase: a neglected and misunderstood enzyme. *Neurochem. Res.* **21**: 1075-1087.
- Bidzinska EJ (1984) Stress factors in affective disorders. *Br. J. Psychiatry* **144**: 161-166.
- Björklund A, Baumgarten HG, Rensch A (1975) 5,7-dihydroxytryptamine: improvement of its selectivity for serotonin neurons in the CNS by pretreatment with desipramine. *J. Neurochem.* **24**: 833-835.
- Blakely DR, Ramamoorthy S, Schroeter S, Quian Y, Apparsundaram S, Galli A, DeFelice LJ (1998) Regulated phosphorylation and trafficking of antidepressant-sensitive serotonin transporter proteins. *Biol. Psychiatry* **44**: 169-178.
- Blakely DR, Berson EH, Fremeau TR, Caron GM, Peek MM, Prince KH, Bradley CC (1991) Cloning and expression of a functional serotonin transporter from the rat brain. *Nature* **354**: 66-70.
- Blandina P, Goldfarb J, Walcott J, Green JP (1991) Serotonergic modulation of the release of endogenous norepinephrine from rat hypothalamic slices. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **256**: 341-349.
- Boadle-Biber MC (1993) Regulation of serotonin synthesis. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **60**: 1-15.

- Boadle-Biber MC, Johannessen JN, Narasimhachari N, Phan TH (1986) Tryptophan hydroxylase: increase in activity by electrical stimulation of serotonergic neurons. *Neurochem. Int.* **8**: 83-92.
- Bolden-Watson C, Richelson E (1993) Blockade by newly developed antidepressants of biogenic amine uptake into rat brain synaptosomes. *Life Sci.* **52**: 1023-1029.
- Bönish H, Bruss M (1994) The noradrenaline transporter of the neuronal plasma membrane. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **733**: 193-202.
- Bönish H, Eiden L (1998) Catecholamine reuptake and storage. Overview. *Adv. Pharmacol.* **42**: 149-164.
- Boyson SJ, McGonicle P, Molinoff PB (1986) Quantitative radioautographic localization of the D₁ and D₂ subtypes of dopamine receptors in rat brain. *J. Neurosci.* **6**: 3177-3188.
- Bradley CC, Blakely RD (1997) Alternative splicing of the human serotonin transporter gene. *J. Neurochem.* **69**: 1356-1367.
- Briley MS, Langer SZ, Raisman R, Sechter D, Zarifian E (1980) Tritiated imipramine binding sites are decreased in platelets of untreated depressed patients. *Science* **209**: 303-305.
- Brodie TG (1900) The immediate action of an intravenous injection of blood-serum. *J. Physiol.* **26**: 48-71.
- Brodie TG (1903) The perfusion of surviving organs. *J. Physiol.* **29**: 266-275.
- Bröcking E, Trendelenberg P (1911) Adrenalin nachweis und adrenalin gehalt des menschlichen blutes. *Dtsch. Arch. Klin. Med.* **103**: 168-180.
- Brunello N, Perez J, Tinelli D, Racagni G (1990) Protein phosphorylation after acute and chronic antidepressant treatment. *Clin. Pharmacol.* **13**: Suppl. 2, 239-240.

- Burn JH (1932) The action of tyramine and ephedrine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **46**: 75-95.
- Caamano CA, Morano MI, Dalman FC, Hoversten MT, Watson SJ, Pratt WB, Akil H (1995) Point mutations in the 90-kDa heat shock protein binding region of the glucocorticoid receptor affect the functional characteristics of the receptor. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **761**: 403-404.
- Calabrese JR, Gustavo A, Delucchi GA (1990) Spectrum of efficacy of valproate in 55 patients with rapid-cycling bipolar disorder. *Am. J. Psychiatry* **147**: 431-434.
- Canon WB (1921) Studies on the conditions of activity in endocrine glands. VIII. Some effects on the denervated heart of stimulating the nerves of the liver. *Am. J. Physiol.* **58**: 353-376.
- Carli M, Reader, TA (1997) Regulation of central serotonin transporters by chronic lithium: an autoradiographic study. *Synapse* **27**: 83-89.
- Carlsson A (1981) Some current problems related to the mode of action of antidepressant drugs. *Acta Psychiatr. Scand.* **290**: Suppl., 63-66.
- Charnay Y, Leger L, Vallet PG, Hof PR, Jouvet M, Bouras C (1995) [³H]nisoxetine binding sites in the cat brain: an autoradiographic study. *Neuroscience* **69**: 259-270.
- Charney DS (1998) Monoamine dysfunction and the pathophysiology and treatment of depression. *J. Clin. Psychiatry* **59**: Suppl. 14, 11-14
- Cheetham SC, Vigger JA, Slater NA, Heal DJ, Buckett WR (1993) [³H]Paroxetine binding in rat frontal cortex strongly correlates with [³H]5-HT uptake: effect of administration of various antidepressant treatments. *Neuropharmacology* **32**: 737-743.
- Cheymol J (1972) En 1921, il y a cinquante ans, Otto Loewi prouvait l'existence des médiateurs chimiques du système nerveux. *Thérapie* **27**: 57-65.

- Chiang C, Aston-Jones G (1993) A 5-hydroxytryptamine₂ agonist augments γ -aminobutyric acid and excitatory amino acid inputs to noradrenergic locus coeruleus neurons. *Neuroscience* **54**: 409-420.
- Cleare AJ, Murray RM, O'Keane V (1997) Do noradrenergic reuptake inhibitors affect serotonergic function in depression? *Psychopharmacol.* **134**: 406-410.
- Collier DA, Arranz MJ, Sham P, Battersby S, Vallada H, Gill P, Aitchison KJ, Sodhi M, Li T, Roberts GW, Smith B, Morton J, Murray RM, Smith D, Kirov G (1996a) The serotonin transporter is a potential susceptibility factor for bipolar affective disorder. *NeuroReport* **8**: 1675-1679.
- Collier DA, Stober G, Li T, Heils A, Catalano M, Di Bella D, Arranz MJ, Murray RM, Vallada HP, Bengel D, Muller CR, Roberts GW, Smeraldi E, Kirov G, Sham P, Lesch KP (1996b) A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders. *Mol. Psychiatry* **1**: 453-460.
- Collier DA, Stober G, Li T, Heils A, Catalano M, Di Bella D, Arranz MJ, Murray RM, Vallada HP, Bengel D, Muller CR, Roberts GW, Smeraldi E, Kirov G, Sham P, Lesch KP (1996c) Susceptibility to bipolar affective disorders and unipolar depression is influenced by allelic variation of functional serotonin transporter expression. *Psychiatr. Genet.* **6**: 147.
- Cook EH Jr, Courchesne R, Lord C, Cox NJ, Yan S, Lincoln A, Haas R, Courchesne E, Leventhal BL (1997) Evidence of linkage between the serotonin transporter and autistic disorder. *Mol. Psychiatry* **2**: 247-250.
- Cool RD, Leibach HF, Bhalla KV, Mahesh BV, Ganapathy V (1991) Expression and cyclic AMP-dependent regulation of a high affinity serotonin transporter in the human placental chorio-carcinoma cell line (JAR). *J. Biol. Chem.* **266**: 15750-15757.

- Dahlström A, Fuxe K (1964) Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol. Scand.* **62**: suppl. 232, 1-55.
- Dale HH (1906) On some physiological actions of ergot. *J. Physiol.* **34**: 163-206.
- D'Amato RJ, Largent BL, Snowman AM, Snyder SH (1987) Selective labeling of serotonin uptake sites in rat brain by [³H]citalopram contrasted to labeling of multiple sites by [³H]imipramine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **242**: 364-371.
- Daniel PM, Moorhouse SR, Pratt OE (1976) Amino acid precursors of monoamine neurotransmitters and some factors influencing their supply to the brain. *Psychol. Med.* **6**: 277-286.
- De Felice LJ, Blakely RD (1996) Pore models for transporters? *Biophys. J.* **70**: 579-580.
- De La Lande ISV, Marino V, Kennedy JA, Parker DA, Seamark RF (1991) Distribution of extraneuronal uptake₁ in reproductive tissues: studies on cells in culture. *J. Neural Transm.* **34**: (Suppl.) 37-42.
- Delgado PL, Charney DS, Price LH, Aghajanian GK, Landis H, Heninger GR (1990) Serotonin function and the mechanism of antidepressant action: reversal of antidepressant-induced remission by rapid depletion of plasma tryptophan. *Arch. Gen. Psychiatry* **47**: 411-418.
- Delgado PL, Miller HL, Salomon RM, Licinio J, Heninger GR, Gelenberg AJ, Charney DS (1993) Monoamines and the mechanism of antidepressant action: effects of catecholamine depletion on mood of patients treated with antidepressants. *Psychopharmacol. Bull.* **29**: 389-396.
- Delini-Stula A, Mogilnicka E (1988) Single treatments with the antidepressant oxaprotiline and its (+) and (-) enantiomers increase behavioural responses to dopaminergic stimulation in the rat. *J. Neural Transm.* **71**: 91-98.
- De Montigny C (1984) Electroconvulsive treatments enhance responsiveness of forebrain neurons to serotonin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **228**: 230-234.

- De Montigny C, Aghajanian GK (1978) Tricyclic antidepressants: long-term treatment increases responsivity of rat forebrain neurons to serotonin. *Science* **202**: 1303-1306.
- Derivan A, Entsuah AR, Kikta D (1995) Venlafaxine: measuring the onset of antidepressant action. *Psychopharmacol. Bull.* **31**: 439-447.
- Descarries L, Watkins KC, Garcia S, Beaudet A (1982) The serotonin neurons in nucleus raphe dorsalis of the adult rat: a light and electron microscope radioautographic study. *J. Comp. Neurol.* **207**: 239-254.
- Descarries L, Soucy JP, Lafaille F, Mrini A, Tanguay R (1995) Evaluation of three transporter ligands as quantitative markers of serotonin density in rat brain. *Synapse* **21**: 131-139.
- Dewar KM, Reader TA (1989) Distribution of D₁ and D₂ receptors in rabbit cortical areas, hippocampus, and neostriatum in relation to dopamine contents. *Synapse* **4**: 378-386.
- Dewar KM, Grondin L, Nénonéné EK, Ohayon M, Reader TA (1993) [³H]Paroxetine binding and serotonin content of rat brain: absence of changes following antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol.* **23**: 137-142.
- Draper N, Smith H (1981) *Applied Regression Analysis*. 2ième édition. John Wiley & Sons, New York. pp 275-278.
- Duda NJ, Moore KE (1985) Simultaneous determination of 5-hydroxytryptophan and 3,4-dihydroxyphenylalanine in rat brain by HPLC with electrochemical detection following electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus. *J. Neurochem.* **44**: 128-133.
- Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ (1997) A molecular and cellular hypothesis of depression. *Arch. Gen. Psychiatry* **54**: 597-606.

- Dumbrille-Ross A, Tang SW (1983) Manipulations of synaptic serotonin: discrepancy of effect on serotonin S₁ and S₂ sites. *Life Sci.* **32**: 2677-2684.
- Duncan GE, Little KY, Kirkman JA, Kaldas RS, Stumpf WE, Breese GK (1992) Autoradiographic characterization of [³H]imipramine and [³H]citalopram binding in rat and human brain: species differences and relationships to serotonin innervation patterns. *Brain Res.* **591**: 181-197.
- During MJ, Heyes MP, Freese A, Markey SP, Martin JB, Roth RH (1989) Quinolinic acid concentrations in striatal extracellular fluid reach potentially neurotoxic levels following systemic L-tryptophan loading. *Brain Res.* **476**: 384-387.
- Eikmeier G, Berger M, Lodemann E, Muszynski K, Kaumeier S, Gastpar M (1991) Trimipramine - an atypical neuroleptic? *Int. Clin. Psychopharmacol.* **6**: 147-153.
- Eison AS, Yocca FD, Gianutsos G (1991) Effect of chronic administration of antidepressant drugs on 5-HT₂-mediated behavior in the rat following noradrenergic or serotonergic denervation. *J. Neural Transm. (Gen. Sect.)* **84**: 19-32.
- Elliot TR (1905) The action of adrenaline. *J. Physiol.* **32**: 401-467.
- Emrich HM, Berger M, Riemann D, von Zerssen D (1987) Serotonin reuptake inhibition vs. norepinephrine reuptake inhibition: a double-blind differential-therapeutic study with fluvoxamine and oxaprotiline in endogenous and neurotic depressives. *Pharmacopsychiatry* **20**: 60-63.
- Emrich HM, Wolf R (1990) Recent neurochemical and pharmacological aspects of pathogenesis and therapy of affective illness. *Pharmacol. Toxicol.* **66**: (Suppl. 3) 5-12.
- Ersprammer V, Asero B (1952) Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. *Nature* **169**: 800-801.
- Ersprammer V (1954) Pharmacology of indolealkylamines. *Pharmacol. Rev.* **6**: 425-487..

- Falck B, Hillarp NA, Thieme G, Thorp A (1962) Fluorescence of catecholamines and related compounds with formaldehyde. *J. Histochem. Cytochem.* **10**: 348-354.
- Fattaccini CM, Bolanos-Jimenez F, Gozlan H, Hamon M (1990) Tianeptine stimulates uptake of 5-hydroxytryptamine in vivo in the rat brain. *Neuropharmacology.* **29**: 1-8.
- Fava M, Gianelli A, Rapisarda V, Patralia A, Guaraldi GP (1995) Rapidity of the antidepressant effect of parenteral S-adenosyl-L-methionine. *Psychiatr. Res.* **56**: 295-297.
- Feighner JP (1999) Mechanism of action of antidepressant medications. *J. Clin. Psychiatry* **60**: Suppl. 4, 4-11.
- Fergusson SSG, Barak LS, Zhang J, Caron MG (1996) G-protein-coupled receptor regulation: role of G-protein-coupled receptor kinases and arrestins. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **74**: 1095-1110.
- Fernstrom JD, Wurtman RJ (1974) Control of brain serotonin levels by the diet. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* **11**: 133-142.
- Flattem NL, Bradley C, Meltzer HY, Austin MC, Lewis DA, Blakely RD (1997) Polymorphic transporter and alternative splicing in the human serotonin transporter: are they predictive of mental illness? *Soc. Neurosci. Abstr.* **23**: 338.9
- Foster OJ, Biswas S, Lightman SL (1991) Neuropeptide Y and tyrosine hydroxylase mRNA levels in the locus coeruleus show similar increases after reserpine treatment. *Neuropeptides* **18**: 137-141.
- Fischer RA, Yates F (1957) *Statistical Tables for Biological, Agricultural, and Medical Research.* Oliver and Boyd, London.

- Frank E, Kupfer DJ, Perel JM, Cornes C, Jarrett DB, Mallinger AG, Thase ME, McEachran AB, Grochocinski VJ (1990) Three-year outcomes for maintenance therapies in recurrent depression. *Arch. Gen. Psychiatry* **47**: 1073-1099.
- Frank H, Althoen SC (1994) *Statistics: Concepts and Applications*. Cambridge University Press, New York.
- Frazer A (1997) Pharmacology of antidepressants. *J. Clin. Psychopharmacol.* **17**: suppl 2, 2S-18S.
- Frazer A, Daws LC (1998) Serotonin transporter function in vivo: assessment by chronoamperometry. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **861**: 217-229.
- Fuenmayer LD, Bermudez M (1985) Effects of the cerebral tryptaminergic system on the turnover of dopamine in the striatum of the rat. *J. Neurochem.* **44**: 670-674.
- Fuller RW, Perry KW, Molloy BB (1974) Effect of an uptake inhibitor on serotonin metabolism in rat brain: studies with 3-(p-trifluoromethylphenoxy)-N-methyl- 3-phenylpropylamine (Lilly 110140). *Life Sci.* **15**: 1161-1171.
- Fuller RW (1991) Role of serotonin in therapy of depression and related disorders. *J. Clin. Psychiatry* **52**: Suppl., 52-57.
- Fuxe K, Ögren SO, Agnati LF, Benfenati F, Fredholm B, Andersson K, Zini I, Eneroth P (1983) Chronic antidepressant treatment and central 5-HT synapses. *Neuropharmacology* **22**: 389-400.
- Garcia-Colunga J, Awad JN, Miledi R (1997) Blockage of muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors by fluoxetine (Prozac). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 2041-2044.

- Garett CT, Cairns V, Murty CN, Verney E, Sidransky H (1984) Effect of tryptophan on informosomal and polyribosomal-associated messenger RNA in the rat liver. *J. Nutr.* **114**: 50-57.
- Gaspar P, Beger B, Alvarez C, Henry JP, Vigny A (1985) Catecholaminergic innervation of the septal area in man. Immunocytochemical study using TH and DBH antibodies. *J. Comp. Neurol.* **241**: 12-33.
- Gaspar P, Stepniewska I, Kaas JH (1992) Topography and collateralization of the DA projections to motor and lateral prefrontal cortex in owl monkeys. *J. Comp. Neurol.* **325**: 1-21.
- Gehlert DR, Schober DA, Gackenheimer SL (1995) Comparison of (R)-[³H]tomoxetine and (R/S)-[³H]nisoxetine binding in rat brain. *J. Neurochem.* **64**: 2792-2800.
- Geraciotti TD Jr., Loosen PT, Ekhaton NN, Schmidt D, Chambliss B, Baker DG, Kasckow JW, Richtand NM, Keck PE Jr, Ebert MH (1997) Uncoupling of serotonergic and noradrenergic systems in depression: preliminary evidence from continuous cerebrospinal fluid sampling. *Depress. Anxiety* **6**: 89-94.
- Gillibert C (1994) Libération des monoamines dans le cortex préfrontal du rat au cours du cycle veille-sommeil: analyse en microanalyse. *Thèse de DEA*. Université de Paris VI.
- Giros B, Mestikawy ES, Bertrand L, Caron MG (1991) Cloning and functional characterization of a cocaine-sensitive dopamine transporter. *FEBS Lett.* **295**: 149-154.
- Ghadirian AM, Engelsmann F, Dhar V, Filipini D, Keller R, Chouinard G, Murphy BE (1995) The psychotropic effects of inhibitors of steroid biosynthesis in depressed patients refractory to treatment. *Biol. Psychiatry* **15**: 369-375.

- Gobbi M, Crespi D, Foddi MC, Fracasso C, Mancini L, Parotti L, Mennini T (1997) Effects of chronic treatment with fluoxetine and citalopram on 5-HT uptake, 5-HT_{1B} autoreceptors, 5-HT₃ and 5-HT₄ receptors in rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **356**: 22-28.
- Goldberg RG (1995) Nefazodone and venlafaxine: two new agents for the treatment of depression. *J. Family Pract.* **41**: 591-594.
- Golden RN, Rudorfer MV, Sherer MV, Linnoila M, Potter WZ (1988a) Bupropion in depression. I: Biochemical effects and clinical efficacy. *Arch. Gen. Psychiatry.* **45**: 139-143.
- Golden RN, DeVane CL, Laizure SC, Rudorfer MV, Sherer MA (1988b) Bupropion in depression. II: The role of metabolites in clinical outcome. *Arch. Gen. Psychiatry.* **45**: 145-149.
- Golden RN, Gilmore JH, Corrigan MH, Ekstrom RD, Knight BT, Garbutt JC (1991) Serotonin, suicide and aggression: clinical studies. *J. Clin. Psychiatry* **52**:(Suppl. 12) 61-69.
- Goodwin FK, Bunney WE (1971) Depressions following reserpine: a reevaluation. *Seminars in Psychiatry.* **3**: 435-448.
- Gorea E, Davenne D, Lanfumey L, Chastanet M, Adrien J (1991) Regulation of noradrenergic coerulean neuronal firing mediated by 5-HT₂ receptors: hypoglossal nucleus, *Neuropharmacol.* **30**: 1309-1318.
- Graefe KH, Bönisch H (1988) Transport of amines across the axonal membranes of noradrenergic and dopaminergic neurones. In: *Handbook of Experimental Pharmacology: Catecholamines*. Eds Trendelenburg IU, Weiner N. Springer: Berlin, Heidelberg. **90/I**: 193-246.
- Grenhoff J, Tung C, Ugedo L, Svensson T (1990) Effects of amperozide, a putative antipsychotic drug, on rat midbrain dopamine neurons recorded in vivo. *Pharmacol. Toxicol.* **60**: Suppl.1, 29-33.

- Grenhoff J, Svensson T (1993) Prazosin modulates the firing pattern of dopaminergic neurons in rat ventral segmental area. *Eur. J. Pharmacol.* **233**: 79-84.
- Grzanna R, Fritschy JM (1991) Efferent projections of different subpopulations of central noradrenaline neurons. *Progr. Brain Res.* **88**: 89-101.
- Guastella J, Nelson N, Nelson H, Czyzyk L, Keynan S, Miedel MC, Davidson N, Lester HA, Kanner BI (1990) Cloning and expression of a rat brain GABA transporter. *Science* **249**: 1303-1306.
- Guelfi JD, Pichot P, Dreyfus JF (1989) Efficacy of tianeptine in anxious-depressed patients: results of a controlled multicenter trial versus amitriptyline. *Neuropsychobiology* **22**: 41-48.
- Halasz N, Ljungdahl A, Hökfelt T, Johansson O, Goldstein M, Park D, Biberfeld P (1977) Transmitter histochemistry of the rat olfactory bulb. I. Immunohistochemical localization of monoamine synthesizing enzymes. Support for intrabulbar, periglomerular dopamine neurons. *Brain Res.* **126**: 455-474.
- Hamlin KE, Fischer FE (1951) The synthesis of 5-hydroxytryptamine. *J. Am. Chem. Soc.* **73**: 5007.
- Harder R, Bönisch H (1985) Effect of monovalent ions on the transport of noradrenaline across the plasma membrane of neuronal cells (PC12 cells). *J. Neurochem.* **45**: 1154-1162.
- Haskins JT, Much EA, Andree TH (1987) Biochemical and electrophysiological studies of the psychotropic compound, Amperozide. *Brain Res. Bull.* **19**: 465-471.
- Hauser K, Olpe HR, Jones RSG (1985) Trimipramine, a tricyclic antidepressant exerting atypical actions on the central noradrenergic system. *Eur. J. Pharmacol.* **111**: 23-30.
- Heim C, Owens MJ, Plotsky PM, Nemeroff CB (1997) The role of early adverse life events in the etiology of depression and posttraumatic stress disorder. Focus on corticotropin-releasing factor. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **82**: 194-207.

- Heninger GR, Delgado PL, Charney DS (1996) The revised monoamine theory of depression: modulatory role for monoamines, based on new findings from monoamine depletion experiments in humans. *Pharmacopsychiatry* **29**: 2-11.
- Hervé D, Blanc G, Glowinski J, Tassin JP (1982) Reduction of dopamine utilization in the prefrontal cortex but not in the nucleus accumbens after selective destruction of noradrenergic fibers innervating the ventral tegmental area in the rat. *Brain Res.* **237**: 510-516.
- Hervé D, Pickel VM, Joh TH, Beaudet A (1987) Serotonin axon terminals in the ventral tegmental area of the rat: fine structure and synaptic input to dopamine neurons. *Brain Res.* **435**: 71-83.
- Hoffman BJ, Mezey E, Brownstein JM (1991) Cloning of a serotonin transporter affected by antidepressants. *Science* **254**: 579-580.
- Hoffman BJ, Hansson S, Mezey É, Palkovits M (1998) Localization and dynamic regulation of biogenic amine transporters in the mammalian central nervous system. *Front. Neuroendocrinol.* **19**: 187-231.
- Hrdina PD, Vu TB (1993) Chronic fluoxetine treatment upregulates 5-HT uptake sites and 5-HT₂ receptors in rat brain: an autoradiographic study. *Synapse* **14**: 324-331.
- Hsiao JK, Agren H, Bartko JJ, Rudorfer MV, Linnoila M, Potter WZ (1987) Monoamine neurotransmitter interactions and the prediction of antidepressant response. *Arch. Gen. Psychiatry* **44**: 1078-1083.
- Huang N, Ase AR, Hébert C, van Gelder NM, Reader TA (1997) Effects of chronic neuroleptic treatments on dopamine D₁ and D₂ receptors: homogenate binding and autoradiographic studies. *Neurochem. Int.* **30**: 277-290.
- Hughes JR, Goldstein MG, Hurt RD, Shiffman S (1999) Recent advances in the pharmacotherapy of smoking. *JAMA* **281**: 72-76.

- Hwang E, Magnussen J, Van Voert M (1980) Effects of chronic fluoxetine administration on serotonin metabolism. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* **29**: 79-95.
- Hyttel, J. (1982) Citalopram: basic and clinical studies. *Progr. Neuropharmacol. Biol. Psychiatry* **6**: 275-336.
- Ichiwaka J, Meltzer HY (1990a) The effect of chronic clozapine and haloperidol on basal dopamine release and metabolism in rat striatum and nucleus accumbens studied by in vivo microdialysis. *Eur. J. Pharmacol.* **176**: 371-374.
- Ichiwaka J, Meltzer HY (1990b) Apomorphine does not reverse reduced basal dopamine release in rat striatum and nucleus accumbens after chronic haloperidol treatment. *Brain Res.* **507**: 138-142.
- Iversen LL, Glowinski J, Axelrod J (1966) The physiological disposition and metabolism of norepinephrine in immunosympathectomized animals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **151**: 273-284.
- Iversen LL (1967) *The Uptake and Storage of Noradrenaline in Sympathetic Nerves*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Iversen LL (1975) Uptake process of biogenic amines. Dans *Handbook of Psychopharmacology*. Eds. Iversen LL, Iversen SD, Snyder SH. Plenum: New York. pp 381-442.
- Jaeger CB, Ruggiero DA, Albert VR, Park DH, Joh TH, Reis DJ (1984) Aromatic L-amino acid decarboxylase in the rat brain: immunocytochemical localization in neurons of the brain stem. *Neuroscience* **11**: 691-713.
- Janeway TC, Richardson HB, Park EA (1918) Experiments on the vasoconstrictor action of blood serum. *Arch. Int. Med.* **21**: 565-603.

- Jardine R, Martin NG, Henderson AS (1984) Genetic covariation between neuroticism and the symptoms of anxiety and depression. *Genet. Epidemiol.* **1**: 89-107.
- Joh TH, Shikimi T, Pickel VM, Reis DJ (1975) Brain tryptophan hydroxylase: purification of, production of antibodies to, and cellular and ultrastructural localization in serotonergic neurons of rat midbrain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**: 3575-3579.
- Jones RSG, Olpe HS (1984) An increase in sensitivity of rat cingulate cortical neurones to substance P occurs following withdrawal of chronic administration of antidepressant drugs. *Br. J. Pharmacol.* **81**: 659-664.
- Jordan S, Kramer GL, Zukas PK, Moeller M, Petty F (1994) In vivo biogenic amine efflux in medial prefrontal cortex with imipramine, fluoxetine and fluvoxamine. *Synapse* **18**: 294-299.
- Kilty EJ, Lorang D, Amara GS (1991) Cloning and expression of a cocaine-sensitive rat dopamine transporter. *Science* **254**: 578-579.
- King CS, Tiller AA, Chang SSA, Lam MKD (1992) Differential regulation of the imipramine-sensitive serotonin transporter by cAMP in human JAR choriocarcinoma cells, rat PC12 pheochromocytoma cells, and C33-14-B! Transgenic mouse fibroblast cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **183**: 487-491.
- Kitayama S, Dohi T (1996) Cellular and molecular aspects of monoamine neurotransmitter transporters. *Jpn. J. Pharmacol.* **72**: 195-208.
- Klimek V, Stockmeier C, Overholser J, Meltzer HY, Kalka S, Dilley G, Ordway GA (1997) Reduced levels of norepinephrine transporters in the locus coeruleus in major depression. *J. Neurosci.* **17**: 8451-8458.
- Kline NS (1958) Clinical experience with iproniazid. *J. Clin. Exp. Psychopathol.* **19**: (Suppl.) 72-78.

- Kopanski C, Türck M, Schulz JE (1993) Effects of long-term treatment of rats treated with antidepressants on noradrenergic-receptor sensitivity in cerebral cortex: structure activity study. *Neurochem. Int.* **5**: 649-659.
- Kovachic GA, Aronson CE, Brunswick DJ (1992) Effects of repeated administration of antidepressants on serotonin uptake sites in limbic and neocortical structures of rat brain determined by quantitative autoradiography. *Neuropsychopharmacology* **7**: 317-324.
- Kramer MS, Cutler N, Feighner J, Srivastava R, Carman J, Sramek JJ, Reines SA, Liu G, Snavely D, Wyatt-Knowles E, Hale JJ, Mills SG, MacCoss M, Swain CJ, Harrison T, Hill RG, Hefti F, Scolnick EM, Cascieri MA, Chicchi GG, Sadowski S, Williams AR, Hewson L, Smith D, Carlson EJ, Hargreaves RJ, Rupniak NMJ (1998) Distinct mechanism for antidepressant activity by blockade of substance P receptors. *Science*. **281**: 1640-1645.
- Kuhar MJ (1973) Neurotransmitter uptake: a tool for identifying neurotransmitter specific pathways. *Life Sci.* **33**: 1623-1634.
- Kuhn R (1958) The treatment of depressive states with G 22355 (imipramine hydrochloride). *Am. J. Psychiatry.* **115**: 459-464.
- Kumakiri C, Kodama K, Shimizu E, Yamanouchi N, Okada S, Okamoto H, Sato T, Shirasawa H (1999) Study of the association between the serotonin transporter gene regulatory region polymorphism and personality traits in a Japanese population. *Neurosci. Lett.* **26**: 205-207.
- Kunugi H, Tatsumi M, Sakai T, Hattori M, Nanko S (1996) Serotonin transporter gene polymorphism and affective disorder. *Lancet* **347**: 1340-1342.
- Langley JN (1901) Observations of the physiological actions of extracts of the supra-renal bodies. *J. Physiol.* **27**: 237-256.
- Léger L, Descarries L (1978) Serotonin nerve terminals in the locus coeruleus of adult rat: A radioautographic study. *Brain Res.* **145**: 1-13.

- Léger L, Wiklund L, Descarries L (1979) Description of indoleaminergic cell components in the cat locus coeruleus: A fluorescence histochemical and radioautographic study. *Brain Res.* **168**: 43-56.
- Le Marec N, Hébert C, Amdiss F, Botez MI, Reader TA (1998) Regional distribution of 5-HT transporters in the brain of wild type and 'Purkinje cell degeneration' mutant mice: a quantitative autoradiographic study with [³H]citalopram. *J. Chem. Neuroanat.* **15**: 155-171.
- Leonard BE (1984) Neurotransmitter markers of depression. *Austr. N. Z. J. Psychiatry* **18**: 307-312.
- Leonard BE (1997) Noradrenaline in basic models of depression. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **7**: Suppl. 1, S11-S16.
- Lesch KP, Balling U, Gross J, Strauss K, Wolozin BL, Murphy DL, Riederer P (1994) Organization of the human transporter gene. *J. Neural Transm. (Gen. Sect.)* **95**: 157-162.
- Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Muller CR, Hamer DH, Murphy DL (1996) Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* **274**: 1527-1531.
- Levitan IB (1994) Modulation of ion channels by protein phosphorylation and dephosphorylation. *Annu. Rev. Physiol.* **56**: 193-212.
- Lewis DA, Melchitzky DS, Haycock JW (1993) Four isoforms of tyrosine hydroxylase are expressed in human brain. *Neuroscience* **54**: 477-492.
- Lindvall O, Stenevi U (1978) Dopamine and noradrenaline neurons projecting to the septal area in the rat. *Cell Tissue Res.* **190**: 383-407.
- Liu QR, Mandiyan S, Nelson H, Nelson N (1992) A family of genes encoding neurotransmitter transporters. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**: 6639-6643.

- Lloyd KG, Zivkovic B, Scatton B, Morselli PL, Bartholini G (1989) The GABAergic hypothesis of depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **13**: 341-351.
- Lloyd KG, Pichat P, Scatton B, Zivkovic B, Morselli PL, Bartholini G (1990) The psychopharmacology of GABA synapses: update 1989. *J. Neural Transm. Suppl.* **29**: 13-28.
- Loewi O (1921) Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung. *Plügers Arch.* **189**: 239-242.
- Loewi O (1960) An autobiographic sketch. *Perspect. Biol. Med.* **4**: 3-25.
- Ludwig C, Schmidt A (1868) Das Verhalten des Gases, welche mit dem Blut den reizbaren Säugethiermuskeln strömen. *Arch. Physiol. Anat. Leipzig* **3**: 1.
- Maes M, Libbrecht I, van Hunsel F, Campens D, Meltzer HY (1999) Pindolol and mianserin augment the antidepressant activity of fluoxetine in hospitalized major depressed patients, including those with treatment resistance. *J. Clin. Psychopharmacol.* **19**: 177-182.
- Maj J (1995) Forty years of neuropsychopharmacology. *Pol. J. Pharmacol.* **47**: 203-205.
- Maj J, Rogoz Z, Skusa G, Margas W (1998) Repeated trimipramine administration induces dopamine D_{2/3} and alpha-1-adrenergic upregulation. *J. Neural Transm.* **105**: 329-342.
- Malinson RT, Price LH, Berman R, van Dyck CJ, Pelton GH, Carpenter L, Sanacora G, Owens MJ, Nemeroff CB, Rajeevan N, Baldwin RM, Seibyl JP, Innis RB, Charney DS (1998) Reduced brain serotonin transporter availability in major depression as measured by [¹²³I]-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-iodophenyl)tropane and single photon emission computed tomography. *Biol. Psychiatry* **44**: 1090-1098.
- Manier DH, Gillespie DD, Sanders-Bush E, Sulser F (1987) The serotonin/noradrenaline-link in brain. I. The role of noradrenaline and serotonin in the regulation of density and function of beta adrenoceptors and its alteration by desipramine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **355**: 109-114.

- Mann JJ, Malone KM, Diehl DM, Perel J, Cooper TB, Minton MA (1996) Demonstration in vivo of reduced serotonin responsivity in the brain of untreated depressed patients. *Am. J. Psychiatry* **153**: 174-182.
- Marcusson JO, Ross SB (1990) Binding of some antidepressants to the 5-hydroxytryptamine transporter in brain and platelets. *Psychopharmacology* **102**: 145-155.
- Martensson B, Nyberg S, Toresson G, Brodin E, Bertilsson L (1989) Fluoxetine treatment of depression. Clinical effects, drug concentrations and monoamine metabolites and N-terminally extended substance P in cerebrospinal fluid. *Acta Psychiatr. Scand.* **79**: 586-596.
- Martin JV, Edwards E, Johnson JO, Henn FA (1990) Monoamine receptors in an animal model of affective disorder. *J. Neurochem.* **55**: 1142-1148.
- Max B (1986) This and that: of men of science. *Trends Pharmacol. Sci.* **7**: 174-177.
- Mazzanti CM, Lappalainen J, Long JC, Bengel D, Naukkarinen H, Eggert M, Virkkunen M, Linnoila M, Glodman D (1998) Role of the serotonin transporter promoter polymorphism in anxiety-related traits. *Arch. Gen. Psychiatry* **55**: 936-940.
- McRae-Degueurce A, Bérød A, Keller A, Chouvet G, Jon TH, Pujol JF (1982) Alterations in tyrosine hydroxylase activity elicited by raphe nuclei lesions in the rat locus coeruleus: Evidence for the involvement of serotonin afferents. *Brain Res.* **235**: 285-301.
- Meek JL, Neff NH (1972) Tryptophan-5-hydroxylase: approximation of half-life and rate of axonal transport. *J. Neurochem.* **19**: 1519-1525.
- Meltzer HY (1991) Beyond serotonin. *J. Clin. Psychiatry* **52**: suppl. 5, 58-62.

- Meltzer HY, Lowy MT (1987) The serotonin hypothesis of depression. Dans *Pharmacology: the third generation of progress*. Ed. Meltzer HY. Raven Press: New York. pp. 513-526.
- Meyer OB (1906) Über einige eigenschaften der gefässmuskulatur mit besonder berücksichtigung des adrenalinwirkung. *Z. Biol.* **48**: 352.
- Miller HL, Delgado PL, Salomon RM, Berman R, Krystal JH, Heninger GR, Charney DS (1996a) Clinical and biochemical effects of catecholamine depletion on antidepressant-induced remission of depression. *Arch. Gen. Psychiatry* **53**: 117-128.
- Miller HL, Delgado PL, Salomon RM, Heninger GR, Charney DS (1996b) effects of alpha-methyl-para-tyrosine (AMPT) in drug-free depressed patients. *Neuropsychopharmacol.* **14**: 151-157.
- Montgomery AMJ, Grottick AJ (1999) Neurotransmitter system interactions revealed by drug-induced changes in motivated behavior. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **62**: 643-657.
- Montgomery SA (1993) Evidence for early onset of action and superior efficacy in controlled trials with venlafaxine. *J. Clin. Psychiatry* **54**: 126.
- Montgomery SA (1995) Rapid onset of action of venlafaxine. *Int. Clin. Psychopharmacol.* **10**: Suppl. 2, 21-27.
- Moore RY, Bloom FE (1979) Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. *Annu. Rev. Neurosci.* **2**: 113-168.
- Murakami F, Shimomura T, Kotani K, Ikawa S, Nanba E, Adachi K (1999) Anxiety traits associated with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region in the Japanese. *J. Hum. Genet.* **44**: 15-17.
- Murphy DL, Donnelly C, Moskowitz J (1974) Catecholamine receptor function in depressed patients. *Am. J. Psychiatry* **131**: 1389-1391.

- Muth EA, Haskins JT, Moyer JA, Husbands GE, Nielsen ST, Sigg EB (1986) Antidepressant biochemical profile of the novel bicyclic compound WY-45,030, an ethyl cyclohexanol derivative. *Biochem. Pharmacol.* **35**: 4493-4497.
- Nelson H, Mandyian S, Nelson N (1990) Cloning of the human brain GABA transporter. *FEBS Lett.* **269**: 181-184.
- Nelson JC (1998) Overcoming treatment resistance in depression. *J. Clin. Psychiatry* **59**: (Suppl. 16) 13-19, discussion 40-42.
- Nelson N, Lill H (1994) Porters and neurotransmitter transporters. *J. Exp. Biol.* **196**: 213-228.
- Nemeroff CB, Knight DL, Krishnan KRR, Krishnan RR, Slotkin TA, Bissette G, Melville ML, Blazer DG (1988) Marked reduction in the number of platelet imipramine-tritiated binding sites in geriatric depression. *Arch. Gen. Psychiatry* **45**: 919-923.
- Nemeroff CB (1996) The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. *Mol. Psychiatry* **1**: 336-342.
- Nemeroff CB (1998) Psychopharmacology of affective disorders in the 21st century. *Biol. Psychiatry* **44**: 517-525.
- Nestler EJ, Terwillinger RZ, Duman RS (1989) Chronic antidepressant administration alters the subcellular distribution of cyclic AMP dependent protein kinase in rat frontal cortex. *J. Neurochem.* **53**: 1644-1647.
- Nestler EJ (1998) Antidepressant treatments in the 21st century. *Biol. Psychiatry* **44**: 526-533.
- Ni YG, Miledi R (1997) Blockage of 5-HT_{2C} serotonin receptors by fluoxetine (Prozac). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 2036-2040.

- Nibuya M, Morinobu S, Duman RS (1995) Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J. Neurosci.* **15**: 7539-7547.
- Nibuya M, Nestler EJ, Duman RS (1996) Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus. *J. Neurosci.* **16**: 2365-2372.
- Niehoff DL (1986) Receptor localization and characterization by quantitative autoradiography. Dans: *Chemical and Functional Assays of Receptor Binding 1986 Short Course I Syllabus*, Society for Neuroscience: Washington, DC, USA. pp 33-48.
- Nirenberg MJ, Vaughan RA, Uhl GR, Kuhar MJ, Pickel VM (1996) The dopamine transporter is localized to dendritic and axonal plasma membranes of nigro-striatal dopaminergic neurons. *J. Neurosci.* **16**: 436-447.
- Nirenberg MJ, Chan J, Vaughan RA, Uhl GR, Kuhar MJ, Pickel VM (1997) Immunogold localization of the dopamine transporter: an ultrastructural study of the rat ventral tegmental area. *J. Neurosci.* **17**: 4037-4044.
- Nieuwenhuys R (1985) *Chemoarchitecture of the Brain*. Springer-Verlag: Berlin.
- Nomikos GG, Iurlo M, Andersson JL, Kimura K, Svensson TH (1994) Systemic administration of amperozide, a new atypical antipsychotic drug, preferentially increases dopamine release in the rat medial prefrontal cortex. *Psychopharmacol.* **115**: 147-156.
- Nomura S, Duman RS, Enna SJ (1987) In vivo or in vitro exposure to imipramine reduces alpha-2 adrenoceptor-mediated inhibition of cyclic AMP production in rat brain cerebral cortical slices. *Brain Res.* **410**: 195-198.
- O'Connor JM (1911) Über adrenalinbestimmung in blut. *München. Med. Wochenschr.* **58**: 1439-1442.

- O'Connor JM (1912) Über den adrenalinhalt des blutes. *Arch. Exp. Path. Pharmacol.* **67**: 195-208.
- Ogilvie AD, Battersby S, Bubb VJ, Fink G, Harmar AJ, Goodwin GM, Smith CA (1996) A polymorphism of the serotonin transporter gene is associated with susceptibility to major affective disorder. *Lancet* **347**: 731-733.
- Ogilvie AD, Harmar AJ (1997) Association between the serotonin transporter gene and affective disorder: the evidence so far. *Mol. Med.* **3**: 90-93.
- Oliver G, Schäfer EA (1895) The physiological effects of extracts of the suprarenal capsules. *J. Physiol.* **18**: 230-279.
- Ontiveros A, Fontaine R, Élie R (1991) Refractory depression: the addition of lithium to fluoxetine or desipramine. *Acta Psychiatr. Scand.* **83**: 188-192.
- Owens MJ, Nemeroff CB (1994) Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin. Chem.* **40**: 288-295.
- Pacholczyk T, Blakely DR, Amara GS (1991) Expression cloning of a cocaine- and antidepressant-sensitive human noradrenaline transporter. *Nature* **350**: 350-354.
- Pan WHT, Sung JC, Fuh SMR (1996) Locally application of amphetamine into the ventral tegmental area enhances dopamine release in the nucleus accumbens and the medial prefrontal cortex through noradrenergic neurotransmission. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **278**: 725-731.
- Pasquier DA, Kemper TL, Forbes WB, Morgagne PJ (1977) Dorsal raphe, substantia nigra and locus coeruleus: Interconnections with each other and the neostriatum. *Brain Res. Bull.* **2**: 323-339.
- Paul SM, Rehavi M, Skolnick P, Ballenger JC, Goodwin FK (1981) Depressed patients have decreased binding of tritiated imipramine to platelet serotonin "transporter". *Arch. Gen. Psychiatry* **38**: 1315-1317.

- Paxinos G, Watson C (1997) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, San Diego, California.
- Pehek EA, Meltzer HY, Yamato BK (1993) The atypical antipsychotic drug amperozide enhances rat cortical and striatal dopamine efflux. *Eur. J. Pharmacol.* **240**: 107-109.
- Peroutka SJ, Snyder SH (1980) Long-term antidepressant treatment decreases spiroperidol-labeled serotonin receptor binding. *Science* **210**: 88-90.
- Perry EK, Marshall EF, Blessed G, Tomlinson BE, Perry RH (1983) Decreased imipramine binding in the brains of patients with depressive illness. *Br. J. Psychiatry* **142**: 188-192.
- Pessia M, Jiang ZG, North RA, Johnson SW (1994) Actions of 5-hydroxytryptamine on ventral tegmental area neurons of the rat in vitro. *Brain Res.* **654**: 324-330.
- Pettiner WA, Smyth DD (1987) Alpha-1 adrenergic receptors. A historical perspective. Dans: *The alpha-1 adrenergic receptor*. Ed. Ruffolo RR Jr. Humana press: Clifton, N.J. **3**: 16-40.
- Phillipson OT (1979) Afferent projections to the ventral tegmental area of tsai and interfascicular nucleus: a horse radish peroxidase study in the rat. *J. Comp. Neurol.* **187**: 117-144.
- Pierre J, Mahouche M, Suderevskaya EI, Reperant J, Ward R (1997) Immunocytochemical localization of dopamine and its synthetic enzymes in the central nervous system of the lamprey *Lampetra fluviatilis*. *J. Comp. Neurol.* **380**: 119-135.
- Plaznik A, Kostowski W (1991) The involvement of serotonin and noradrenaline in the pathophysiological processes of stress and depression: animal models and the effect of antidepressant drugs. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* **43**: 301-322.

- Plenge P, Mellerup ET, Laursen H (1991) Affinity modulation of [³H]imipramine, [³H]paroxetine and [³H]citalopram to the 5-HT transporter from brain and platelets. *Eur. J. Pharmacol.* **206**: 243-250.
- Post RM, Gerner RH, Carman JS, Gillin JC, Jimerson DC, Goodwin FK, Bunney WE Jr (1978) Effects of a dopamine agonist piribedil in depressed patients: relationship of pretreatment homovanillic acid to antidepressant response. *Arch. Gen. Psychiatry* **35**: 609-615.
- Post RM (1982) Use of anticonvulsant carbamazepine in primary and secondary affective illness: clinical and theoretical implications. *Psychol. Med.* **12**: 701-704.
- Potter WZ (1996) Adrenoceptors and serotonin receptor function : relevance to antidepressant mechanisms of action. *J. Clin. Psychiatry* **57**: (Suppl. 4) 4-8.
- Prange AJ Jr, Wilson IC, Lynn CW, Alltop LB, Stikeleather RA (1974) L-tryptophan in mania. Contribution to a permissive hypothesis of affective disorders. *Arch. Gen. Psychiatry* **30**: 56-62.
- Pujol JF, Keane P, McRae A, Lewis BD, Renauld B (1978) Biochemical evidence for serotonergic control of the locus coeruleus. Dans: *Interactions between putative neurotransmitters in the brain*. Eds. Garattini S, Pujol JF. Raven Press: New York. pp 401-410.
- Quintana J (1992) Platelet serotonin and plasma tryptophan decreases in endogenous depression: clinical, therapeutic and biological correlations. *J. Affect. Disord.* **24**: 55-62.
- Racagni G, Tinelli D, Binachi E, Brunello N, Perez J (1991) cAMP dependent binding proteins and endogenous phosphorylation after antidepressant treatment. Dans: *5-Hydroxytryptamine in Psychiatry*. Eds. Sandler M, Coppen A, Harnett S. Oxford Medical Publications: Oxford, UK. pp 116-123.

- Racagni G, Brunello N, Tinelli D, Perez J (1992) New biochemical hypotheses on the mechanism of antidepressant drugs: cAMP-dependent phosphorylation system. *Pharmacopsychiatry* **25**: 51-55.
- Ramamoorthy S, Prasad PD, Kulanthailev P, Leibach FH, Blakely RD, Ganapathy V (1993) Expression of a cocaine-sensitive norepinephrine transporter in the human placental syncytiotrophoblast. *Biochemistry* **32**: 1346-1353.
- Ramm P, Kulick JH, Stryker MP, Frost BJ (1984) Video and scanning microdensitometer-based imaging systems in autoradiographic densitometry. *J. Neurosci. Met.* **11**: 89-100.
- Ramm P (1990) Image analysis for bioscience. *Comput. Med. Imag. Graph.* **14**: 287-306.
- Rapport MM, Green AA, Page IH (1948a) Partial purification of the vasoconstrictor in beef serum. *J. Biol. Chem.* **174**: 735-741.
- Rapport MM, Green AA, Page IH (1948b) Serum vasoconstrictor (serotonin). IV. Isolation and characterisation. *J. Biol. Chem.* **176**: 1243-1251.
- Rapport MM (1949) Serum vasoconstrictor principle. *J. Biol. Chem.* **180**: 961-969.
- Raymond E, Badhai Z, Waters H, Kinzie S, Chan WL, Blake E, Evans MF, Chan D, Shaw E (1999) What's new in smoking cessation: Zyban. *Can. Fam. Physician* **45**: 633-634.
- Reader TA, Jasper HH (1984) Interactions between monoamines and other transmitters in cerebral cortex. Dans: *Monoamine Innervation of cerebral cortex*. Eds. Descarries L, Reader TA, Jasper HH. Allan R. Liss: New York. pp. 195-225.
- Reader TA, Brière R, Gottberg E, Diop L, Grondin L (1988) Specific [³H]SCH23390 binding to D1 receptors in cerebral cortex of the rat: evidences for heterogeneities in distribution and affinity states. *J. Neurochem.* **50**: 451-463.

- Reader TA, Strazielle C (1999). Quantitative autoradiography of monoamine uptake sites and receptors in rat and mouse brain. Dans: *Neuromethods: Cell Neurobiology Techniques* Vol. 33. Eds. Boulton AA, Baker GB, Bateson A. Humana Press: Totowa New Jersey, pp 1-51.
- Richelson E (1991) Biological basis of depression and therapeutic relevance. *J. Clin. Psychiatry*. **52**: (Suppl. 6) 4-10.
- Richelson E (1994) The pharmacology of antidepressants at the synapse: focus on newer compounds. *J. Clin. Psychiatry* **55**: (Suppl. A) 34-39; discussion 40-41.
- Richelson E (1996) Synaptic effects of antidepressants. *J. Clin. Psychopharm.* **16**: (Suppl 2) 1S-7S.
- Rickels D (1991) Venlafaxine: a new potent antidepressant agent with putative fast onset of action. *Biol. Psychiatry* **1**: 345-346.
- Roberts HJ (1990) Aspartame, tryptophan, and other amino acids as potentially hazardous experiments. *South. Med. J.* **83**: 1110-1111.
- Robertson MM, Trimble MR (1982) Major tranquilizers used as antidepressants. *J. Affect. Disord.* **4**: 173-193.
- Robinson D, Lovenberg W, Sjoerdsma A (1968) Subcellular distribution and properties of rat brain stem tryptophan hydroxylase. *Arch. Biochem. Biophys.* **123**: 419-421.
- Rogers AW (1979) *Techniques of autoradiography*. Elsevier / North Holland, New York.
- Room P, Postema F, Korf J (1981) Divergent axon collaterals of rat locus coeruleus neurons: a demonstration by a fluorescent double-labeling technique. *Brain Res.* **221**: 219-230.
- Rosenbaum JF, Fava M, Falk WE, Pollack MH, Cohen LS, Cohen BM, Zubenko GS (1990) The antidepressant potential of oral S-adenosyl-L-methionine. *Acta Psychiatr. Scand.* **81**: 432-436.

- Ross SB (1982) The characteristics of serotonin uptake systems. Dans: *Biology of Serotonergic Transmission*. Ed. Osborne NN. Wiley: Chichester. pp 159-195.
- Rothschild AJ, Samson JA, Bond TC, Luciana MM, Schildkraut JJ, Schatzberg AF (1993) Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and 1-year outcome in depression. *Biol. Psychiatry* **34**: 392-400.
- Rouquier L, Claustre Y, Benavides J (1994) α 1-Adrenoceptor antagonists differentially control serotonin release in the hippocampus and striatum: a microdialysis study. *Eur. J. Pharmacol.* **261**: 59-65.
- Saavedra JM (1977) Distribution of 5-HT and synthesizing enzymes in discrete areas of the brain. *Fed. Proc.* **3**: 2133-2148.
- Sadikot AF, Parent A (1990) The monoaminergic innervation of the amygdala in the squirrel monkey: an immunohistochemical study. *Neuroscience* **36**: 431-447.
- Schlayer A (1907) Zur frage drucksteigernder substanzen im blute bei chronischer nepritis. *Dtsch. Med. Wochenschr.* **43**: 1897-1901.
- Schliger B, Tolle R (1980) Partial sleep deprivation as therapy for depression. *Arch. Gen. Psychiatry* **77**: 267-271.
- Schildkraut JJ (1965) The catecholamine hypothesis of affective disorders : a review of supporting evidence. *Am. J. Psychiatry* **122**: 509-522.
- Schmidt CJ, Fadayel GM (1995) The selective 5-HT_{2A} receptor antagonist, MDL 100,907 increases dopamine efflux in the prefrontal cortex of the rat. *Eur. J. Pharmacol.* **273**: 431-447.
- Schömig E (1994) Extraneuronal transport of noradrenaline. *J. Auton. Pharmacol.* **14**: 9-10.

- Schweitzer I, Tuckwell V (1998) Risk of adverse events with the use of augmentation therapy for the treatment of resistant depression. *Drug Saf.* **19**: 455-464.
- Schweizer E, Weise C, Clary C, Fox I, Rickels K (1991) Placebo-controlled trial of venlafaxine for the treatment of major depression. *J. Clin. Psychopharmacol.* **11**: 233-236.
- Sen G, Bose KC (1931) Rauwolfia serpentina: a new indian drug for insanity and high blood pressure. *Indian Med. World* **11**: 194-201.
- Settle EC Jr, Ayd FJ Jr (1980) Trimipramine: twenty years worldwide clinical experience. *J. Clin. Psychiatry* **41**: 266-273.
- Shiah IS, Yatman LN (1998) GABA function in mood disorders: an update and critical review. *Life Sci.* **63**: 1289-1303.
- Shimada S, Kitayama S, Lin CL, Patel A, Nanthakumar E, Gregor P, Kuhar M, Uhl G (1991) Cloning and expression of a cocaine-sensitive dopamine transporter complementary DNA. *Science* **254**: 576-578.
- Shiman R, Akino M, Kaufman S (1971) Solubilization and partial purification of tyrosine hydroxylase from bovine adrenal medulla. *J. Biol. Chem.* **246**: 1330-1340.
- Shores MM, Szot P, Veith RC (1994) Desipramine-induced increase in norepinephrine transporter mRNA is not mediated via α_2 receptors. *Mol. Brain Res.* **27**: 337-341.
- Simon H, LeMoal M, Calas A (1979) Efferents and afferents of the ventral tegmental A10 region studied after local injections of 3H-leucine and horse radish peroxidase. *Brain Res.* **178**: 17-40.

- Sims KL, Bloom FE (1973) Rat brain L-3,4-dihydroxyphenylalanine and 5-L-hydroxytryptophan decarboxylase activity: differential effect of 6-hydroxydopamine. *Brain Res.* **49**: 165-175.
- Sjöqvist F, Taylor PW Jr, Titus E (1967) The effects of immunosympathectomy on the retention and metabolism of noradrenaline. *Acta Physiol. Scand.* **69**: 13-22.
- Smeraldi E, Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Perez J, Catalano M (1998) Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Mol. Psychiatry* **3**: 508-511.
- Sonders M, Amara SG (1996) Channels in transporters. *Curr. Opin. Neurobiol.* **2**: 294-302.
- Sorensen SM, Kehne JH, Fadayel GM, Humphreys TM, Ketteler HJ, Sullivan CK, Taylor VL, Schmidt CJ (1993) Characterization of the 5-HT₂ receptor antagonist MDL 100907 as a putative atypical antipsychotic: behavioral, electrophysiological and neurochemical studies. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **256**: 684-691.
- Speeter ME, Heinzelmann RV, Weisblat DI (1951) The synthesis of blood serum vasoconstrictor principle serotonin creatinine sulphate. *J. Am. Chem. Soc.* **73**: 5514.
- Stahl, SM (1998) Basic psychopharmacology of antidepressants, part 1: antidepressants have seven distinct mechanisms of action. *J. Clin. Psychiatry* **59**: Suppl. 4, 5-14.
- Stanley M, Virgilio J, Gershon S (1982) Tritiated imipramine binding sites are decreased in the frontal cortex of suicides. *Science* **216**: 1337-1339.
- Steinbusch HWM (1981) Distribution of serotonin immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell-bodies and terminals. *Neuroscience* **6**: 557-618.
- Stober G, Heils A, Lesch KP (1996) Serotonin transporter gene polymorphism and affective disorder. *Lancet* **347**: 1340-1341.

- Strazielle C, Lalonde R, Riopel L, Botez MI, Reader TA (1996) Regional distribution of the 5-HT innervation in the brain of normal and lurcher mice as revealed by [³H]citalopram quantitative autoradiography. *J. Chem. Neuroanat.* **10**: 157-171.
- Stumpf WE (1971) Autoradiographic techniques for the localization of hormones and drugs at the cellular and subcellular level. *Acta Endocrinol. Suppl.* **153**: 205-222.
- Sulser F (1983) Mode of action of antidepressant drugs. *J. Clin. Psychiatry* **44**: 14-20.
- Svensson TH, Dahlöf C, Enberg G, Hallberg H (1981) Central pre- and postsynaptic monoamine receptors in antidepressant therapy. *Acta Psychiatr. Scand.* **290**: (Suppl.) 67-78.
- Swanson LW, Hartman BK (1975) The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine b-hydroxylase as a marker. *J. Comp. Neurol.* **163**: 467-506.
- Szot P, Ashliegh EA, Kohen R, Petrie E, Dorsa DM, Veith RC (1993) Norepinephrine transporter mRNA is elevated in the locus coeruleus following short- and long-term desipramine treatment. *Brain Res.* **618**: 308-312.
- Takamine, J (1902) The isolation of the active principle of the suprarenal gland. *J. Physiol.* **27**: XXIX-XXX.
- Tassin JP, Lavielle S, Hervé D, Blanc G, Thierry AM, Alvarez C, Berger B, Glowinski J (1979) Collateral sprouting and reduced activity of the rat mesocortical dopaminergic neurons after selective destruction of the ascending noradrenergic bundles. *Neuroscience* **4**: 1569-1582.
- Tassin JP, Darracq L, Blanc G, Trovero F (1998) Integrating the monoamine systems. Dans: *Antidepressant therapy at the dawn of the third millenium*. Eds. Briley M, Montgomery SA. Martin Dunitz Ltd.: Londres, UK. pp 1-18.

- Tate GC, Blakely DR (1994) The effect of N-linked glycosylation on activity of the Na⁺- and Cl⁻-dependent serotonin transporter expressed using recombinant baculovirus in insect cells. *J. Biol. Chem.* **269**: 26303-26310.
- Tatsumi M, Groshan K, Blakely RD, Richelson E (1997) Pharmacological profile of antidepressants and related compounds at human monoamine transporters. *Eur. J. Pharmacol.* **340**: 249-258.
- Taylor SS, Buechler JA, Yonemoto W (1990) c-AMP-dependent protein kinase: framework for a diverse family of regulatory enzymes. *Ann. Rev. Biochem.* **59**: 971-1005.
- Tejani-Butt S (1992) [³H]Nisoxetine: a radioligand for quantitation of norepinephrine uptake sites by autoradiography or by homogenate binding. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **260**: 427-436.
- Tejani-Butt S, Brunswick DJ, Frazer A (1990) [³H]nisoxetine: a new radioligand for norepinephrine uptake sites in brain. *Eur. J. Pharmacol.* **191**: 239-243.
- Thakore JH, Dinan TG (1995) Cortisol synthesis inhibition: A new treatment strategy for the clinical and endocrine manifestations of depression. *Biol. Psychiatry* **37**: 364-368.
- Theohar C, Fischer-Cornelssen F, Brosch H, Fischer EK, Petrovic D (1982) A comparative, multicenter trial between bromocriptine and amitriptyline in the treatment of endogenous depression. *Arzneimittelforschung* **32**: 783-787.
- Törk I (1990) Anatomy of the serotonergic system. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **600**: 9-34, discussion 34-35.
- Ugedo L, Grenhoff J, Svensson TH (1989) Ritanserin, a 5-HT₂ receptor antagonist, activates midbrain dopamine neurons by blocking serotonergic inhibition. *Psychopharmacol.* **98**: 45-50.

- Unnerstall JR, Niehoff DL, Kuhar MJ, Palacios JM (1982) Quantitative receptor autoradiography using [³H]Ultrafilm: application to multiple benzodiazepine receptors. *Neurosci. Meth.* **6**: 59-73.
- Usdin BT, Mezey E, Chen C, Brownstein JM, Hoffman JB (1991) Cloning of the cocaine-sensitive bovine dopamine transporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**: 11168-11171.
- Van Moffaert M, Bartholomé F, Cosyns P, De Nayer AR (1995) A controlled comparison of sertraline and fluoxetine in acute and continuation treatment of major depression. *Human Psychopharmacol.* **10**: 393-405.
- Van Riezen H, Leonard BE (1991) The effects of psychotropic drugs on the behaviour and neurochemistry of olfactory bulbectomized rats. Dans: *Psychopharmacology of Anxiolytics and Antidepressants*. Ed. File SE. Pergamon Press: New York. pp 231-250.
- Vetulani J, Sulser F (1975) Action of various antidepressant treatments reduces reactivity of noradrenergic cyclic AMP-generating system in limbic forebrain. [lettre]. *Nature* **257**: 495-496.
- Vetulani J, Stawarz RJ, Dingell JV, Sulser F (1976) A possible common mechanism of action of antidepressant treatments: reduction in the sensitivity of the noradrenergic cyclic AMP generating system in the rat limbic forebrain. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **293**: 109-114.
- Vialli M, Ersprammer V (1933) Ricerche sul secreto delle cellule enterocromaffini. IX. Intorno alla natura chimica della sostanza specifica. *Boll. Soc. Med. Chir. Pavia* **51**: 1111.
- Villalon CM, Terron JA, Ramirez-San Juan E, Saxena PR (1995) 5-Hydroxytryptamine: considerations about discovery, receptor classification and relevance to medical research. *Arch. Med. Res.* **26**: 331-344.
- Von Euler US (1948) Sympathin E and noradrenaline. *Science* **107**: 422.

- Wamsley JK, Byerley WF, McCabe RT, McConnell EJ, Dawson TM, Grosser BI (1987) Receptor alterations associated with serotonergic agents: an autoradiographic analysis. *J. Clin. Psychiatry* **48**: Suppl., 19-25.
- Wamsley JK, Palacios JM (1983) Apposition techniques of autoradiography for microscopic receptor localization. Dans *Current Methods in Cellular Neurobiology*. Eds. Barker JL, McKelvy. Wiley: New York. pp. 153-174.
- Wang RY (1981) Dopaminergic neurons in the rat ventral segmental area. II. Effects of D- and L-amphetamine. *Brain Res. Rev.* **3**: 153-165.
- Watchel H (1989) Dysbalance of neuronal second messenger function in the etiology of affective disorders: a pathophysiological concept of hypothesizing defects beyond first messenger receptors. *J. Neural Transm.* **75**: 21-29.
- Wehr TA, Wirz-Justice A, Goodwin FK, Duncan W, Gillin JC (1979) Phase advance of the circadian sleep-wake cycle as an antidepressant. *Science* **206**: 710-713.
- Welner SA, deMontigny C, Desrochers J, Desjardin P, Suranyi-Cadotte BE (1989). Autoradiographic quantification of serotonin_{1A} receptors in rat brain following antidepressant drug treatment. *Synapse* **4**: 347-352.
- Winer BJ (1971) *Statistical Principles in Experimental Design*. 2ième edition. McGraw Hill Co, New York. pp 26-44, 210-220.
- Withby LG, Axelrod J, Weil-Malherbe H (1961) The fate of ³H-norepinephrine in animals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **132**: 193-201.
- Wolkowitz OM, Reus VI, Manfredi F, Ingbar J, Brizendine L, Weingarter H (1993) Ketoconazole administration in hypercortisolemic depression. *Am. J. Psychiatry* **150**: 810-812.

- Wong DT, Horng JS, Bymaster FP, Hauser KL, Molloy BB (1974) A selective inhibitor of serotonin uptake: Lilly 110140, 3-(p-trifluoromethylphenoxy)-N-methyl-3-phenylpropyl-amine. *Life Sci.* **15**: 471-479.
- Wong DT, Threlkeld PG, Best KL, Bymaster FP (1982) A new inhibitor of norepinephrine uptake devoid of affinity for receptors in rat brain. *J. Pharmacol. Exper. Ther.* **222**: 61-65.
- Wong DT, Reid LR, Bymaster FP, Trelkeld PG (1985) Chronic effects of fluoxetine, a selective inhibitor of serotonin uptake, on neurotransmitter receptors. *J. Neural Transm.* **64**: 251-269.
- Wong KL, Bruck RC, Farbman AI (1991) Amitriptyline mediated inhibitors of neurite outgrowth from chick embryonic cerebral explants involves a reduction in adenylate cyclase activity. *J. Neurochem.* **57**: 1223-1230.
- Wurtman RJ, Fernstrom JD (1975) Control of brain monoamine synthesis by diet and plasma amino acids. *Am. J. Clin. Nutr.* **28**: 638-647.
- Young EA, Vazquez D (1996) Hypercortisolemia, hippocampal glucocorticoid receptors, and fast feedback. *Mol. Psychiatry* **1**: 149-159.
- Zaimis E, Berk L, Callingham B (1965) Morphological, biochemical and functional changes in the sympathetic nervous system of rats treated with NGF-antiserum. *Nature* **206**: 1221-1222.
- Zhu MY, Ordway GA (1997) Down-regulation of norepinephrine transporters on PC12 cells by transporter inhibitors. *J. Neurochem.* **68**: 134-141.
- Zilles K (1985) *The Cortex of the Rat. A Stereotaxic Atlas*. Springer-Verlag, Berlin.