

Processus morphogénétiques

M. Alain PROCHIANTZ, membre de l'institut
(Académie des sciences), professeur

ENSEIGNEMENT

Cours : Maladies neurologiques et psychiatriques, un éclairage développemental (suite)

Périodes critiques, définitions

Au cours de l'année 2012-2013, nous avons continué notre réflexion sur ce que le développement et l'évolution du système nerveux peuvent nous apprendre sur l'étiologie des maladies neurologiques et psychiatriques^a. On trouvera dans le résumé de l'année précédente la logique sous-jacente à une telle démarche. Je n'y reviens pas sauf pour souligner que nous avons accepté les nombreuses données de la littérature suggérant que ce que nous appellerons « la schizophrénie » (sans remettre en cause l'hétérogénéité étiologique que recouvre ce terme) trouverait son origine dans un défaut de développement. Selon ce qui n'est qu'une hypothèse, ce défaut se concrétiserait aux alentours de l'adolescence au cours d'une période critique du développement du cortex préfrontal. J'utilise le terme de « concrétiser » pour souligner que, même si le phénotype apparaît à une période tardive du développement, cela ne veut pas dire que les « causes premières », par exemple une ou plusieurs mutations ou modifications épigénétiques, ne sont pas très précoces, voire héréditaires.

Par « période critique » on entend une période au cours de laquelle une région corticale se modifie morphologiquement et physiologiquement en fonction des informations qui lui parviennent. Un cas classique est fourni par la vision biloculaire. Chez la souris, cette vision s'installe entre le jour post-natal 20 (P20) et P40. Cela signifie que fermer un œil entre P20 et P40 rend la souris amblyope (les représentations corticales de cet œil régressent au profit de celles de l'œil resté ouvert). Cette plasticité n'opère ni avant P20, ni après P40 chez la souris. Pour les

a. Les enregistrements audio et vidéo du cours sont disponibles sur le site Internet du Collège de France : <http://www.college-de-france.fr/site/alain-prochiantz/course-2012-2013.htm> [Ndlr].

humains, les enfants ayant une cataracte monoculaire non opérée avant l'âge de six ans environ développent ce défaut de vision qui affecte entre 3 et 4 % de la population mondiale. Toutes les périodes critiques ne sont pas synchrones, comme l'illustrent les exemples de l'audition ou de l'apprentissage d'une langue étrangère (Bavelier, 2010). Pour ce qui est de la schizophrénie, l'hypothèse est que le cortex préfrontal ne s'adapte pas à la socialisation qui suit la maturation hormonale qui précède et accompagne l'adolescence. Cette hypothèse, explorée cette année, est sans aucun doute simplificatrice, mais néanmoins intéressante pour les recherches sur cette maladie. Car s'il s'agit bien d'une maladie de la période critique et s'il existe des mécanismes communs à toutes les périodes critiques – évolution oblige – alors la souris peut permettre de comprendre ces mécanismes et fournir un modèle animal d'étude de cette pathologie humaine.

C'est sur cette base que nous avons ouvert le cours sur la découverte par Hubel et Wiesel, prix Nobel de physiologie en 1981, de ce phénomène de plasticité physiologique et morphologique. Ce sont en effet ces deux chercheurs qui démontrent dès les années 1960 que la structure corticale est modifiée par l'expérience et qu'il existe des périodes au cours desquelles cette plasticité est maximale (Wiesel, 1963). Ces expériences sont menées sur le chat dont la structure du cortex visuel est proche de celle des humains. La structure du cortex visuel est très différente chez la souris avec, en particulier, une organisation plus dispersée et non organisée en une alternance de colonnes corticales répondant à chaque œil. Mais sur le principe d'une plasticité temporaire et sur les mécanismes impliqués, il existe une très grande convergence entre tous les mammifères et, pour le système visuel comme pour les autres modalités sensorielles, motrices ou cognitives, la souris s'est imposée comme modèle du fait de l'importance des approches génétiques.

Périodes critiques, neurones à parvalbumine

Pour ce qui est des mécanismes, nous avons deux séries parallèles de phénomènes. Un premier phénomène consiste en une modification morphologique avec diminution des territoires couverts par l'œil temporairement fermé (temporairement mais pendant la période critique) ce qui se traduit par une perte de l'acuité visuelle de cet œil. Parallèlement, le territoire couvert par l'autre œil augmente. Cette modification morphologique s'accompagne d'une modification physiologique qui est la conséquence d'un défaut de maturation d'une classe particulière de neurones GABAergiques inhibiteurs, appelés « cellules en panier à décharge rapide ». Ces cellules synthétisent une protéine spécifique, la parvalbulmine (PV), ont une forme en panier, et sont appelées « cellules PV » ou « *PV basket* », termes que j'utiliserai par la suite (Hensch, 2005). Pour aller très vite, la période critique s'ouvre au moment de la maturation de ces neurones et se ferme quand ils sont pleinement matures ce qui correspond, chez la souris et pour le cortex visuel binoculaire, à la période P20-P40.

Ces neurones sont donc locaux, inhibiteurs et forment des synapses sur les neurones pyramidaux excitateurs glutamatergiques. Ces derniers sont les neurones de sortie et ont aussi une connexion réciproque avec les cellules PV. Cette disposition crée donc une boucle où les neurones pyramidaux activent les neurones inhibiteurs qui en retour inhibent les activateurs. Le GABA libéré par les cellules PV interagit avec des récepteurs de type alpha-1 présents sur les corps cellulaires des neurones pyramidaux. Du fait de la désensibilisation rapide de ces récepteurs, une oscillation de haute fréquence (entre 40 et 80 Hz correspondant à la bande gamma) se met en

place au cours de la période critique quand l'équilibre entre excitation et inhibition (E/I) se déplace en faveur de l'inhibition (maturation des cellules PV inhibitrices) (Hensch, 2005) (Alitto, 2010). J'y reviendrai à propos des modèles cognitifs, mais ces oscillations dans la bande gamma sont un signe d'une activité physiologique et cognitive soutenue. Par ailleurs, elles impliquent une libération et une recapture des ions au rythme des dépolarisations et repolarisations membranaires et nécessitent une activité soutenue de la Na/K-ATPase, donc une très forte production d'ATP. Le métabolisme énergétique des cellules PV est donc très élevé et un manque métabolique peut avoir des conséquences physiologiques graves, y compris dans le domaine des maladies neurologiques et psychiatriques.

Si l'on constate que la maturation de ces cellules PV régule l'adaptation du cortex cérébral à l'environnement, on comprendra l'intérêt d'étudier les mécanismes présidant à cette maturation. Il est impossible de tous les passer en revue dans ce résumé et je vais m'attarder seulement sur deux molécules qui jouent un rôle important. La première est le « *Brain Derived Neurotrophic Factor* » ou BDNF et la seconde est Otx2, un facteur de transcription et un morphogène. Le BDNF est un facteur de croissance de la famille des neurotrophines qui a de multiples fonctions au cours du développement et joue un rôle dans la maturation des cellules PV (Huang, 1999). Ce facteur synthétisé par les cellules pyramidales agit directement sur la maturation des cellules PV *via* son récepteur spécifique TrkB. Interférer génétiquement avec la transduction du signal BDNF joue directement sur la maturation des neurones inhibiteurs sans toucher aux neurones excitateurs (d'où un *shift* de la balance E/I) Cela a été particulièrement bien étudié dans le cortex sensoriel primaire dont la période critique, chez la souris, s'étend de P7 à P30.

Pour Otx2, il s'agit d'un travail de mon laboratoire, en collaboration avec celui dirigé par Takao Hensch à l'université de Harvard. Primitivement, ce travail se place dans le contexte du transfert entre cellules de facteurs de transcription de la classe des homéoprotéines, le cas – entre autres – d'Otx2. Pour des raisons que je ne développe pas, nous avons étudié l'expression d'Otx2 dans le cortex visuel en relation avec la maturation des cellules PV dont je viens de rappeler le rôle dans l'ouverture de la période critique. Cette maturation, je le rappelle, ouvre la période critique à P20 chez la souris puis la ferme à P40 quand les cellules sont quasiment adultes dans le cortex visuel primaire. Nous avons constaté l'expression parallèle d'Otx2 et de PV entre P20 et P40, ce qui est étonnant puisque le locus Otx2 n'est pas actif dans le cortex. Cela signifie que la protéine est d'origine non corticale et capturée par les cellules PV au moment de l'ouverture de la période critique. Nous avons alors démontré que l'internalisation d'Otx2 induit la maturation des neurones et l'ouverture de la plasticité à P20, puis que son accumulation au-delà d'un certain seuil à P40 ferme cette plasticité. On peut donc dire qu'Otx2 est nécessaire et suffisant pour ouvrir à P20 et fermer à P40, une période de plasticité corticale pour la vision binoculaire (Sugiyama, 2008).

Peri-neuronal nets et Otx2

La maturation des cellules PV est marquée par l'augmentation de la synthèse de parvalbumine, ou de certains canaux (canaux potassiques dépendants du voltage (Kv3.1)) ou des enzymes de synthèse du GABA, neuromédiateur inhibiteur. Un autre « marqueur » de la maturation des cellules PV est la synthèse ou l'assemblage de structures matricielles complexes qui les entourent et qu'on appelle, depuis

Camilo Golgi, les peri-neuronal nets ou PNN. Ces PNN découverts par Golgi il y a un peu plus de cent ans avaient été rangés au rayon des artefacts (Cajal n'y est pas pour rien) avant d'être redécouverts dans les années 1960 (Celio, 1998). Il devient clair alors qu'ils sont composés de molécules chargées négativement, en particulier de glycosaminoglycans (GAG). L'existence d'une matrice extracellulaire s'est désormais imposée et les différents éléments des PNN ont été caractérisés, même si nous sommes loin de tous les connaître ou surtout de comprendre la diversité de ces ensembles qui ne sont probablement pas identiques entre les différents types cellulaires et qui évoluent au cours du temps. Parmi les fonctions supposées des PNN, on peut citer : la stabilisation des synapses, la cohésion du tissu nerveux, la concentration de certains facteurs autour des neurones, la mise en place d'un microenvironnement anionique dont le rôle serait de tamponner les cations, la formation d'un lien avec le cytosquelette interne.

Pour ce qui est d'Otx2, nos travaux et ceux d'un collègue japonais, Hiroshi Kitagawa ont démontré que des sucres complexes de la famille des GAG (des chondroïtines disulfatés) présents dans le PNN agissent comme des sites de fixation à Otx2 et permettent à ce facteur d'être spécifiquement internalisé par les cellules PV (Beurdeley, 2012), (Miyata, 2012). Le schéma le plus probable aujourd'hui est que l'activité visuelle vers P14 (l'âge auquel les yeux s'ouvrent chez la souris) provoque l'assemblage des PNN et la capture d'Otx2 par les cellules. Cette capture à son tour amplifie l'expression et/ou l'assemblage des PNN et la maturation des neurones. Cela signifie qu'Otx2 contient un domaine de fixation aux GAG. Ce domaine a été identifié (Beurdeley, 2012), point qui a une conséquence importante pour la suite de l'histoire qui concerne non pas l'installation puis la disparition de la plasticité au cours de la période critique, mais comment on peut la faire réapparaître chez l'adulte.

Plasticité adulte, généralités

Avant de s'engager dans cette voie, le cours s'est interrogé sur la plasticité normale chez l'adulte. Un point important est que la plasticité adulte n'est probablement pas un reste de plasticité développementale mais un processus physiologiquement distinct ; ce qui veut dire qu'apprendre chez l'adulte et apprendre au cours du développement sont des choses différentes. Cela peut avoir son intérêt quand nous parlons de cognition mais aussi des maladies de la dégénérescence qui ne sont pas forcément des maladies d'un développement qui se poursuit chez l'adulte. Par exemple, le Parkinson ou l'Alzheimer sont/seraient des pathologies de la dégénérescence quand l'amblyopie et la schizophrénie sont/seraient des maladies du développement cérébral. Bref, il y aurait plasticité et plasticité. C'est en tout cas une possibilité à considérer, ce qui n'exclut pas que des mécanismes communs soient partagés par les deux types de plasticité. Si soigner les maladies du développement cérébral passe par une réouverture de la plasticité, alors la bonne stratégie n'est pas forcément de renforcer un mécanisme de plasticité adulte. On pencherait plutôt sur la réouverture d'une plasticité développementale.

Pour en venir à la réouverture de la plasticité, je me suis appuyé sur la guérison (chez la souris) de l'amblyopie considérée comme une maladie du développement cérébral. Je me suis référé à plusieurs travaux qui proposent des stratégies différentes mais convergentes. Il existe en effet différentes façons de manipuler la plasticité chez l'adulte et/ou de rouvrir une période critique. Cette diversité illustre que nous sommes dans un système physiologique à plusieurs entrées et niveaux de régulation.

C'est pourquoi les états pathologiques rassemblés sous le phénotype schizophrénie peuvent avoir de nombreuses causes, ce qui interdit une vision simpliste de leur origine. Le premier article discuté par Bavelier et ses collègues pose le problème général de la réouverture de la plasticité (Bavelier, 2010). Pour ces auteurs, il existe deux types principaux de frein à cette réouverture. Le premier est l'apparition de nouvelles structures accompagnant la maturation du système nerveux, par exemple la myéline ou les PNN. Le second relève des changements fonctionnels qui se traduisent par une modification de la balance E/I qui contrôle directement le potentiel de plasticité des réseaux de neurones. Une conception assez nouvelle qu'on peut introduire est que le cerveau serait intrinsèquement plastique et que la stabilisation, en fin de période critique, des réseaux de neurones construits au cours du développement correspondrait à une répression de cette plasticité.

Au cours de la maturation, la balance E/I se déplace en faveur de l'inhibition et accompagne la stabilisation des réseaux. Une fois stabilisés, ces réseaux peuvent être modifiés en particulier à travers la mobilité des épines dendritiques. C'est un phénomène essentiellement homéostatique qui implique des facteurs intrinsèques et des facteurs qui sont sécrétés par les cellules gliales, comme le TNF-alpha ou la cascade du complément (cours de 2010 et 2011). D'ailleurs, une des premières approches permettant de réintroduire de la plasticité a consisté à greffer (en 1989) des astrocytes immatures dans le cortex visuel adulte. Bref, il faut distinguer la mise en place de nouvelles connexions sous les contrôles structuraux (myéline, PNN) de la modification fonctionnelle directe de la balance E/I. Sans oublier un lien possible entre les deux. Ce n'est pas forcément l'un ou l'autre. Par exemple la perte des PNN lève peut être un frein structurel mais a aussi une conséquence physiologique directe sur la balance E/I. Mais pour en rester à la « physiologie pure », il semble que jouer sur les neuromédiateurs, acétylcholine ou sérotonine peut rouvrir une période de plasticité.

Rouvrir la plasticité chez l'adulte

Je prendrai pour commencer l'exemple de la protéine Lynx1. L'article sur lequel je m'appuie fait appel à une approche pharmacologique (Morishita, 2010). C'est important car il y aurait un avantage évident à utiliser des médicaments connus, tout particulièrement des médicaments déjà approuvés par les agences de mise sur le marché. De ce point de vue, on doit être intéressé par les éléments régulateurs que sont la dopamine (DA), la noradrénaline (NE) ou l'acétylcholine (ACh) dont la pharmacopée est riche. L'ACh irradie sur l'ensemble du cortex au même titre que la DA et la NE. Lynx1 est une prototoxine endogène qui se fixe au récepteur cholinergique nicotinique. Son expression dans le cortex visuel (plutôt dans la couche 4) et dans le thalamus dorsal (qui projette sur le cortex visuel) augmente après la période critique. Une souris KO pour *Lynx1* (le gène est invalidé) se développe normalement, mais si on impose une privation monoculaire brève (quatre jours) chez l'adulte, on observe un léger *shift* de dominance oculaire marquant une plasticité résiduelle supérieure à la normale.

Lynx1 se fixe aux récepteurs nicotiniques et réduit leur sensibilité à l'ACh. D'où l'idée de mesurer les VEP (potentiel évoqué par la vision) chez les souris normales et les souris KO. En réponse à la nicotine, ce potentiel évoqué augmente chez la souris KO (la sensibilité à la nicotine est accrue) et, de façon spectaculaire, la plasticité adulte observée chez le mutant est perdue dans tous les protocoles qui « antagonisent » la réponse nicotinique. Afin de répondre à la question des

conséquences thérapeutiques, les auteurs ont fabriqué une souris KO amblyope en fermant un œil pendant la période critique. Normalement cette opération chez le sauvage conduit à une perte irréversible de l'acuité visuelle de l'œil fermé pendant la période critique. Chez le mutant, on constate une récupération spontanée de l'acuité visuelle. D'où l'expérience qui a consisté à rouvrir la plasticité chez l'adulte en administrant de la physostigmine, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, une enzyme qui dégrade l'ACh et augmente donc sa concentration. Pour vérifier si les effets obtenus sont liés à une modification de l'équilibre E/I (en faveur de E), les auteurs ont infusé directement une benzodiazépine et observé que cette opération qui augmente les effets inhibiteurs du GABA abolit la plasticité chez le KO *Lynx1*, ce qui confirme une implication de la balance E/I. Une approche similaire suggère que les antidépresseurs qui bloquent la recapture de la sérotonine et la noradrénaline (et augmentent leur concentration) ont aussi un rôle dans la plasticité adulte et je renvoie les lecteurs intéressés aux papiers du groupe de Lamberto Maffei (Spolidoro, 2009).

C'est à ce même groupe qu'on doit l'observation du rôle des PNN dans la régulation de la plasticité corticale (Pizzorusso, 2002). Partant de l'hypothèse d'un frein structural à la plasticité lié à l'action inhibitrice des PNN sur le remodelage des axones et des dendrites, les auteurs injectent de la chondroitinase ABC (chABC) afin de détruire les GAG. Ils observent un effet sur la plasticité chez l'adulte et concluent que la dégradation des PNN permet des réarrangements morphologiques. Nous avons proposé une autre explication, non forcément en contradiction avec celle des réarrangements, qui propose un mécanisme moléculaire fondé sur l'internalisation d'Otx2 par les cellules PV. En effet, Otx2 est capturé par ces cellules tout au long de la vie et la reconnaissance des PNN est une étape importante de son internalisation. Nous avons donc postulé que la destruction des GAG induisait une perte d'internalisation d'Otx2 et une réouverture de la plasticité. En utilisant le domaine de reconnaissance des GAG présent dans Otx2 comme inhibiteur compétitif de son internalisation, nous avons montré que diminuer le contenu des cellules PV en Otx2 rouvre la plasticité chez l'adulte et rend une acuité visuelle normale à des souris amblyopes (Beurdeley, 2012). Cette expérience démontre que l'état plastique est un état de base réprimé chez l'adulte par la capture d'Otx2 et réinstallé dès que le niveau d'Otx2 baisse dans les cellules PV.

Mais, comme je l'ai indiqué plus haut, la plasticité corticale ne concerne pas uniquement la vision. Dans cet ordre d'idées, il est intéressant de constater la présence d'Otx2 dans les cellules PV de l'ensemble des aires corticales, ce qui suggère une origine ubiquitaire de cette protéine. Sur cette base, nous avons recherché une telle origine ubiquitaire et observé qu'Otx2 est très fortement exprimé dans le plexus choroïde, une structure dont les fonctions connues sont la sécrétion du liquide céphalo-rachidien (LCR) et sa détoxification. Pour aller vite : nous avons alors recombiné le gène *Otx2* dans le plexus choroïde, et montré que cela diminue son contenu dans les cellules PV et rouvre la plasticité dans le cortex visuel (Spatazza, 2013). Nous formons évidemment l'hypothèse que tel est aussi le cas pour les régions corticales autres, ce qui amène à formuler un certain nombre d'hypothèses sur le rôle de cette voie dans le fonctionnement du cortex cérébral et dans la coordination physiologique de ses parties. De telles hypothèses permettent de réintroduire les maladies de la cognition, à commencer par les maladies psychiatriques. Pour des raisons qui apparaîtront dans les lignes qui suivent, cette réintroduction a été faite à partir de développements sur les oscillations cérébrales telles qu'elles furent observées primitivement par les électro-encéphalogrammes (EEG).

Oscillations, définitions

Pour aborder cette question je suis parti d'une revue dans laquelle il est rappelé que les réseaux de neurones ont tendance à s'engager dans des activités oscillatoires (Uhlhaas, 2010). Hans Berger (1873-1941) fut un des premiers à enregistrer, chez l'humain, des rythmes cérébraux sous la forme d'une mesure de l'activité électrique à travers le crâne de volontaires sains et éveillés. On lui doit aussi la nomenclature actuelle marquée par l'alphabet grec. L'activité rythmique d'un EEG est en général divisée en cinq fréquences majeures :

- Delta (0-3 Hz) ;
- Thêta (4-7 Hz) ;
- Alpha (8-12 Hz) ;
- Béta (13-30 Hz) ;
- Gamma (30-200 Hz).

L'EEG est un outil très utilisé dans l'étude des fonctions cérébrales et les recherches cliniques sur les maladies neurologiques et psychiatriques. Plus récemment la magnétoencéphalographie (MEG) s'est développée, augmentant considérablement la résolution spatiale des enregistrements extra-craniaux et, de ce fait, la détectabilité des oscillations de haute fréquence et de basse amplitude. On distingue deux types d'oscillations. Celle qui sont auto générées, encore dites oscillations induites (le terme est trompeur), doivent être analysées de façon unitaire car elles varient dans leur latence (latence de 150 à 400 ms) et il est difficile de les moyennner. À l'inverse, les oscillations évoquées par un stimulus sont dites « *phase-locked* ». On les mesure en moyennant les réponses qui se font avec une latence courte de 50 à 150 ms (elles sont en phase).

Nous avons essentiellement discuté les oscillations béta et gamma. Leurs localisations anatomiques sont variées mais se recoupent et les systèmes de neuromédiateurs impliquent souvent un couple glutamate/GABA avec un contrôle par une amine cérébrale (ACh, DA, 5HT). Il existe un lien entre oscillations et computations cérébrales. Par exemple, les oscillations dans les zones béta et gamma (30-80 Hz) permettent de synchroniser des réponses neurales distribuées. En effet, les décharges des neurones n'ont pas la même probabilité selon la position dans la fluctuation du potentiel local de champ (*Local Field Potential* ou LFP) dont l'oscillation définit, de ce fait, une probabilité de décharge. Le décalage entre les côtés pré- et post-synaptiques qui dépendent de ces probabilités est important dans la mise en place des potentiations ou dépressions à long terme, donc dans la mémorisation de la trace. Plus largement, ces oscillations ont un rôle de synchronisation neuronale dans un champ local mais aussi entre différents champs avec ce que cela implique au niveau cognitif.

Oscillations dans la bande gamma

Les oscillations gamma (> 30 Hz) sont retrouvées dans pratiquement toutes les structures cérébrales. Les premières indications d'un rôle fonctionnel de ces oscillations gamma ont été fournies par des études sur le cortex visuel primaire du chat (Gray et Singer) qui démontrent que ces oscillations interviennent dans l'association de stimulus distincts permettant de générer une représentation cohérente d'un objet. Au-delà des systèmes sensoriels, les oscillations gamma sont impliquées dans les fonctions cognitives supérieures comme la mémoire, à la fois

la mémoire de travail (celle qu'on utilise de façon transitoire dans l'exécution d'une tâche) mais aussi la mémoire à long terme, la conscience et des phénomènes cognitifs comme le langage. Sur le plan synaptique, ces oscillations ont un rôle dans le « *gating* » de la plasticité synaptique avec une résolution de l'ordre de la milliseconde (décalage temporel entre les activités pré- et post-synaptiques).

L'activité des oscillations a été très étudiée dans les cas de schizophrénie et des anomalies ont été notées de façon quasi systématique avec une puissance réduite en EEG à 40 Hz (mais pas en dessous) et un délai dans les phases de synchronisation et de désynchronisation (Uhlhaas, 2009 ; Uhlhaas, 2012). Ces anomalies ne sont pas limitées aux patients chroniques et se retrouvent dans les parents de premier degré, chez les adolescents ayant un désordre psychiatrique et au cours du premier épisode pathologique (premières hallucinations par exemple). Il ne s'agit donc pas d'un artefact lié à la prise de médicaments. Elles se retrouvent pratiquement à tous les niveaux : auditif, visuel, mémoire de travail, calcul mental, *Wisconsin card sorting* (test cognitif qui consiste à suivre les réactions d'un sujet à des changements dans la règle de classement de cartes à jouer), etc. Le fait que les anomalies se retrouvent à tous les niveaux suggère soit une anomalie à chacun des niveaux, soit une anomalie dans un système qui régule l'ensemble des niveaux locaux. Les deux possibilités ne sont pas forcément exclusives et certaines théories concernant ces maladies avancent l'hypothèse que leur noyau dur est une déconnection entre les aires corticales (phénomène global) et à l'intérieur de ces aires (phénomène local). Le déficit des oscillations pourrait être le corrélât fonctionnel de cette fragmentation des réseaux de neurones, évoquant la fragmentation de l'activité cognitive et comportementale des patients. On peut évoquer ici les défauts de myélinisation (phénomène tardif qui accélère la mise en contact de deux ou plusieurs régions du cerveau) mais aussi d'autres facteurs comme un nombre insuffisant de neurones (déficit de neurogenèse ou augmentation de la mort neuronale), une connectivité synaptique diminuée (neurogenèse, guidage axonal, etc.), une synchronie réduite...

Des anomalies de synchronisation sont retrouvées dans d'autres maladies psychiatriques ou neurologiques, dont l'autisme et la maladie d'Alzheimer. Bien que des recouvrements soient possibles entre ces différentes nosologies (il s'agit de cognition), des différences développementales très fortes existent entre elles, les symptômes de schizophrénie apparaissant à la fin de l'adolescence, l'autisme de façon très précoce et la maladie d'Alzheimer de façon tardive. D'où l'intérêt de rechercher, pour la schizophrénie, des causes possibles de perturbation de la synchronie qui soient spécifiques du développement tardif – sans négliger un possible cercle vicieux dans la mesure où de tels désordres tardifs pourraient être la conséquence et non la cause des oscillations anormales. Mais il faut bien commencer quelque part et c'est pourquoi nous nous sommes intéressés aux maturations tardives pouvant jouer un rôle dans la génération des oscillations neurales, tout particulièrement la maturation des interneurons GABAergiques (cellules PV) et des interactions entre ces neurones et les neurones glutamatergiques.

Neurones à parvalbulmine (PV) et oscillations

Ce qui nous a amené à monter vers le cortex à travers deux revues récentes qui ciblent directement la fonction des interneurons PV dans la dysfonction d'ordre cognitif observée dans la schizophrénie (Lewis, 2012 ; Lewis, 2011). Les auteurs rappellent qu'après une période où on se focalisait préférentiellement sur les

syndromes positifs (hallucinations, délires) ou négatifs (retrait social), les praticiens prennent de plus en plus au sérieux les troubles d'ordre cognitif associés aux schizophrénies. De fait, ces troubles semblent précéder les premiers épisodes et leur intensité donne une échelle des chances de récupération. Les activités cognitives impliquées engagent pour une grande part le cortex préfrontal dorso-latéral (DLPFC) et les fréquences gamma (30-80 Hz). D'où l'intérêt de constater leur perte de puissance dans le DLPFC des patients. Les oscillations gamma nécessitent une inhibition forte, mais transitoire, des neurones GABA, ce qui implique ces neurones dans certains symptômes. Les auteurs nous rappellent que l'inhibition des récepteurs GABA_A exacerbe les symptômes chez les sujets malades à des doses sans effet sur des individus bien portants et réduit les oscillations gamma. Ce rôle des neurones inhibiteurs dans un circuit E/I peut être expliqué très simplement. Les neurones GABA inhibent les neurones glutamatergiques en agissant sur un récepteur GABA_A exprimé par les neurones excitateurs. Cette inhibition est transitoire du fait de la désensibilisation du récepteur, et les neurones glutamatergiques déchargent de nouveau et dépolarisent les neurones GABA qui inhibent de nouveau les neurones glutamatergiques etc., d'où la mise en place d'une oscillation.

Les cellules GABA à parvalbumine se partagent en deux populations principales, les cellules en chandelier et les cellules en panier. Les cellules en chandelier innervent le segment initial de l'axone (AIS) des neurones pyramidaux, et les cellules en panier (*PV basket*) ont des terminaisons sur le soma et les dendrites proximaux de ces mêmes cellules. Ces positions permettent aux deux types cellulaires de bloquer les sorties pyramidales. Sur ce critère, avantage aux *PV chandelier* qui peuvent bloquer la sortie. En fait, il n'en est rien car ces cellules, contrairement à toute attente, ne sont pas inhibitrices mais excitatrices. Un tel effet paradoxal est sans doute lié à une faible expression (au niveau de l'AIS) des transporteurs (KCC2) qui rejettent le chlore. La forte concentration intracellulaire de chlore qui en résulte modifie les équilibres ioniques et pourrait donc expliquer l'effet dépolarisant local des chandeliers. Je dis « pourrait » parce que, dans l'hippocampe, les deux types de neurones GABA hyperpolarisent (inhibition) les pyramidales malgré l'innervation sur l'AIS et une faible expression de KCC2 au niveau de l'AIS. Il faut donc sans doute creuser pour comprendre les différences entre les deux systèmes (cortex et hippocampe).

En fait, il y a trois types d'interneurones GABA, les deux que je viens de rappeler et les neurones à cholecystokinine (CCK). Ces trois populations présentent des différences fonctionnelles importantes ; les cellules CCK expriment le récepteur CB1 (CB1R) aux cannabinoïdes et le neuropeptide CCK. Par ailleurs, elles ont beaucoup plus de GAD65 que de GAD67 (je rappelle que GAD65 dans les terminaisons est responsable de la synthèse locale et dynamique de GABA). Ce rapport GAD67/65 est très fort dans les chandeliers, ce qui n'est pas en faveur d'un rôle important de ces cellules pour une régulation dynamique. Les PV ont un rapport équilibré entre les deux enzymes ce qui les place en bonne position pour une telle régulation. Il est assez logique sur le plan fonctionnel que la perte de GAD65 ait des effets sur la transmission à des fréquences élevées de stimulation (> 30 Hz) mais pas à des fréquences faibles. Par ailleurs en absence de GAD65, les PV n'ouvrent pas la période critique. La perte de GAD67 est, pour sa part, létale. Du coup le rapport équilibré GAD67/65 des *PV basket* leur donne peut-être un avantage s'il s'agit de libérer le GABA de façon répétitive, propriété nécessaire à la génération des ondes gamma.

Cet avantage aux *PV basket* dans la génération des oscillations gamma est renforcé par le type de récepteurs GABA_A au niveau desquels ils libèrent le GABA. En effet, l'inhibition des cellules pyramidales doit être compatible avec la période de l'oscillation. Or, la sous-unité alpha-1 produit des courants qui s'éteignent plus rapidement que ceux générés par les récepteurs ayant d'autres sous-unités, en particulier les alpha-2 des *CCK basket* et des *PV chandelier*. Cette extinction plus rapide est compatible avec les oscillations gamma. Enfin, les *PV basket* produisent une libération synchrone de GABA par potentiel d'action pré-synaptique ce qui les distingue des libérations multiples et asynchrones liées pour les autres neurones GABA à leur inhibition de longue durée (persistance de l'effet inhibiteur alpha-2). Finalement ce sont les enregistrements électro-physiologiques eux-mêmes qui démontrent le couplage des décharges des PV aux oscillations gamma, les autres neurones étant plutôt couplés aux oscillations thêta, beaucoup plus lentes.

Hypothèse développementale des maladies psychiatriques

Je saute de longs développements et propose de continuer de réfléchir autour de l'idée d'une période critique tardive dans le DLPFC et des difficultés rencontrées par certains adolescents dans ce passage, ce pour des raisons qui peuvent être, une fois de plus, multiples et différentes selon les patients. Dans ce cadre, j'ai présenté les résultats d'une étude de 2009 de Uhlhaas et ses collègues (Uhlhaas, 2009). Ces auteurs rappellent que les études sur le développement psychologique du cerveau se sont concentrées sur les périodes périnatales alors que le développement cérébral et sa susceptibilité à des influences épigénétiques s'étend bien au-delà des périodes post-natales précoces et, chez l'humain, ne prennent fin que vers la vingtième année. Déjà sur le seul plan anatomique, on constate que le volume et l'organisation de la matière blanche augmente de façon continue alors que celui de la matière grise après avoir augmenté dans les premières années de la vie décroît ensuite progressivement (Insel, 2010). Sur le plan physiologique, il semble acquis que les interactions entre les systèmes DA et NMDA au niveau du PFC ne se mettent en place qu'après l'adolescence et, peut-être plus important encore, que la neurotransmission GABA devient mature très tardivement.

Ces données ont forcément des conséquences fonctionnelles et on peut les mettre en relation avec le fait que les désordres psychologiques de type schizophrénie à l'origine de troubles émotionnels et cognitifs de longue durée se produisent le plus souvent à la transition entre adolescence et âge adulte. Les auteurs partent donc de l'idée de l'importance du développement tardif dans le DLPFC en prenant comme marqueur les oscillations et leur synchronie (EEG) évoquées par des tâches chez des enfants, des adolescents et des adultes. La relation entre synchronie et maturation a été testée grâce à des figures de Mooney (faces fortement contrastées qu'il faut un certain temps pour reconnaître) qui induisent une activité cognitive de reconnaissance de la figure dans la position normale ou inversée. La perception de figures de Mooney s'accompagne d'une synchronisation des oscillations dans les bandes thêta (4-7 Hz) et gamma (> 30 Hz). Le point important est que le temps de réaction dans l'adolescence tardive est supérieur de 100 à 150 ms à celui observé chez l'adolescent jeune et l'adulte.

L'EEG démontre donc que les oscillations dans les bandes thêta et gamma augmentent fortement chez les adultes et que la force des oscillations gamma dans l'adolescence tardive est inférieure à celle qu'on peut enregistrer dans l'adolescence précoce et chez l'adulte. Les auteurs ont ensuite considéré la synchronie des phases,

mesure directe de la synchronisation, indépendamment de l'amplitude du signal. Cette synchronie est aussi une mesure des corrélations entre des groupes neuronaux qui sont au moins à 2 cm de distance, reflétant ainsi les coordinations à longue distance quand le pouvoir spectral reflète les synchronisations plus locales (1 cm). De façon similaire à la puissance spectrale, l'augmentation de la synchronie est induite par la tâche cognitive. Au cours du développement, on observe une augmentation de la synchronie de phase pour les oscillations dans la zone thêta, bêta et gamma (mais pas pour alpha, 8-12 Hz). Ce *pattern* de développement est similaire à celui observé pour la puissance gamma et, de nouveau, durant l'adolescence tardive, on voit une baisse transitoire de la synchronie particulièrement forte dans la bande bêta et aussi dans la bande thêta. Ces résultats suggèrent une réorganisation des réseaux fonctionnels pendant l'adolescence tardive associée à une déstabilisation transitoire des fonctions et, peut-être, une période de vulnérabilité supérieure à cette période précise du développement.

Oscillations et métabolisme

Au cours des deux années passées sur ce même thème, il a souvent été question de la composante métabolique possible des maladies neurologiques et psychiatriques. Ce faisant, nous avons braqué les projecteurs sur les plus grands consommateurs d'énergie. D'abord, les neurones à longues projections comme les neurones cholinergiques, dopaminergiques et 5HT qui couvrent le cortex entier de leurs terminaisons et dont on peut penser qu'ils ont une fonction dans la coordination, ou la synchronisation du cortex. Ensuite, les neurones à décharge rapide, dont les neurones *PV basket*. Nous reviendrons sur ces neurones quand je proposerai une hypothèse plus personnelle. Mais avant, il me faut considérer l'hypothèse d'un lien entre les oscillations, en particulier les oscillations gamma, et la dépense énergétique. Je vais le faire à travers des articles qui me semblent poser le problème assez correctement.

Le premier article de Huchzermeyer et ses collègues (Huchzermeyer, 2008) démontre que les oscillations gamma et l'activité spontanée des réseaux neuronaux dans l'hippocampe sont sensibles à la baisse de la pression partielle d'oxygène (pO_2). Le point de départ est que les oscillations rapides des réseaux neuronaux que l'on retrouve dans toutes les régions du cerveau fournissent une base temporelle aux hautes fonctions cérébrales comme la mémorisation, le décodage de l'information sensorielle, voire la conscience. À l'inverse, des défauts dans la mise en place ou le maintien de ces oscillations pourraient être à l'origine de troubles cognitifs et de désordres psychiatriques. Dans la région CA3 de l'hippocampe, prise ici comme modèle, les oscillations gamma sont générées par l'interaction entre les neurones glutamatergiques pyramidaux et les interneurons à GABA à décharge rapide. Ces oscillations rapides nécessitent une activation des ATPase Na^+/K^+ qui permettent de restaurer les gradients ioniques et de maintenir l'excitabilité. D'où l'hypothèse raisonnable que les oscillations gamma dépendent de façon critique de la fourniture d'ATP aux neurones. Cette évidence est attestée par des travaux montrant que les oscillations gamma et l'hémodynamique (action du sang apportant l'oxygène) sont hautement corrélées. Il est donc important de comprendre le lien entre les oscillations gamma et le métabolisme.

L'essentiel de l'ATP cérébral est le fruit de la phosphorylation oxydative des mitochondries qui repose sur le glucose ou le lactate (Suzuki, 2011). Le modèle de tranche d'hippocampe de 180/200 μm permet de modifier rapidement la pression partielle d'oxygène (pO_2). Les oscillations gamma sont générées par une stimulation de récepteurs à l'ACH, qui mime les afférences du septum éliminées dans le modèle

tranche. Ce papier démontre le lien direct entre les oscillations gamma et l'oxygénation. Les oscillations sont induites par l'addition d'ACh en présence de physostigmine, un inhibiteur de la cholinestérase. Elles sont maintenues à une pO_2 de 95 % avec une puissance maximale autour de 45-50 Hz (B). Un passage à une pO_2 de 20 % réduit considérablement et rapidement la puissance des oscillations (mais pas leur fréquence), effet réversible par retour à 95 %. Ces oscillations gamma dépendent (en tout cas pour leur puissance) d'une production d'ATP mitochondrial capable de maintenir à la fois l'excitabilité (la régénération des gradients ioniques) et une inhibition rapide. Cette demande pèse donc tout particulièrement sur les neurones GABA à décharge rapide.

Oscillations et hémodynamique

Pour l'*in vivo* je me suis attardé sur un article de Niessing et ses collègues (Mukamel, 2005) utilisant les techniques d'imagerie dépendante du niveau d'oxygénation sanguin (BOLD). Les réponses sont corrélées avec les potentiels d'action et l'amplitude des potentiels évoqués qui dépendent du nombre de neurones activés, de leur taux de décharge, et de la cohérence temporelle (synchronisation) des potentiels d'action et de l'activité synaptique. Ce dernier point est soutenu par des travaux qui montrent que les oscillations du potentiel local de champ (LFP) sont en exacte corrélation avec le signal BOLD. Je rappelle ici qu'un LFP est un signal électrophysiologique dominé par le courant dérivant de l'activité synaptique d'un grand nombre de dendrites locaux. Le voltage produit correspond à la somme des courants synaptiques passant à travers la résistance de l'espace extracellulaire ($V = RI$). L'enregistrement de ce potentiel est permis par l'insertion d'une petite électrode dans le tissu nerveux (animal anesthésié ou tranche de tissu cérébral).

Les auteurs ont étudié les relations entre le signal BOLD, les potentiels d'action et les oscillations du LFP dans différentes bandes de fréquence chez le chat anesthésié. Ces chats adultes sont stimulés visuellement par une grille présentant différentes orientations pendant que l'activité hémodynamique dans le cortex visuel primaire est suivie simultanément par les microélectrodes implantées et l'imagerie optique du signal intrinsèque (570 et 610 nm). Les variations en amplitude de la réponse corticale sont générées en jouant sur le contraste (27 et 97 % pour contrastes bas et haut). Les différentes cartes d'orientation à haut contraste induisent un signal plus fort qu'à bas contraste. Les réponses hémodynamiques présentent les mêmes cinétiques mais leur amplitude dépend du contraste. Aux deux contrastes, les oscillations du LFP sont visibles à plusieurs fréquences entre 0 et 90 Hz. Cependant, les bas contrastes provoquent des oscillations dans des bandes inférieures à celles observées à fort contraste pour lesquelles la composante gamma est prédominante. Une comparaison entre la réponse hémodynamique et le taux de décharge moyen ou les ondes gamma démontre l'existence de corrélations significatives.

On peut donc lier la réponse hémodynamique à la génération des oscillations du LFP dans la bande gamma. Les deux composantes du signal BOLD (les changements du volume sanguin et la charge de l'hémoglobine en oxygène) sont donc corrélées aux oscillations à haute fréquence, et la précision des décharges neuronales synchronisées (les fréquences gamma augmentent cette précision) dans un volume cortical donné (celui « mesuré » par les électrodes implantées) contribue à l'amplitude de la réponse hémodynamique. Quel est le mécanisme qui augmente cette réponse hémodynamique ? Les données de la littérature suggèrent fortement que la

synchronisation dans la bande gamma est associée à des décharges hautement synchronisées des inter-neurones inhibiteurs et donc à une inhibition rythmique des décharges excitatrices des neurones pyramidaux. Les auteurs avancent donc l'hypothèse que les réponses hémodynamiques sont initiées par les neurones inhibiteurs. Ils ajoutent que bien que ces neurones inhibiteurs ne comptent que pour 20 % des neurones corticaux, ils contribuent probablement à un niveau beaucoup plus élevé à la dépense énergétique. Ils déchargent à haute fréquence et distribuent leurs très nombreuses synapses exclusivement dans le volume cortical adjacent. Cette hypothèse est en accord avec le fait que ces inter-neurones contiennent les enzymes nécessaires à la synthèse du NO, un vasodilatateur qui, libéré par les inter-neurones, participe au couplage de la réponse neuro-vasculaire. L'intense activité métabolique de ces neurones à décharge rapide est à mettre en rapport avec l'augmentation forte de l'expression de gènes du métabolisme dans ces neurones GABA au cours de la période critique alors qu'ils acquièrent leurs propriétés inhibitrices.

Retour sur l'énergétique

J'ai ainsi pu revenir sur la question énergétique, en particulier sur l'implication du complexe I dans la génération des ondes gamma. Je l'ai fait à partir de l'article de Kann et ses collègues (Kann, 2011) qui porte sur l'hippocampe. Mais, outre le fait que l'hippocampe est du cortex (un cortex à trois couches comme le cortex pyriforme), les interactions entre neurones GABA à décharge rapide et les neurones pyramidaux qui génèrent des oscillations gamma sont identiques dans l'hippocampe et le « vrai » cortex. Les auteurs rappellent que les oscillations dans la bande gamma sont réputées fournir une matrice temporelle aux fonctions cérébrales complexes (analyse sensorielle, mémoire, voire conscience). Par exemple, elles sont dominantes dans l'hippocampe où elles pourraient participer à la récupération des traces mnésiques. Ces oscillations, je le répète, prennent leur origine dans les interactions entre les neurones GABA, inhibiteurs à décharge rapide, et les neurones pyramidaux, excitateurs glutamatergiques. De ce fait, on assiste à des flux de courant alternés dans les tissus, ce qui requière une très forte activité des ATPase Na^+/K^+ permettant de remettre les gradients ioniques à un niveau « normal » et de maintenir l'excitabilité.

Cette consommation d'ATP locale et intense est rapidement contrebalancée par les mitochondries à travers la phosphorylation oxydative. Ce processus demande à la fois du glucose et de l'oxygène plus, évidemment, une activité forte des enzymes mitochondriaux, dont celles du complexe I. Ce complexe I exerce un contrôle majeur sur la phosphorylation oxydative et joue un rôle essentiel dans les maladies neurodégénératives. D'où l'intérêt de cet article qui étudie directement le lien entre l'activité mitochondriale, l'apport en oxygène et les oscillations gamma. Comme plus haut, les oscillations gamma sont induites par l'acétylcholine (Huchzermeyer, 2008). Les LFP ont été enregistrés en CA1, CA3 et dans le gyrus denté de souris dans une atmosphère 95/5 (O_2/CO_2). L'addition d'acétylcholine entraîne des oscillations gamma robustes en CA1 et CA3 (deux régions de l'hippocampe) qui sont bloquées par un antagoniste muscarinique (l'atropine). Les oscillations sont hétérogènes avec une activité plus forte dans la région distale de CA3, mais les fréquences sont identiques, les oscillations sont synchrones avec un retard de phase de 1 ms entre CA3 et CA1, ce qui suggère une propagation de CA3 vers CA1.

La pO_2 a été analysée entre 40 et 160 μm de la surface de la coupe. Elle diminue fortement quand on descend dans la coupe, y compris dans les périodes d'activité spontanée (sans ACh). L'induction des oscillations gamma accentue cette perte en CA1 comme en CA3, suggérant que l'induction des oscillations se traduit par une plus grande consommation d'oxygène. Le complexe I riche de 46 sous-unités joue un rôle majeur dans le contrôle de la phosphorylation oxydative. Les auteurs ont suivi l'expression de 33 gènes nucléaires encodant des protéines de ce complexe. Pour presque les 33 gènes, l'analyse montre un gradient spatial CA3 distal > CA3 proximal > CA1 > gyrus denté. Parmi les plus exprimées, on trouve les flavoprotéines Ndufv1 (*NADH-binding proteins*) et Ndufv2, les protéines Ndufs1 à Ndufs3 et Ndufa1, Ndufa2, Ndufa10 et Ndufb7. En revanche, pas de changements dans le nombre de copies d'ADN mitochondrial, ce qui suggère que le nombre de ces organelles reste constant.

Synchronisation

La synchronie rythmique des oscillations gamma induite par l'ACh est déterminée par les récepteurs de type AMPA et les récepteur GABA α avec sous-unité alpha-1. Dans cette situation, les potentiels d'action des cellules pyramidales sont générés à une fréquence de 1-3 Hz alors que les PV génèrent des potentiels d'action à chaque cycle gamma (entre 30 et 80 par secondes). C'est donc sur ces neurones que repose la charge énergétique et ce n'est donc pas étonnant qu'à l'inverse d'une situation épileptique ou d'une stimulation électrique, les oscillations gamma soient abolies par la roténone (qui bloque le complexe I). Ces interneurons contiennent un très grand nombre de mitochondries avec un haut niveau de cytochrome c (transport d'électrons entre complexes 3 et 4), ce qui confirme l'importance de cette organelle dans l'entretien du système qui, ne l'oublions pas, est à la base des fonctions cognitives.

À ce stade, il est possible de revenir sur le cortex et sa plasticité au cours du développement (les périodes critiques) et chez l'adulte. Nous avons assez d'arguments pour accepter que les oscillations gamma générées par les interactions entre cellules pyramidales et interneurons GABA à décharge rapide exprimant la parvalbumine (*PV basket*) sont une bonne cible pour comprendre, sinon la schizophrénie – ce qui serait excessif – en tout cas un certain nombre de troubles cognitifs qui accompagnent cette maladie. Mais cette maladie, même si on se focalise sur le cortex préfrontal dorso-latéral, ne peut être considérée comme une maladie locale. La simple utilisation de médicaments agissant sur les systèmes dopaminergiques qui irradient sur l'ensemble du cerveau suffit à le suggérer, même si les antagonistes des récepteurs dopaminergiques D2, s'ils ont bien des effets sur les hallucinations ou délires, ne sont pas efficaces sur les troubles cognitifs.

Quelle que soit leur origine, les oscillations dans la bande gamma représentent un élément important pour la compréhension de la maladie. Il existe au moins deux fonctions connues pour ces oscillations. D'abord elles permettent aux cellules les plus excitables de déclencher un potentiel d'action. Ensuite, elles synchronisent les cellules dans un ensemble, ce qui permet la détection du signal par des réseaux de neurones qui se placent en aval de ce premier réseau. Étant donné l'importance des bandes gamma dans le codage neural, il ne serait pas étonnant que des anomalies dans ces fréquences entraînent une forme de confusion dans le traitement de l'information. Il a donc souvent été avancé que la désorganisation cognitive qui

caractérise la schizophrénie puiserait une de ses composantes dans une anomalie des bandes gamma, une proposition en accord avec la baisse de l'amplitude de ces oscillations chez les malades (Uhlhaas, 2010), quelle que soit la modalité comportementale de leur stimulation (tâche à accomplir, etc.).

Le global et le local

À partir de là resurgit la question du global et du local. Les tests cognitifs suggèrent qu'il n'y a que peu de fonctions indemnes dans ces maladies. En accord avec cette observation, les données de génomique fonctionnelle montrent que les gènes ayant partie liée avec l'inhibition voient leur expression modifiée non seulement dans le cortex préfrontal mais aussi dans toutes les régions examinées, y compris le cortex visuel. Il y a donc des effets locaux et un effet global, celui-ci étant lié soit à une régulation globale déficiente soit à une addition des effets locaux. Pour la régulation globale, la dopamine, la 5HT et l'ACh sont en première ligne, mais aussi *Otx2* qui vient en grande partie, et tout au long de la vie, du plexus choroïde (Spatazza, 2013).

Parmi les circuits locaux, un circuit très intéressant inclut l'hippocampe qui a été impliqué dans la schizophrénie du fait de changements dans son activité fonctionnelle et de l'existence de déficits de mémorisation dans la maladie. Mais on peut aussi penser que l'hippocampe est surtout impliqué par le biais des cibles en aval de cette structure. À travers un circuit poly-synaptique, une excitation directe de l'hippocampe excite aussi les neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale (VTA, structure du mésencéphale ventral impliquée dans les fonctions cognitives et affectives) avec un retour sur l'hippocampe. Ce circuit fait partie d'un circuit d'apprentissage ; la nouveauté enregistrée au niveau de l'hippocampe induisant une excitation de la VTA et une libération de DA dans l'hippocampe propre à soutenir une LTP stable et, par là, une mémorisation. D'autres circuits locaux entrent en jeu, dont des circuits présents dans le thalamus.

Pour ce qui est du contrôle global du système, nous avons illustré le rôle de la DA qui, venue de la VTA, agit en « éventail » sur toutes les structures corticales et sous-corticales, à commencer par le thalamus. Une telle action est de nature à mettre en phase les différentes structures. Un raisonnement de même type peut être proposé pour les autres systèmes régulateurs généraux comme la 5HT, la NE ou l'ACh qui viennent se superposer aux circuits locaux. Par dessus ces systèmes de neuromédiateurs, il faut évidemment ajouter tous les facteurs de croissance ou autres qui peuvent jouer sur la forme des réseaux, au niveau morphologique, tout particulièrement en régulant (comme nous l'avons vu) l'évolution du nombre des épines au niveau des dendrites des cellules pyramidales. Les sources de ces facteurs sont évidemment importantes et nous savons qu'elles peuvent être locales, comme le BDNF qui est produit par les cellules pyramidales glutamatergiques et augmentent la maturation des neurones PV GABAergiques. Mais ces facteurs peuvent aussi être systémiques, présents dans le LCR et donc avoir les méninges et le plexus choroïde comme sources principales.

Si on s'intéresse au plexus choroïde, il devient alors important de faire un recensement des gènes encodant des protéines sécrétées et fortement exprimées par cette structure. Cela a été fait dans mon laboratoire, et *Otx2*, facteur de transcription sécrété dont nous avons vu qu'il reconnaît les PNN des cellules PV et maintient ces cellules dans un état différencié (fortement inhibiteur), est le 162^e gène le plus

exprimé dans cette structure. Notons qu'il est en bonne compagnie avec de nombreux gènes encodant des protéines qui, soit appartiennent à la matrice (laminin B1, collagène), soit en régule l'intégrité (métalloprotéases). Cet Otx2 du choroïde est important physiologiquement puisqu'annuler son expression dans le plexus diminue sa concentration dans les cellules PV, et rouvre une période de plasticité chez l'adulte, en tout cas dans le cortex visuel mais possiblement dans d'autres régions du cortex puisque la protéine est présente dans tous les neurones PV du cortex (Spatazza, 2013).

Cette molécule Otx2, parce qu'elle maintient les neurones PV dans un état fortement inhibiteur, constitue un bon régulateur potentiel des ondes gamma, à l'égal des autres systèmes divergents évoqués. Mais il y a peut-être quelque chose de plus important dans le cas d'Otx2 qui est sa capacité supposée à réguler la production d'énergie *via* la régulation de la traduction de protéines du complexe I mitochondrial, indispensable au maintien des ondes gamma. « Supposée » parce que cette possibilité a été, à ce jour, surtout explorée dans le cas de Engrailed 1, une autre homéoprotéine qui, internalisée par les neurones DA de la substance noire (ceux qui dégénèrent dans la maladie de Parkinson), régule la traduction de protéines du complexe I mitochondrial et augmente considérablement la synthèse d'ATP (Alvarez-Fischer, 2011), (Stettler, 2012). En fait, nous avons étudié si Otx2 pouvait aussi le faire et le résultat est que, dans des cultures de neurones rétiniens, pas encore sur des neurones PV, Otx2 régule l'expression de protéines du complexe I mitochondrial et stimule la synthèse d'ATP.

Conclusions

Quelques mots pour clore ce deuxième cours sur les maladies psychiatriques et neurologiques, psychiatriques surtout, en fait schizophrénies. Je suis arrivé à la conclusion que ces états psychiques pathologiques sont marqués par les symptômes classiques positifs et négatifs, mais surtout par un vaste problème cognitif qui, même s'il est présent de façon sous-jacente avant la puberté, prend toute sa force dans la période pubertaire et le passage de la fin de l'adolescence à l'âge adulte. Pourquoi cette période est-elle favorable à la révélation forte du phénotype ? Probablement, mais hypothétiquement, du fait de la maturation tardive du cortex préfrontal dont le résultat est que la période critique, pour cette structure, se produit à la fin de l'adolescence. Période critique d'adaptation à un monde social différent du fait de changements qui se produisent au cours de la période pubertaire dont je n'ai pas besoin de rappeler ici l'importance.

Dans l'hypothèse où ce serait un mécanisme général de la période critique qui serait touché, d'autres modalités sensorielles devraient être affectées et il est intéressant de ce point de vue que des cliniciens aient observé des problèmes visuels plus tôt dans l'existence de ces futurs patients. Mais il est aussi possible que le défaut se situe de façon locale dans le seul cortex frontal. Les causes de ces maladies elles-mêmes hétérogènes sont trop mal connues pour qu'on se permette de plaquer des explications uniques à des situations qui, en fin de compte, relèvent de la physiologie. Les avancées de la génétique sont très importantes et ont permis d'identifier un certain nombre de gènes qui, quand ils sont mutés, conduisent à des phénotypes psychiatriques. Et il est hors de doute qu'il existe une base génétique à la schizophrénie, mais il ne peut que s'agir d'un fond génétique qui sera plus ou moins porteur du dérèglement en fonction du développement, y compris du développement post-natal. Par exemple, il semble admis que même si l'utilisation

du cannabis chez un adolescent ne conduit pas inéluctablement à développer la pathologie, cette drogue peut avoir un effet pathogène sur un fond génétique donné. Comme pour beaucoup d'autres maladies (Alzheimer, Parkinson) qui ont des formes génétiques et des formes sporadiques, celles-ci plus nombreuses que celles-là, c'est bien d'un réseau de gènes qu'il s'agit et derrière ce réseau se cache un processus physiologique.

L'année dernière, j'avais fourni des listes de gènes et nous avons vu que ces gènes interviennent, pour certains, dans la formation ou la fonction des circuits neuronaux, pour d'autres, dans la forme des cellules et en particulier dans la régulation de la genèse des épines dendritiques, pour d'autres enfin dans le métabolisme énergétique. En tant que non médecin intéressé en « amateur » à ces questions, le lien entre métabolisme et transmission synaptique, deux entités qui ont particulièrement évolué le long de notre lignage, m'a conduit à me concentrer sur les circuits corticaux et sous-corticaux locaux et sur la demande énergétique. Les oscillations gamma générées localement par la balance E/I (la période critique jetant là-dessus un éclairage important) et énergivores ont donc attiré mon attention et, dans ce contexte, les travaux de Wolf Singer et de ses collègues m'ont passionné. Mais si on veut aller plus loin et penser ces maladies comme systémiques et cognitives, on doit s'interroger sur la singularité des oscillations (sont-elles seulement perturbées dans le cortex préfrontal ?) ou sur leur généralisation (existe-t-il un problème d'orchestration générale permettant aux régions de travailler ensemble ?). Une fois encore, il faut être prudent : puisqu'un problème purement frontal aura des conséquences plus générales, ce n'est donc pas l'un ou l'autre. Mais se poser la question de la synchronisation entre structures, donc de ses possibles anomalies, c'est aussi se poser celle de ce qui la permet. D'où notre intérêt pour les systèmes divergents (les amines cérébrales en premier lieu) et les molécules ayant une action quasi hormonale et dont l'origine n'est pas forcément que cérébrale au sens strict du terme.

Séminaire en hommage à Claude Bernard

15 mai 2013^b

- Alain Prochiantz : Excursion into philosophy.
- Jean-Gabriel Ganascia : Simulation du raisonnement expérimental.
- Frédéric Worm : Claude Bernard, Bergson, Canguilhem (et au-delà) : quelles reprises, quelles ruptures, quelle histoire ?
- Johan Chapoutot : Politique du vivant : le III^e Reich en contexte (1933-1945).
- Pierre Corvol : Le milieu intérieur en 2013, une vue bernardienne.
- Michel Marre : Claude Bernard vu par un diabétologue.
- Anne Fagot-Largeault : L'expérimentation animale.
- Beatrix Rubin. « Silent embryogenesis » : A bernardian concept.

16 mai 2013

- Claude Debru : La démarche expérimentale.
- Rocco Ronchi : L'activité vitale est-elle mouvement ?

b. Les enregistrements des deux journées de séminaire sont disponibles en vidéo sur le site Internet du Collège de France : <http://www.college-de-france.fr/site/alain-prochiantz/seminar-2012-2013.htm> [Ndlr].

- Philippe Kourilsky : Physiologie et biologie systémique.
- Pierre-Marie Lledo : Mémoire et affect dépendent de cellules souches chez l'adulte.
- Dominique Lambert : Le rôle des mathématiques dans l'étude des phénomènes biologiques.
- Thierry Hoquet : Claude Bernard et le complexe buffonien.
- Christian Bange : La postérité de Claude Bernard.
- Nicolas Postel-Vinay : 22 000 pages manuscrites en lignes : surfer, voir, lire ou déchiffrer ?

RECHERCHE

Périodes critiques

*Collaboration avec Takao Hensch (Harvard University)
et Antonio Simeone (IGG, Naples)*

Les études sur les périodes critiques du développement cortical reposent sur la démonstration, pour le cortex visuel, que l'internalisation par les neurones PV de la protéine à homéodomaine Otx2 ouvre la période critique pour la vision binoculaire à 20 jours après la naissance (P20) et la ferme à P40 chez la souris. Cette activité d'Otx2 est liée à sa capacité à réguler la maturation des neurones PV, phase au cours de laquelle le cortex visuel passe par une période d'augmentation puis de diminution de la plasticité.

Grâce aux travaux menés précédemment et dont une part a été publiée en 2012, nous savons que la reconnaissance spécifique des neurones PV par Otx2 est régulée par l'interaction entre un domaine d'Otx2 (RKQRRERTTFTRAQL) et les sucres complexes de la famille des glycosaminoglycans (GAG), probablement des chondroïtines bisulfatés (CSD et ou CSE).

Cette année, nous avons synthétisé un CSD par voie chimique et démontré qu'il se fixe sur Otx2 et agit comme inhibiteurs compétitif de l'internalisation d'Otx2 par les cellules PV. Mais notre contribution essentielle a été de démontrer qu'une source importante d'Otx2 est le plexus choroïde et que de recombiner génétiquement Otx2 dans cette structure, diminue la quantité de la protéine incorporée par les neurones PV et rouvre la plasticité chez la souris adulte. Cela nous a permis de guérir des souris de leur amblyopie expérimentale.

Cette observation est importante car le plexus choroïde envoie Otx2 dans toutes les régions du cortex et pourrait constituer, *via* ce mécanisme, un organe régulateur général de la plasticité corticale.

Développement et physiologie de la vision

*Collaboration avec Jin Woo Kim (KAIST, Corée du Sud)
et Serge Picaud (Institut de la vision, Paris)*

Il est aujourd'hui établi que les facteurs de transcription de la famille des homéoprotéines ne sont pas seulement impliqués dans le développement mais aussi dans la physiologie adulte. Il est tout aussi clair que les dosages génétiques sont cruciaux pour comprendre l'activité physiologique de ces protéines et les implications de leur dérégulation dans le domaine de la pathologie. Pour étudier l'effet du dosage

génétiq ue sur les pathologies et le vieillissement oculaires, nous avons généré et analysé six génotypes de souris avec des doses progressivement décroissantes d'activité d'Otx2. Nous avons démontré que le gène est particulièrement important pour la survie des cônes (une classe de photorécepteurs) et celle des neurones bipolaires. Mais le plus intéressant est que les pertes neuronales et les défauts physiologiques et comportementaux qui les accompagnent apparaissent d'autant plus tard que la mutation est faible. L'effet-dose est donc en corrélation directe avec l'effet-temps, c'est à dire la durée de vie pendant laquelle l'animal a une activité visuelle normale.

Maladie de Parkinson

Chez l'adulte les protéines à homéodomaine *Engrailed-1* (*En1*) et *Engrailed-2* (*En2*) sont fortement exprimées dans les neurones dopaminergiques mésencéphaliques (mDA) adultes, ceux qui dégénèrent dans la substance noire (SN) des patients atteints de la maladie de Parkinson.

Depuis 2007, nous avons démontré que la perte d'un allèle *En1* conduit à la mort progressive des mDA et au développement, lui aussi progressif, des symptômes moteurs et non-moteurs qui rappellent, chez la souris, ceux de la maladie humaine. Cela suggère qu'*En1* est un protecteur de ces neurones, ce que nous avons démontré dans trois modèles murins de la maladie de Parkinson.

Cette année, nous nous sommes intéressés aux mécanismes de protection. Nous avons identifié de nombreuses cibles d'*En1* au niveau de la régulation de la transcription, de la traduction et aussi de la conformation de la chromatine. Les deux voies de recherche les plus intéressantes sont la capacité d'*En1* à diminuer les cassures d'ADN (DSB) induites par un stress oxydatif et à jouer un rôle de régulateur de la transcription des éléments transposables (stabilité du génome).

AUTRES TRAVAUX (ÉQUIPES DE CHAIRES)

Alain Joliot (Biologie cellulaire des homéoprotéines)

Dans la continuité des années précédentes, nos travaux ont porté en premier lieu sur la compréhension des mécanismes responsables du transfert intercellulaire des homéoprotéines, et complémentai rement sur l'optimisation des stratégies de vectorisation peptidique. De nouveaux projets ont été initiés en vue de notre fusion avec l'équipe de Sophie Vriz.

Rôle des interactions homéoprotéine/lipides

Les PIP2, connus pour réguler la sécrétion du FGF2, ont un rôle analogue dans la sécrétion de l'homéoprotéine *Engrailed*. Nous avons caractérisé les modalités d'interaction entre *Engrailed* et ces lipides (collaboration S. Sagan, UPMC) dans des contextes de bicouche artificielle et de membrane biologique. L'interaction homéoprotéine/PIP2 requiert la présence d'un homéodomaine intact et est observée pour d'autres types d'homéoprotéines. Son rôle éventuel dans la distribution intracellulaire de l'homéoprotéine est en cours d'analyse. Nos travaux récents ont permis d'étendre le rôle des PIP2 aux processus d'internalisation des homéoprotéines.

Au contact d'un environnement hydrophobe, l'homéodomaine subit des modifications conformationnelles qui pourraient rendre compte de sa capacité de translocation (collaboration O. Lequin, UPMC).

Vectorisation peptidique

À partir de l'analyse comparative de différents types de vecteurs dans un modèle *in vivo* d'injection intra-vitréale de rétine de souris, les peptides dérivés de séquences d'interaction avec les glycosaminoglycans se sont avérés les plus efficaces permettant l'internalisation cellulaire d'un cargo protéique (Cre recombinase). Nous avons aussi observé un fort tropisme pour les glies de Muller, quelque soit la nature du vecteur. Cette stratégie a été utilisée avec succès pour inactiver le gène *Otx2* dans les plexus choroïdes (collaboration A. Prochiantz).

Nathalie Rouach (Interactions neurones/glies dans la physiopathologie cérébrale)

Nos études récentes sur le rôle des astrocytes dans la neurotransmission ont montré que : 1/ les réseaux astrogliaux sous-tendus par les jonctions communicantes déterminent l'activité et la plasticité synaptique en régulant l'homéostasie extracellulaire, importante pour la formation des synapses fonctionnelles ; 2/ les canaux jonctionnels formés par les connexines contrôlent l'activité des réseaux de neurones hippocampiques en modulant leur synchronisation ; et 3/ la connexine 30, une sous-unité astrogliale des jonctions communicantes, module l'efficacité synaptique indépendamment de sa fonction canal, en contrôlant la couverture astrogliale des synapses, qui détermine l'efficacité de la clairance du glutamate synaptique. Ces travaux montrent que les connexines astrocytaires jouent un rôle important dans le traitement et le stockage de l'information synaptique.

Sophie Vríz (Morphogenèse et régénération)

Cette année aura été marquée par le rapprochement de nos thématiques avec celles d'Alain Joliot. En particulier, nous avons mis en place un projet de recherche commun sur l'implication des activités paracrines des homéoprotéines dans la plasticité cellulaire au cours de la régénération.

Nous avons obtenus des résultats significatifs pour les deux projets menés dans l'équipe.

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et recrutement de cellules souches chez l'adulte

Un enjeu majeur en médecine régénérative est le contrôle de la mobilisation des cellules pro-génitrices. Nous avons étudié le rôle des ROS dans la régénération de la nageoire caudale adulte. Nous avons montré que l'amputation de la nageoire induit une synthèse prolongée de ROS qui est elle même responsable de deux vagues d'apoptose strictement régulées dans le temps et l'espace. L'inhibition de l'apoptose – ou la production de ROS – bloque la régénération et nous avons montré que l'apoptose était nécessaire à la fois pour la formation du blastème et la croissance des nerfs. Les deux processus peuvent être restaurés par un ajout d'adénosine exogène via

son récepteur A2B. Nos résultats mettent la voie purinergique en position de relais entre la synthèse de ROS après lésion et la mobilisation des cellules progénitrices. Une partie de ce travail a été accepté pour publication dans la revue *Scientific Reports*.

Rôle de la protéine engrailed (En) dans la formation de la frontière mésencéphale/diencéphale

En est impliquée dans la formation des territoires du neuroépithélium et dans le guidage des cônes de croissance. Nous avons utilisé deux stratégies pour mettre en évidence le rôle paracrine d'engrailed dans la mise en place de la frontière mésencéphale/diencéphale (DMB) chez le poisson zèbre : (1) un blocage de la protéine En à l'extérieur des cellules à l'aide d'un anticorps spécifiques, (2) une surexpression d'une protéine EnER^{T2} dont l'activité est contrôlée par la lumière. Ce travail, fait en collaboration avec Alain Joliot, est en cours de validation.

PUBLICATIONS

Articles

Équipe Prochiantz

O. Stettler, R.L. Joshi, A. Wizenmann, J. Reingruber, D. Holcman, C. Bouillot, F. Castagner, A. Prochiantz^{C*} & K.L. Moya*, « Engrailed homeoprotein recruits the adenosine A1 receptor to potentiate ephrin A5 function in retinal growth cones », *Development*, **139**, 2012, 215-224.

M. Beurdeley (*co-first*), J. Spatazza (*co-first*), H.H.C. Lee (*co-first*), S. Sugiyama, C. Bernard, A.A. Di Nardo, T.K. Hensch* et A. Prochiantz*, « Otx2 binding to perineuronal nets persistently regulates plasticity in the mature visual cortex », *J. Neurosci*, **32**, 2012, 9429-9437.

J. Spatazza, E. Di Lillo, A. Joliot, E. Dupont, K.L. Moya et A. Prochiantz, « Homeoprotein signaling in development health and disease : a shaking of dogmas offers challenges and promises from bench to bed », *Pharmacological Rev.*, **65**, 2103, 90-104.

G. Despras, C. Bernard, A. Perrot, L. Cattiaux, A. Prochiantz, H. Lortat-Jacob et J.-M. Mallet, « Toward libraries of biotinylated chondroitin sulfate analogues : from synthesis to in vivo studies », *Chem. Eur. J.*, **19**, 2013, 531-540.

J. Spatazza (*co-first*), H.H.C. Lee (*co-first*), A.A. Di Nardo, L. Tibaldi, A. Joliot, T. Hensch* et A. Prochiantz*, « Choroid plexus-derived Otx2 homeoprotein constrains adult cortical plasticity », *Cell reports*, **3**, 2013, 1815-1823.

Équipe Joliot

J. Spatazza, E. Di Lillo, A. Joliot, E. Dupont, K.L. Moya, A. Prochiantz, « Homeoprotein signaling in development, health, and disease : a shaking of dogmas offers challenges and promises from bench to bed », *Pharmacol. Rev.*, **65**, 2013, 90-104.

S. Sagan, F. Burlina, I.D. Alves, C. Bechara, E. Dupont, A. Joliot, « Homeoproteins and homeoprotein-derived peptides : going in and out », *Curr. Pharm. Des.*, **19**, 2013, 2851-2862.

* Co-correspondant.

J. Spatazza, H.H.C. Lee, A.A. Di Nardo, L. Tibaldi, A. Joliot, T.K. Hensch, A. Prochiantz, « Choroid-plexus-derived otx2 homeoprotein constrains adult cortical plasticity », *Cell. Rep.*, 3, 2013, 1815-1823.

L. Carrier, S. Balayssac, F.-X. Cantrelle, L. Khemtémourian, G. Chassaing, A. Joliot, et O. Lequin, « Investigation of homeodomain membrane translocation properties : insights from the structure determination of Engrailed 2 homeo-domain in aqueous and membranemimetic environments », *Biophysical J.*, sous presse.

Équipe Rouach

U. Pannasch, M. Derangeon, O. Chever, N. Rouach, « Astroglial gap junctions shape neuronal network activity », *Communicative and Integrative Biology*, 5, 2012, 248-54.

U. Pannasch, J. Sibille, N. Rouach, « Dual recordings of synaptically-evoked astroglial and neuronal responses in acute hippocampal slices », *Journal of Visualized Experiments*, 69, 2012, e4418.

D. Freche, C.Y. Lee, N. Rouach, D. Holcman, « Synaptic transmission in neurological disorders dissected by a quantitative approach », *Communicative and Integrative Biology*, 5, 2012, 448-52.

U. Pannasch, N. Rouach, « Emerging role for astroglial networks in information processing : from synapse to behavior », *Trends in Neurosciences*, 36, 2013, 405-417.

C. Escartin, N. Rouach, « Astroglial networking contributes to neurometabolic coupling », *Frontiers in Neuroenergetics*, 5, 2013, 4.

Équipe Vríz

L. Xu, Z. Feng, D. Sinha, Y. Ebenstein, C. Gauron, T. Le Saux, S. Lin, S. Weiss, S. Vríz, L. Jullien, D. Bensimon, « Spatio-temporal manipulation of retinoic acid activity in zebrafish hindbrain development via photo-isomerization », *Development*, 139(18), 2012, 3355-62.

E. Ellertsdottir*, P. Berthold*, M. Bouzaffour, M. Tillet, V. Trayer, C. Gauron, P. Dufourcq, P. Huber, S. Vríz, M. Affolter, C. Rampon, « Protease-activated receptor 1 (PAR1) promotes vascular maturation in the zebrafish embryo », *Plos One*, 7(7), 2012, e42131.

L. Fournier, C. Gauron, L. Xu, I. Aujard, T. Le Saux, N. Gagey-Eilstein, S. Maurin, J.B. Baudin, D. Bensimon, M. Volovitch, S. Vríz, L. Jullien, « A Blue-Absorbing Photolabile Protecting Group for in vivo Chromatically Orthogonal Photoactivation », *ACS Chemical Biology*, 2013, sous presse (FI=6,45).

Z. Feng, W. Zhang, L. Xu, C. Gauron, S. Vríz, M. Volovitch, L. Jullien, S. Weiss, D. Bensimon, 2013, « Optical control and study of biological processes at the single cell level in a live organism », *Reports on Progress in Physics*, sous presse (FI=14,72).

C. Gauron*, C. Rampon*, M. Bouzaffour, E. Ipendey, J. Teillon, M. Volovitch, S. Vríz, « Sustained production of ROS triggers compensatory proliferation and is required for regeneration to proceed », *Scientific Reports*, 2013, sous presse.

PARTICIPATION À DES CONGRÈS

Équipe Prochiantz

Brain Plasticity : itself a plastic concept ? 7-8 mai 2012, New-York, États-Unis.

DOPAMINET. July 19-20, 2012, Trieste, Italy.

The 4th Symposium for the Global Research Laboratory Program. 5 février 2012, Séoul, Corée.

From Brain Compartments to Functional Circuits and Behaviour. 9-10 mai 2013, King's College, Londres, Royaume-Uni.

Dopamine 2013 meeting, 24-28 mai 2013, Alghero, Sardaigne, Italie.

The Future of Axon Guidance. 27 mai-1^{er} juin 2013, Les Treilles, France.

European Human Genetics Conference. 8-11 juin 2013, Paris, France (*Opening lecture*).

Building Beauty, The 3rd International COS Symposium. 20-22 juin 2013, Heidelberg, Allemagne (*Keynote lecture*).

Équipe Rouach

FENS satellite meeting Multidisciplinary approaches to quantify astrocyte neuron signaling. Juillet 2012, Barcelone.

Astrocytes in Brain Energy Metabolism. Mars 2013, International Astrocyte School, Bertinoro, Italie.

Astroglial metabolic networks tune neuronal activity. John Van Geest Center for Brain Repair. Mars 2013, Magdalene College, Cambridge, Royaume-Uni.

Unraveling the role of astroglial networks in synaptic strength. Avril 2013, Festival of Neuroscience, British Neuroscience Association, Londres.

Unraveling the role of astroglial networks in information processing. Astroglial-ECM signalling and neuronal activity international conference and workshop (BN1001 COST ACTION). Mai 2013, Palermo, Sicile.

Unraveling the role of astroglial connexins in neurotransmission. NCCR Transcure mini-symposium « Excellence in Women's Science » Recent highlights in the Membrane Transporter Field. Juin 2013, Berne, Suisse.

Équipe Vriz

EMBO-ESF workshop, Single cell physiology. Single cell physiology in zebrafish. 23-27 juillet 2012, Paris, France.

Single cell analysis Europe. Apoptosis signalling and tissue homeostasis *in vivo*. 5-6 mars 2013, Barcelone, Espagne.