

Communications cellulaires

M. Jean-Pierre CHANGEUX, professeur

Le cours de cette année, intitulé « Règles d'organisation et de développement du cortex cérébral », a été consacré à la description, en termes aussi simples que possible, des centres nerveux engagés dans les fonctions supérieures du cerveau, principalement chez les Primates et chez l'Homme, toujours dans le but de comprendre comment cette organisation se construit à partir de l'œuf et ses $2n$ chromosomes.

Cette réflexion a d'abord été replacée dans son contexte historique en analysant l'évolution des connaissances et doctrines sur les localisations cérébrales (Soury, 1899 ; Hecaen et Lanteri-Laura, 1977). Le papyrus d'Edwin Smith contient la première description écrite du cortex cérébral : ses circonvolutions y sont comparées aux « rides qui se forment sur le cuivre en fusion ». On y trouve aussi rapporté que des traumatismes crâniens entraînent des troubles de la motricité oculaire ou de la marche, donc au niveau d'organes distants du siège de la lésion. La sémiologie y est déjà distinguée de l'étiologie. Cette distinction se retrouve dans les traités Hippocratiques où l'expression sémiologique contralatérale d'une plaie de la tête est déjà reconnue. Pour Démocrite, « le cerveau est gardien de l'intelligence ». Cela est encore vrai pour Platon qui va plus loin lorsqu'il distingue plusieurs fonctions de « l'âme » et qu'il loge seulement l'une d'elles, « l'âme intellectuelle », dans le cerveau. Gallien (II^e siècle après J.-C.) observe, chez l'animal, que la conscience disparaît lorsqu'il lèse le système ventriculaire et propose donc que celui-ci contient le *pneuma* (qui deviendra par la suite les « esprits animaux »). Développant cette idée, les Posédoniens (IV^e siècle après J.-C.) proposent la première thèse proprement localisationiste suivant laquelle les diverses variétés d'âme : imagination, raison et mémoire, ont respectivement pour siège les ventricules antérieur, moyen et postérieur.

Entre-temps, Aristote égare les esprits en postulant que le cerveau n'exerce qu'un rôle de refroidissement et que le cœur est à l'origine des nerfs... Ces idées surprenantes auront des défenseurs jusqu'au XVIII^e siècle...

De la Renaissance à la fin du XVIII^e siècle, datent de nombreuses descriptions anatomiques originales de l'encéphale provenant de dissections de cadavres. L'unité et indivisibilité de l'âme défendue en particulier par Descartes met toutefois les anatomistes devant une situation difficile : l'âme

unique ne peut s'articuler au corps qu'au niveau d'un organe impair. Ce sera la glande pinéale pour Descartes, le corps calleux pour Willis. Avec Gall (1758-1828) les choses changent de manière radicale. Anatomiste, il introduit une nouvelle méthode de dissection et constate que l'encéphale est composé d'amas de substance « cendrée » reliés par des faisceaux de substance blanche, comme le système nerveux périphérique ; le cerveau se trouve de ce fait « laïcisé » et perd de son mystère ; il reconnaît aussi que le cortex cérébral prend une importance particulièrement grande chez les Mammifères et correspond donc au niveau d'organisation le plus élevé de l'encéphale. Physiologiste, Gall postule que chez l'Homme et chez l'animal existent des facultés innées, indépendantes, multiples et irréductibles les unes des autres. Dans son « modèle » de l'organisation fonctionnelle du cortex cérébral ou « phrénologie », il assigne à chacune de ces 27 facultés innées (définies de manière très empirique sur la base de biographies d'hommes illustres) un territoire distinct de la surface du crâne (qui reproduirait celle du cortex cérébral plus difficile d'accès). Si la formulation de la phrénologie paraît aujourd'hui bien naïve, elle constitue néanmoins la première proposition sérieuse de cartographie corticale. Mieux, c'est en essayant de vérifier le bien-fondé de la phrénologie que les élèves de Gall proposeront la première démonstration non ambiguë d'une localisation cérébrale.

L'un de ceux-ci, Bouillaud, se fondant sur les descriptions très précises des diverses scissures et lobes du cortex cérébral humain de Leuret et Gratiolet, montre, à la suite d'observations cliniques systématiques, que la lésion des lobes antérieurs entraîne des pertes de la parole tandis que l'atteinte des lobes postérieurs n'a pas cet effet. Enfin, Broca décrit un malade aphasique dont l'autopsie révèle une lésion du lobe frontal *gauche*.

Ces observations anatomocliniques bien que rapidement confirmées n'entraînent pas l'adhésion des physiologistes qui, avec Flourens comme chef de file, défendent la thèse « globaliste » de l'homogénéité du cortex cérébral. Celui-ci, fonctionnant comme un tout, commanderait intelligence et sensation alors que motricité et sensibilité dépendraient de centres sous-corticaux. Les expériences de Fritz et Hitzig (1870) montrent le bien-fondé du point de vue opposé en apportant les premières preuves physiologiques des localisations corticales. La stimulation électrique focalisée de divers territoires de la partie postérieure du lobe frontal entraîne la contraction de groupes de muscles particuliers, leur ablation s'accompagne de déficits de la motricité volontaire de ces mêmes muscles. Il existe donc une localisation des fonctions motrices. Munk (1877) étend rapidement ces expériences d'ablation aux fonctions sensorielles en assignant aux aires occipitales une fonction dans la vision ; à leur niveau, Caton (1877) enregistre un signal électrique en réponse à un flash lumineux. Enfin, Ferrier (1878) montre que la lésion des aires préfrontales entraîne des troubles du caractère et de l'attention et propose que les fonctions intellectuelles en dépendent directement.

Dès la fin du XIX^e siècle, les principales méthodes d'exploration des fonctions cérébrales (stimulation, enregistrement électrique, ablation) sont mises au point et les principaux modèles du fonctionnement cortical énoncés. Les quatre positions doctrinales majeures sont les suivantes : 1) Thèse globaliste : le cortex cérébral fonctionne de manière unitaire ; 2) Thèse de l'organisation en parallèle : des territoires corticaux séparés possèdent des fonctions distinctes, mais sont réunis par un substrat unificateur ; 3) Thèse de l'organisation hiérarchique : certaines aires sont subordonnées à la commande d'autres aires maîtresses ; 4) Thèse de la juxtaposition des territoires corticaux : chaque aire fonctionne pour elle-même sans subordination hiérarchique ni substrat unificateur.

L'examen de l'organisation cellulaire du cortex cérébral requiert l'emploi du microscope et se développe donc avec un certain retard par rapport à l'anatomie. Après la découverte des fibres nerveuses (Leeuwenhoek, 1719) et des corps cellulaires, puis la démonstration que les premières sont issues des seconds (Deiters, 1865), Meynert (1867) décrit la stratification du cortex en couches superposées de catégories cellulaires distinctes : Couche I pauvre en neurones, Couches II et III riches en cellules pyramidales respectivement petites et grandes, Couche IV granulaire riche en cellules étoilées, Couche V riche en grandes cellules pyramidales et Couche VI riche en cellules polymorphes. Il montre aussi que cette organisation varie d'une aire à l'autre du cortex. Enfin, Fleschig (1896) décrit un ordre de myélinisation des aires corticales au cours du développement : les aires sensorielles et motrices (ou aires de projection) se myélinisent plus précocement que les aires d'association. Sur ces bases, cytoarchitectoniques et fonctionnelles, Brodmann (1908) propose une cartographie du cortex cérébral dont la nomenclature est définitivement adoptée.

Les réactions anti-localisationnistes toutefois ne tardent pas à se manifester. Head (1920) reprenant les idées de Jackson (1860) insiste sur le fait que plus une fonction est complexe plus elle met en œuvre de multiples territoires cérébraux. Une lésion peut donc interférer avec une fonction en désorganisant une séquence ordonnée de processus plutôt qu'en détruisant le « centre » qui contient cette fonction. De fait, le cortex cérébral ne détient pas le monopole de toutes les fonctions centrales qui apparaissent « distribuées » et auxquelles contribuent, sans aucun doute, d'importants ensembles cellulaires *non* corticaux. Pour mémoire et sans s'y attarder, on citera les théories idéalistes de Bergson ou les vues phénoménologiques des théoriciens de la Gestalt pour qui l'opération organise le processus biologique mais n'en dépend pas !

En conclusion, au cours de l'histoire, les thèses localisationnistes, anti-globalistes ont systématiquement contribué (de manière positive) au développement des connaissances sur le cortex cérébral : elles possèdent sans aucun doute une valeur de progrès.

Les fonctions cérébrales ont longtemps paru inaccessibles à la mesure. Elles le sont encore pour beaucoup de nos jours. L'enregistrement des premiers signaux électriques associés à une activité nerveuse (Galvani, 1791 ; Du Bois-Reymond, 1877 ; Bernstein, 1902) ou cérébrale (Caton, 1878 ; Berger, 1929) a donc constitué un progrès décisif sur le plan méthodologique. Récemment, à ces techniques électrophysiologiques se sont ajoutées des méthodes fondées sur la mesure des débits sanguins cérébraux et du métabolisme de la cellule nerveuse.

L'enregistrement, par des électrodes posées sur le scalp, de l'activité électrique globale du cortex cérébral (Berger, 1929) révèle plusieurs états d'activité spontané. Un rythme régulier (10/sec) et de grande amplitude (50-100 μ V) s'observe chez l'individu éveillé les yeux fermés et se transforme en profil irrégulier et de faible amplitude à l'ouverture des yeux. Cette transition est déclenchée par des mécanismes « d'attention » et s'obtient également avec une autre modalité sensorielle, par exemple, le toucher, lorsque les yeux sont clos. Des ondes de grande amplitude (50 μ V), lentes (quelques cycles/sec) et irrégulières accompagnent le sommeil lent et laissent place à des ondes rapides (12-15/sec) et irrégulières au cours des phases de sommeil paradoxal. L'anesthésie par barbiturique fait apparaître un tracé qui ressemble à celui du sommeil lent. Ces changements des propriétés électriques « globales » du cortex cérébral correspondent à des variations coordonnées de l'activité unitaire (potentiels d'action) des neurones corticaux enregistrés avec des micro-électrodes intra- et juxta- cellulaires (Evarts, 1964). Ces variations d'activité d'importants ensembles de neurones sont sous la commande de centres déclencheurs ascendants et divergents dont les corps cellulaires se trouvent localisés principalement dans la région du mésencéphale.

Chez l'individu éveillé et attentif on peut aussi enregistrer, au niveau du scalp, des changements de potentiel électrique en réponse à une stimulation des organes des sens et qui se superposent aux rythmes spontanés. Ces potentiels évoqués correspondent, eux aussi, à des changements d'activité « individuels » de neurones corticaux. Leur amplitude est soumise à une régulation majeure par les mécanismes d'attention.

Sans atteindre le niveau de résolution dans le temps et dans l'espace des enregistrements électrophysiologiques, les méthodes fondées sur la mesure du métabolisme cérébral et de la circulation sanguine locale ouvrent d'importantes perspectives dans l'exploration des fonctions corticales. Elles ont comme point de départ les expériences de Kéty et Schmidt (1945) sur la mesure de la consommation d'oxygène par le cerveau. Celle-ci

$$Qt = DSC \times \frac{A - V}{100} t$$

(où DSC est le débit sanguin cérébral, A et V les contenus en oxygène des sangs artériels et veineux et t le temps) varie chez le Singe avec les états d'activités cérébraux différents obtenus après anesthésie profonde par le nembutal, convulsions provoquées par la picotoxine et hémorragie réversible ou irréversible. Fait remarquable, le débit sanguin cérébral, mesuré indépendamment avec un débitmètre à bulle, varie en parallèle avec la consommation d'oxygène. Une régulation a lieu au niveau des vaisseaux sanguins cérébraux et est vraisemblablement associée aux changements de pH consécutifs aux variations de pression partielle de O₂ et de CO₂ : l'accroissement de pO₂ entraîne une alcalinisation et une vasoconstriction, celle de pCO₂ une acidification et une vasodilatation. Chez l'Homme, le DSC ne peut pas être mesuré directement comme chez le Singe. Kety et Schmidt (1945) ont développé une méthode élégante fondée sur la redistribution d'un gaz inerte N₂O inhalé par le sujet.
$$DSC = 100 Q_t \int_0^t (A - V) dt$$
 où Q_t est la quantité de

gaz prélevée par le cerveau depuis le début de l'inhalation jusqu'au temps t. Comme chez le Singe, DSC varie en parallèle avec la consommation d'O₂. Au niveau cellulaire, on s'attend à ce que la consommation d'O₂ soit directement reliée à l'activité électrique. Celle-ci s'accompagne d'une fuite passive d'ions et provoque un accroissement compensateur du transport actif d'ions et par-là une stimulation du métabolisme énergétique (fixation d'O₂, utilisation de glucose). Au niveau cérébral, par contre, seules des variations majeures et d'ensemble de l'activité cérébrale se manifesteront par un changement significatif du DSC. D'où la nécessité de mesures locales ou régionales. Celles-ci ont été obtenues de deux manières différentes.

La première, mise au point par L. Sokolov, fait usage d'un analogue radioactif du glucose, le désoxyglucose, qui est transporté comme celui-ci jusqu'à l'intérieur des cellules pour y être phosphorylé par l'hexokinase. Toutefois, le désoxyglucose phosphate qui en résulte n'est pas transformé par l'enzyme suivant de la chaîne et s'accumule. On le révèle alors localement, jusqu'au niveau cellulaire, par autoradiographie. L'analyse quantitative des données autoradiographiques permet de mesurer des consommations locales de glucose (le désoxyglucose étant employé comme « traceur » de celui-ci) qui sont trouvées en parfait accord avec les mesures de consommation d'O₂ et de DSC. L'avantage majeur de cette méthode est de révéler sur coupe histologique des différences d'activité par un noircissement différentiel de l'émulsion photographique. Elle permet de déceler, au niveau du bulbe olfactif chez le Rat, l'ouverture et la fermeture d'une narine, l'exposition à l'acétate d'amyle ou au camphre, au niveau du cortex cérébral le phénomène contralatéral du miroir au cours de crises épileptiques... L'inconvénient inhérent à la méthode est de requérir des méthodes histologiques (fixation, coupes).

L'emploi de la caméra à positrons permet de lever cette difficulté. Cette méthode repose sur l'utilisation d'isotopes radioactifs à radiations très péné-

trantes ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C et surtout ^{133}Xe . Les positrons émis, après quelques millimètres de parcours, entrent en collision avec un électron et provoquent l'émission de 2 photons à 180° l'un de l'autre. Ceux-ci, de très haute énergie, traversent les tissus, osseux en particulier, et sont enregistrés en coïncidence par un ensemble de photomultiplicateurs distribués autour de la tête du patient. L'analyse par ordinateur des impulsions reçues simultanément par l'ensemble des photomultiplicateurs permet de localiser, dans l'espace, les points d'émissions et de dresser des cartes de densité d'émission sur une série de sections transverses. Bien qu'encore fragmentaires, les résultats obtenus sont impressionnants. Avec le ^{133}Xe employé comme gaz inerte suivant le protocole de Kety et Schmidt, on détecte des variations de débit sanguin local différentes entre la veille et le sommeil lors de la réalisation d'un mouvement volontaire et même lors de la « conception » de celui-ci. La méthode peut être étendue à l'analyse de la distribution de désoxyglucose ^{11}C ou de drogues psychotropes marquées. Cette « idéographie », pour employer le terme d'Ingvar, se trouve limitée, dans l'espace, à quelques millimètres (irréductibles car associés à l'émission radioactive et à sa détection) et, dans le temps, à quelques minutes (améliorable car associées à l'analyse des données par l'ordinateur). Enfin, il faut souligner les temps de vie très brefs des isotopes employés, ce qui requiert des synthèses organiques ultrarapides. Quoi qu'il en soit, les applications de ces méthodes, en neurologie et en psychiatrie, sont déjà considérables.

On pourrait croire qu'en 1981, l'anatomie du cortex cérébral des Mammifères supérieurs et de l'Homme en particulier est connue. Or, on en est loin. Toutefois, l'acquis récent suffit pour dégager un certain nombre de règles simples.

L'origine évolutive du néocortex paraît claire. Chez les Vertébrés les plus primitifs, les hémisphères cérébraux, qui forment la partie la plus antérieure du tube neural, semblent très largement spécialisés dans l'olfaction. Ils constituent le *paléopallium*. Chez les Amphibiens la partie dorsale des hémisphères devient progressivement un centre d'association ou *archipallium*, tandis que la base de celui-ci se condense en noyaux gris centraux. Le développement de l'archipallium progressivement repousse les noyaux gris centraux qui s'internalisent chez les Reptiles tandis que dans la partie frontale et dorsale de l'archipallium apparaît une nouvelle structure : le *néocortex*. Chez les Mammifères, celui-ci prend une importance considérable et repousse, dorsalement, l'archipallium qui devient l'hippocampe et, ventralement, le paléopallium, qui se trouve réduit au cortex olfactif ou lobe pyriforme. Chez les Reptiles et Oiseaux évolués, les noyaux gris se développent de manière privilégiée alors que chez les Mammifères c'est le cas du néocortex. Nauta et Karten (1970) interprètent la transition Reptile-Mammifère sur la base d'une réorientation mineure mais essentielle des zones de prolifération cellulaire du tube

neural chez l'embryon. Chez les Mammifères, cette zone devient très largement dévolue à l'accroissement de surface — tangentiel — du néocortex.

L'histologie des structures dérivées du paléopallium et de l'archipallium lobe pyriforme et hippocampe — diffère de manière profonde de celle du néocortex. On ne retrouve pas les 6 couches classiquement décrites par Meynert pour le néocortex, mais une organisation laminaire plus simple et un nombre plus restreint de catégories cellulaires.

Les premiers auteurs qui ont examiné l'architecture du néocortex, de Meynert à Von Economo (1929), ont mis en évidence des variations sensibles d'une aire à l'autre ; à un extrême : le cortex moteur « agrulaire » caractérisé par des cellules pyramidales de grande taille et l'absence de couche IV (ou des grains) bien différenciée ; à l'autre extrême : le cortex « granulaire » (ou koniocortex) sensoriel, beaucoup plus mince avec cellules de petite taille en abondance et une couche des grains très nette. Peu d'études quantitatives sérieuses avaient été effectuées dans ces conditions sur la variation du nombre total de neurones à travers l'épaisseur du cortex jusqu'à ce que Powell et collaborateurs (1980) découvrent un fait remarquable. Si l'on compte tous les neurones contenus dans une bande de 30 μm de largeur (sur 25 μm d'épaisseur : celle de la coupe) on trouve que, quelle que soit l'aire corticale examinée, ce nombre ne varie pas : il est de 110 ± 10 sauf pour le cortex visuel, chez le Singe et l'Homme, où il est voisin de 260 ± 15 . Autre observation remarquable, si l'on fait exception du cortex visuel, ce nombre ne varie pas d'une espèce de Mammifères à l'autre : de la Souris à l'Homme en passant par le Chat et le Singe. Il existe donc, sur ce plan, une remarquable uniformité d'organisation du cortex cérébral chez les Vertébrés supérieurs. D'une espèce à l'autre, le nombre *total* de neurones du cortex cérébral varie, mais ce nombre est directement proportionnel à la surface du cortex. Chez l'Homme où celle-ci est de 2 200 cm^2 , le nombre total des neurones corticaux serait de l'ordre de 30 milliards.

Cette règle, d'une simplicité assez inattendue, suggère que l'organisation cellulaire du cortex se met en place au cours du développement embryonnaire (à la suite de proliférations et morts cellulaires) d'une manière uniforme et fait donc appel à un petit nombre de déterminants géniques communs. Chez la Drosophile, Nüsslein-Volard et Wieschaus (1980) ont récemment identifié une batterie de gènes qui déterminent la segmentation du corps de la larve : ils offrent une image évidemment très fruste mais plausible des déterminants qui participent à la mise en place du cortex au cours de l'embryogénèse et interviennent dans son expansion au cours de la phylogénèse.

A l'occasion d'une discussion sur la « complexité » anatomique et fonctionnelle du système nerveux (voir Cours 1980), la distinction a été faite claire entre la *catégorie* à laquelle peut appartenir un neurone, définie, en principe,

par le répertoire de gènes ouverts, et sa *singularité*, c'est-à-dire le détail très précis de sa connectivité. Le nombre de catégories cellulaires peut être très restreint (par exemple 5 dans le cas du cervelet) et la diversité des singularités considérable pour une même catégorie cellulaire. Dans le cas du néocortex des Mammifères, la répartition en catégories des types morphologiques observés n'est pas établie de manière définitive — ne serait-ce que du fait du petit nombre de données biochimiques disponibles à ce propos.

La coloration de Golgi permet de distinguer deux groupes majeurs de cellules : les cellules pyramidales et les cellules étoilées.

Les *cellules pyramidales* se reconnaissent par la forme conique de leur soma, un dendrite apical vertical et long par rapport au soma et d'abondants dendrites basiliaires, tous densément couverts d'épines, un axone qui donne plusieurs branches collatérales avant de sortir du cortex (dont il constitue, en principe, l'unique efférence). Elles se retrouvent dans toutes les couches du cortex sauf la couche I et principalement dans les couches II, III et V.

Sous le terme de *cellule étoilée* on regroupe un ensemble assez hétérogène de neurones dont, en principe, l'axone ne sort pas du cortex. Le corps cellulaire est ovoïde ou sphérique et les dendrites peuvent partir de n'importe quel point du péricaryon. Une catégorie très à part est constituée par les cellules étoilées épineuses de la couche IV du cortex visuel qui, bien que n'ayant pas la forme caractéristique des cellules pyramidales, pourraient appartenir à cette catégorie si leur axone sort effectivement du cortex. Toutes les autres catégories de cellules étoilées ne possèdent pas ou peu d'épines dendritiques. On en distingue au moins 6 (Jones, 1975) sur la base de la forme des arborisations axonales et dendritiques : en corbeille (les plus grandes des cellules étoilées), fusiformes, à double bouquet protoplasmique, à axone court, neurogliformes et de type 6 (Jones, 1975).

La microscopie électronique apporte quelques critères morphologiques supplémentaires surtout lorsqu'elle peut être associée à la coloration de Golgi. On ne distingue que deux types ultrastructuraux de synapses : *type 1* ou asymétrique, principalement sur les épines dendritiques, avec un épaississement prononcé de la membrane postsynaptique, et *type 2* ou symétrique, principalement sur les somas, avec membranes pré- et postsynaptiques d'épaisseurs très semblables. Les synapses de type 1 pourraient être excitatrices, celles de type 2 inhibitrices. Powell et collaborateurs (1979) ont proposé d'introduire une classification des neurones corticaux sur la base de critères ultrastructuraux, en 3 groupes : 1) Cellules pyramidales : soma de grande taille avec un petit nombre de synapses toujours symétriques et dendrites avec épines recevant des synapses symétriques et asymétriques. 2) Grandes cellules étoilées : soma rond de taille moyenne (13-30 μm) avec très forte densité de synapses symétriques, cytoplasme riche en cisternes du réticulum endoplasmique et dendrites non épineux. 3) Petites cellules étoilées à soma rond ou

fusiforme de petite taille (9-12 μm) avec noyau sombre et cytoplasme pauvre en organelles. Suivant ces critères, les cellules étoilées épineuses entrent dans le groupe n° 1, les cellules en corbeille dans le groupe 2 et le reste des types de cellules étoilées, distinguées sur la base de la coloration de Golgi, dans le groupe 3.

Bien que la pharmacobiochimie de ces cellules soit encore très rudimentaire, il est vraisemblable que les cellules pyramidales sont excitatrices (avec le glutamate comme transmetteur ?), que les cellules en corbeille sont inhibitrices (avec le Gaba comme neurotransmetteur) et que certaines petites cellules étoilées, qui contiennent un neuropeptide, le peptide vasoactif (VIP), sont excitatrices.

Powell et collaborateurs (1980) ont tenté de compter tous les neurones qui entrent dans chacun des 3 groupes ultrastructuraux sur des bandes verticales de même largeur pris dans différentes aires corticales. Bien que l'analyse soit encore limitée au cortex moteur (aire 4) et au cortex somesthésique (aires 1, 2, 3), ces auteurs trouvent la même proportion de cellules pyramidales et étoilées, mais une répartition différente des somas de celles-ci au niveau des diverses couches du cortex.

En conclusion, plusieurs études récentes conduisent à réviser les vues selon lesquelles le cortex cérébral serait d'une complexité inextricable. Il paraît au contraire composé d'un petit nombre de catégories cellulaires dont la morphologie et la fréquence varient peu d'une aire du cortex à l'autre et d'un Mammifère à l'autre et, contrairement à l'opinion du Cajal, aucune catégorie cellulaire particulière ne semble se développer préférentiellement chez l'Homme. Il est aussi possible, bien que pas démontré de manière précise, que comme dans le cas du cervelet, les diverses catégories cellulaires se distribuent de manière régulière — quasi-cristalline — dans le plan du cortex.

Comment une telle image du cortex se concilie-t-elle avec la diversité fonctionnelle mise en évidence, par exemple, par le travail sur les localisations ? Faut-il la rechercher au niveau des efférences et des afférences du cortex ?

Les efférences du cortex sont d'abord motrices. Le cortex moteur commande le mouvement par deux voies principales : la voie pyramidale où les cellules pyramidales se projettent directement sur les neurones moteurs de la moelle et la voie extra-pyramidale où divers relais interviennent avant le contact avec les motoneurones. D'autre part, en règle générale, toute aire corticale se projette sur un noyau thalamique qui lui est propre et sur d'autres aires corticales ipsi- ou contralatérales.

Existe-t-il une relation simple entre la distribution laminaire du soma des cellules pyramidales du cortex et la cible atteinte par leur axone ? La réponse à cette question vient d'être apportée par l'emploi d'une méthode de marquage

fort élégante. La peroxydase du raifort est facile à détecter sur coupe histologique par une méthode de coloration adéquate. Or celle-ci est littéralement aspirée par les terminaisons nerveuses axonales et transportée, de manière rétrograde, jusqu'au soma. Injectée dans la cible atteinte par un neurone, et cela quelle qu'en soit la distance, elle permet de repérer, quelques jours après, les corps cellulaires dont l'axone se projette sur cette cible particulière. Les résultats obtenus par cette méthode, tant avec le cortex visuel (aire 17) (Gilbert, 1975) qu'avec le cortex moteur (aire 4) ou somesthésique (aires 1, 2, 3) (Jones, 1979) montrent une régularité remarquable. Les cellules pyramidales des couches les plus superficielles, II et III, se projettent systématiquement sur d'autres aires corticales, soit ipsilatérales (couches II et III_A) soit contralatérales (couches III_B). Les cellules pyramidales des couches les plus profondes, V et VI, au contraire, atteignent, par leur axone, principalement des cibles sous corticales : striatum (Va), motoneurons de la moelle (Vb), thalamus (VI) dans le cas du cortex moteur, colliculus inférieur et pulvinar (V), et corps genouillé latéral (thalamus) (VI) dans le cas du cortex visuel. Là encore, au niveau du mode de câblage des sorties une remarquable uniformité existe d'une aire du cortex à l'autre. En est-il de même pour les afférences ?

Aucun organe des sens ne se projette directement sur le cortex cérébral. Un relais obligatoire a lieu au niveau du thalamus. Toute aire corticale reçoit des afférences d'un noyau thalamique particulier (qui se trouve donc en relation réciproque avec cette aire du cortex) ainsi que d'autres aires corticales ipsi- ou contra-latérales. Ces entrées ont été aussi étudiées par transport rétrograde de peroxydase mais le plus souvent par transport *antérograde* d'acides aminés et de sucres radioactifs. Le composé radioactif est injecté au niveau des somas et transporté jusqu'aux terminaisons axonales où il est détecté par autoradiographie (6-7 jours après l'injection).

D'une manière générale, les fibres thalamiques se terminent au niveau des couches III_B et IV, mais aussi, avec une densité moindre, au niveau des couches V et VI pour les cortex moteurs et sensoriels.

Le point d'impact précis de ces fibres a fait l'objet de longues controverses. Il semble désormais établi qu'elles forment des contacts synaptiques avec plusieurs types cellulaires dont les somas ou dendrites sont présents dans le territoire d'arrivée : dendrites basilaires des cellules pyramidales superficielles et dendrites apicaux de cellules pyramidales profondes, somas ou dendrites non épineux des grandes cellules étoilées — inhibitrices. En microscopie électronique les synapses établies par les fibres thalamocorticales sont toujours de type asymétrique. En accord avec cette observation, la réponse électrophysiologique à ces afférences est de type exciteur (Amassian et Weiner, 1966).

Les entrées dites « d'association », cortico-corticales ipsi- ou contralatérales, paraissent distribuées d'une manière plus diffuse dans l'épaisseur du cortex que les entrées thalamocorticales.

Bien que la distribution laminaire des zones d'arrivée des afférences corticales soit uniforme sur l'ensemble du cortex, une diversité, de type quantitatif, apparaît d'une aire à l'autre. Par exemple, les afférences thalamocorticales sont très abondantes dans un cortex « granulaire » comme le cortex sensorimoteur ou visuel, mais discrètes dans un cortex « dysgranulaire » comme celui de l'insula, ou « homotypique » comme celui des aires temporales ou pariétales. De même, l'aire 3b somesthésique paraît recevoir beaucoup plus de terminaisons de fibres commissurales (contralatérales) au niveau des couches II et III, que l'aire 4 motrice. D'une manière générale, il semble exister une balance entre les entrées thalamocorticales et cortico-corticales qui peut être mise en relation avec la fonction de l'aire considérée. Dans les aires sensorielles « primaires » comme le cortex visuel (koniocortex granulaire) les entrées thalamiques dominent alors que dans les aires « associatives » la balance entre entrées thalamiques et cortico-corticales est plus équilibrée. Par voie de conséquence, bien que plus difficile à quantifier, les sorties de chaque aire corticale sont elles aussi soumises à une variabilité du même ordre. S'il existe une grande uniformité de l'organisation cellulaire du cortex, la variation du poids respectif des diverses catégories d'afférences et d'efférences, introduit une diversification entre aires, responsable, au moins en partie, des différences architectoniques. On peut rendre compte, sur cette base, de la variabilité discrète de forme des arborisations dendritiques, modelée sur celle des fibres afférentes, ainsi que de la variabilité d'épaisseur de certaines couches, directement liée à la densité des afférences d'une catégorie particulière. Enfin, l'accroissement du nombre total de cellules consécutif à l'augmentation de surface du cortex au cours de l'évolution des Mammifères supérieurs s'accompagne d'un accroissement des possibilités d'interconnexions entre neurones corticaux, donc du nombre moyen de synapses par neurones et, par conséquent, de la complexité des arborisations dendritiques ainsi que de l'épaisseur moyenne du cortex.

La recherche de régularités dans l'organisation du cortex constitue une des voies d'approche les plus sûres pour déchiffrer sa complexité. A celles qui viennent d'être mentionnées s'en ajoute une qui, malgré sa simplicité, reste encore énigmatique sur le plan fonctionnel : l'organisation en colonnes ou bandes verticales. R. Lorente de Nó, dès 1938, propose que le cortex cérébral est composé de « chaînes verticales de neurones qui commencent à l'articulation des afférences spécifiques » et dont « l'arrangement peut être en relation avec l'existence de cellules à axones courts (étoilées) » ; « la distribution systématique de celles-ci suggère qu'à certaines phases de l'activité corticale les diverses couches déchargent d'une manière plus ou moins syn-

chrone, une rafale d'influx ». Ce modèle est rapidement mis à l'épreuve par Sperry (1947-1955) qui montre que lorsqu'on découpe le cortex visuel (chez le Chat) ou sensorimoteur (chez le Singe) en cubes verticaux, aucun déficit comportemental majeur ne s'ensuit. Mais c'est Mountcastle (1957-1959) qui apporte la première démonstration électrophysiologique d'une organisation du cortex en colonne verticale. Il enregistre l'activité unitaire des cellules du cortex somesthésique, avec des micro-électrodes de verre, en réponse à une stimulation mécanique de récepteurs sensoriels périphériques. Il distingue plusieurs catégories (ou modalités) de réponses à des stimuli sensoriels : mouvements des poils, pression sur la peau, mouvements des articulations ou stimulation mécanique du tissu conjonctif profond. Fait remarquable, observé chez le Chat et le Singe, lorsque l'électrode d'enregistrement pénètre dans le cortex perpendiculairement à sa surface, toutes les cellules rencontrées, quelle que soit leur profondeur, répondent au même type de stimulation sensorielle. Si la pénétration est oblique, il y a passage « en bloc » d'une modalité à l'autre. Le cortex somesthésique est donc organisé en colonnes verticales « pures en modalité ». Hubel et Wiesel (à partir de 1959) aboutissent à la même conclusion au niveau de l'aire 17 en suivant des activités unitaires en réponse à des stimulations visuelles. Ils distinguent les unités sur la base de leur aptitude à répondre à un œil (ipsi ou contralatéral) ou aux deux yeux (critère de dominance oculaire), à une barre lumineuse de forme, position et orientation particulières (critère de sélectivité d'orientation), au déplacement de cette barre (cellules « simples » ou « complexes »), au passage d'une zone sombre à lumineuse (cellules « on ») ou l'inverse (cellules « off »). Le paradigme expérimental utilisé soulève une difficulté d'interprétation importante : il existe plusieurs niveaux d'analyse de l'information visuelle interposés entre le monde extérieur et le cortex cérébral (rétine, corps genouillé latéral), et la question se pose de savoir quelle structure détermine la réponse enregistrée au niveau des cellules corticales. Il est clair que la propriété « on-off » est d'origine rétinienne et la dominance oculaire d'origine corticale. L'origine des propriétés simple-complexe ou de la sélectivité d'orientation est encore débattue. Quoi qu'il en soit, lors d'une pénétration verticale au niveau de l'aire 17, toutes les cellules rencontrées possèdent la même propriété de dominance oculaire et la même sélectivité d'orientation. La largeur des colonnes de dominance oculaire est de 400 μm pour un seul œil (soit 800 μm pour les deux yeux) et celle des colonnes d'orientation de 25-50 μm (soit 800 μm pour un cycle complet). Sur une même colonne, les cellules activables (identifiées par injection intracellulaire de colorant) sont indifféremment pyramidales ou étoilées.

Dans le cortex moteur du Singe, des expériences de micro-stimulation locale (Asanuma et Rosen, 1971) révèlent aussi une organisation des neurones en « colonies », sinon en colonnes qui commandent le même mouvement fin (par exemple des muscles du pouce). Finalement, l'anatomie apporte

des preuves indiscutables d'une organisation verticale régulière du cortex cérébral. Les trois méthodes employées (la coloration des fibres thalamo-corticales en dégénérescence après lésion unilatérale du corps genouillé latéral, le transport transneuronal antérograde d'acide aminé tritié injecté dans un œil, la méthode au désoxyglucose ^{14}C après occlusion d'un œil) révèlent sur section transverse une alternance régulière de plages marquées et non marquées de 0,5-1,0 mm de largeur, particulièrement nette au niveau de la couche IV où se terminent les afférences thalamiques, mais qui se propage en surface et en profondeur sur la même verticale (Hubel, Wiesel et collaborateurs, 1972, 1974, 1978).

L'examen de sections tangentielles ou de coupes sériées de sections transverses du cortex montre qu'en fait ces colonnes s'organisent en bandes qui courent à la surface du cortex suivant un dessin qui ressemble étonnamment à la robe d'un zèbre. Les colonnes d'orientation n'ont été mises en évidence que par la méthode au ^{14}C désoxyglucose après stimulation des deux yeux avec des bandes lumineuses verticales. Le marquage est plus intense au niveau des couches IVb et VI ; elles forment aussi des bandes, visibles sur sections tangentielles, d'environ 0,6 mm de largeur et dont la distribution paraît indépendante de celle des bandes d'orientation. S'il est clair que la distribution des fibres thalamo-corticales coïncide avec celle des bandes « physiologiques » de dominance oculaire, la nature des fibres ou cellules qui déterminent les bandes d'orientation n'est pas connue. S'agit-il de fibres d'association cortico-corticale ?

Une organisation régulière en bandes d'approximativement les mêmes dimensions a été observée par marquage rétrograde à la peroxydase dans les cortex moteurs et somesthésiques (Jones et collaborateurs, 1977, 1979). Les fibres commissurales, elles aussi, se projettent en bandes réciproques d'un hémisphère sur l'autre.

La raison d'être d'une régularité d'organisation aussi systématique du cortex cérébral chez les Mammifères supérieurs n'est pas comprise. Il faut distinguer à ce stade l'organisation verticale proprement dite de l'alternance répétée d'une propriété comme la dominance oculaire. La première peut simplement résulter du mode « d'enchaînement » des neurones, pour reprendre le terme de Lorente de Nó, autour d'une (ou de plusieurs) terminaisons afférente(s) thalamo-corticale ou cortico-corticale, qui servirait alors de « principe organisateur » de cet enchaînement. Une interprétation possible de la répétitivité en bandes dans le plan du cortex se fonde sur l'existence d'une symétrie bilatérale du corps, cerveau inclus. Reprenant l'argumentation des anatomistes du XVII^e siècle, qui recherchaient un point d'articulation unique entre l'âme et le corps, on peut se demander s'il n'est pas utile pour l'organisme d'éviter une représentation totalement distincte de chaque moitié du corps, mais au contraire, d'accéder à une représentation cohérente du

monde extérieur par le voisinage alterné et répétitif des projections issues de chaque moitié du corps (hémisphères cérébraux inclus).

Cette organisation en bande se superpose à un autre mode de représentation du corps appelée *somatotopie*. Pour une aire donnée du cortex, elle consiste en la projection sous forme d'une carte à deux dimensions de la distribution spatiale à 3 dimensions de récepteurs sensoriels périphériques ou de muscles squelettiques. Déjà suggérée par Fritz et Hitzig dès 1870, elle a été étudiée systématiquement chez le Singe par Woolsey et collaborateurs (1942) par la méthode des potentiels évoqués, et par Werner et Witsel (1968) par enregistrements unitaires, en réponse à des stimulations cutanées périphériques. Elle a été établie chez l'Homme par Penfield (1937). Dans tous les cas, la carte obtenue sur les cortex moteur ou somesthésiques est une double représentation simplifiée et déformée du corps, symétrique par rapport à la scissure de Rolando. Cette figurine ou « homoncule » se trouve disposée avec la séquence langue → queue orientée vers la scissure interhémisphérique. Elle présente des discontinuités, par exemple, la face est séparée du reste de la tête ; de plus, les relations de distances entre points du corps ne sont pas conservées. Chez le Rat, la représentation des moustaches est gigantesque ; chez l'Homme, ce sont celles de la main et de la face qui l'emportent. La surface occupée par la représentation corticale paraît plus directement en relation avec la densité de récepteurs (ou d'innervation motrice) périphériques qu'avec la surface du corps représentée.

Récemment, Merzenich et collaborateurs (1972-1980) ont effectué chez le Singe une microcartographie très poussée des diverses aires corticales et se sont rendu à l'évidence qu'il existe, à la surface du cortex, des représentations multiples de la périphérie : 4 de l'ensemble des corps au niveau des aires motrices et somesthésiques, 10 de la rétine au niveau du lobe occipital, 6 de la cochlée... Au cours de l'évolution des Mammifères, le nombre de représentations s'accroît avec la surface du cortex : il n'y a, par exemple, que 2 représentations de la cochlée chez l'Ecureuil, mais 6 chez le Singe. L'accroissement du nombre de représentations, le plus souvent associées à des modalités sensorielles différentes, doit vraisemblablement conduire à une amélioration des performances d'analyse du monde extérieur par le cerveau.

Suivant le schéma cybernétique simple où le cerveau est considéré sous l'angle de la relation entrée-sortie : les aires sensorielles reçoivent les signaux de l'environnement et, directement ou indirectement, en informent le cortex moteur qui déclenche l'action sur l'environnement. Selon le schéma « hiérarchique » les aires d'association situées entre les deux, élaborent cette commande, au niveau le plus élevé. Dans le but d'établir les relations intracorticales entre aires sensorielles primaires et aires d'association, Jones et Powell (1970) ont utilisé la méthode anatomique suivante : ils détruisent

chez le Singe les aires primaires somatiques (1, 2, 3), visuelle (17) et auditive, déterminent leurs aires de projection par l'observation des fibres en dégénérescence, puis, sur un autre animal, détruisent ces aires, identifient leurs projections, et ainsi de suite. Pour les voies somatiques, on trouve la séquence aires 1.2.3. → aire 5 → aire 7 (pariétale) → aires 45-46 (frontales). En accord avec le modèle hiérarchique, les routes transcorticales de chacune des 3 modalités sensorielles étudiées progressent des sites primaires vers les lobes pariéto-temporaux, puis de là, vers le lobe frontal avec une convergence de plus en plus prononcée au niveau du lobe frontal.

Ces données sur la connectivité intracorticale ont été complétées par une série d'observations, anatomiques elles aussi, sur les voies thalamo-corticales. Graybill montre que chacune des multiples représentations corticales, par exemple de la rétine, reçoit des afférences d'un noyau thalamique particulier (qui ne fait pas nécessairement partie du corps genouillé latéral). En accord avec le modèle parallèle, il existe donc une multiplicité de lignes ascendantes transthalamiques vers le cortex qui permettent vraisemblablement l'analyse simultanée de plusieurs images distinctes de l'environnement.

Les aires frontales elles-mêmes, sont en relation d'innervation réciproque avec plusieurs noyaux thalamiques. Cette intrication de voies convergentes-divergentes et de voies parallèles donne un aperçu de la complexité du câblage cortical, qui reste encore largement indéchiffré, mais certes pas indéchiffrable.

Les mécanismes corticaux qui participent, directement ou indirectement, à l'acte moteur s'explorent désormais au niveau cellulaire par des méthodes électrophysiologiques semblables à celles employées avec les aires sensorielles. L'aire *motrice* proprement dite ou *aire 4* reçoit des afférences des aires somesthésiques 1 et 2, de diverses aires d'associations et du thalamus où se projette le cervelet. La principale efférence est la voie pyramidale, constituée par les axones des cellules de Betz qui se projettent directement sur les motoneurones de la moelle. L'aire 4 se projette aussi sur les noyaux gris centraux, qui interviennent comme relais dans la commande motrice dite extra-pyramidale, sur le thalamus et sur d'autres aires corticales. Son ablation, ou sa lésion, entraîne des déficits d'autant plus prononcés que l'on monte dans l'échelle animale ; elle s'accompagne d'une paralysie flasque du membre contralatéral surtout au niveau des articulations distales. Evarts et collaborateurs enregistrent l'activité unitaire des cellules de Betz chez le Singe éveillé, à qui on demande de manipuler une poignée pour aligner deux spots lumineux sur une même verticale. Deux types de mouvements sont suivis : mouvements « fins » lorsque, au départ, les spots ne sont décalés que de quelques centimètres et mouvements « ballistiques » pour des déplacements de spots sur des distances beaucoup plus grandes. Deux catégories distinctes de neurones entrent en activité lorsque se produit chacun des deux types

de mouvements : la décharge est prolongée, précède et accompagne le mouvement dans le premier cas, alors qu'elle est brève et coïncide plus directement avec celui-ci dans le second. D'autre part, lorsque l'on perturbe artificiellement la réponse du Singe par un mouvement de torque de la poignée qu'il manipule, on constate que l'activité des neurones engagés dans les mouvements fins est beaucoup plus perturbée que celle des neurones qui accompagnent les mouvements ballistiques. Ceci suggère qu'une rétroaction sensorielle règle le mouvement fin en « boucle fermée » alors que le mouvement ballistique programmé d'avance (en particulier par le cervelet) se développe en « boucle ouverte ».

Le *lobe pariétal* (aires 5 et 7) fait partie de ce que l'on convient d'appeler le cortex d'association. Il reçoit des afférences sensorielles, en particulier visuelle et somatique, via divers noyaux thalamiques et se trouve en relations réciproques avec d'autres aires corticales comme l'aire 4 motrice, mais aussi l'aire 6 prémotrice et l'aire 46 du lobe frontal. Il se projette sur les noyaux du pont et le noyau caudé qui constituent les relais d'une ré-entrée motrice vers l'aire 4. Chez l'Homme, la lésion du lobe temporal entraîne une « amorphosynthèse » : le patient néglige ou dénie l'existence de membres contralatéraux ou même de l'espace contralatéral, où il ne dirige pas l'attention visuelle. Le syndrome devient bilatéral lorsque la lésion est importante : s'il s'agit du lobe gauche, elle s'accompagne d'aphasies et d'agnosies. Chez le Singe, les fonctions du lobe pariétal ont été étudiées par Mountcastle par un test de projection du bras et de la main sur une cible lumineuse. Sur une rampe semi-circulaire placée dans son champ visuel, une lampe s'allume puis s'éteint et l'animal doit toucher, de sa main, la cible qui s'est allumée pour recevoir une récompense (jus de fruit). D'autre part, l'ablation unilatérale du lobe pariétal a des effets catastrophiques sur la performance de ce test ; de plus, on observe, par enregistrement unitaire dans l'aire 5, une fraction de neurones (environ 10 % du total enregistré) dont l'activité augmente 4-5 fois avant la projection du bras. Ces cellules ne répondent pas directement à un signal sensoriel et leur entrée en activité ne dépend ni de la nature du signal physique utilisé dans le test ni de l'orientation du geste. Elles jouent donc un rôle de *commande* d'opérations visuelles et manuelles dans l'espace extra-personnel.

Ferrier, dès 1876, notait que la stimulation électrique du lobe pariétal entraîne des mouvements des yeux. Mountcastle a pu effectivement enregistrer dans l'aire 7 chez le Singe, des neurones qui deviennent actifs lorsque l'animal fixe son regard, poursuit avec ses yeux une cible lumineuse qui se déplace... Cette aire pariétale intervient donc dans l'*attention visuelle*. D'une manière générale, le lobe pariétal exerce un rôle de commande globale et n'est pas concerné par les détails de l'exécution laissés au système moteur proprement dit.

Le *lobe frontal* se développe chez les Primates et prend une place exceptionnelle chez l'Homme où il occupe 29 % de la surface totale du cortex. Il inclut les aires 8-11 et 44-47 de Brodmann, dont la célèbre aire 44 ou aire de Broca. Il reçoit des afférences du noyau médio-dorsal du thalamus, des cortex cingulaire et limbique et, à son niveau, convergent les voies sensorielles somatiques, auditives et visuelles (Jones et Powell, 1970). Il établit des connections réciproques avec toutes les régions d'où il reçoit des afférences sauf avec les noyaux gris centraux (noyau caudé, putamen) qui participent à la voie motrice extrapyramidale et reçoivent une efférence majeure. Il se projette aussi sur l'hypothalamus, le mésencéphale. Chez l'Homme, les lésions du lobe frontal s'accompagnent de déficits cognitifs : distractabilité, manque de concentration, perte d'intérêt pour les événements récents (il oublie de se rappeler) et, par voie de conséquence, incapacité à effectuer des projets, à les réaliser, à prendre des décisions immédiates. Des troubles du langage aussi s'observent manifestés par un agrammatisme et un sous-emploi de la récursivité (Chomsky). L'activité se trouve réduite à des comportements de routine. Une apathie s'installe, entrecoupée de périodes d'euphorie, l'humeur est puérite et les pulsions, en particulier sexuelles, désinhibées. Chez le Singe, le test dit de réponse différée (Jacobsen, 1935-1936) permet une analyse expérimentale du rôle du lobe frontal. On place devant le Singe attentif deux bols identiques renversés. Sous l'un d'eux, l'expérimentateur introduit un morceau de pomme. Un rideau tombe pendant quelques secondes-minutes, puis on laisse le Singe choisir l'un des deux bols. Si c'est celui avec la pomme, il est autorisé à la manger. Ce test peut évidemment être rendu plus complexe. L'ablation du cortex préfrontal, mais pas celle du cortex pariétal, entraîne un déficit majeur dans la performance de ce test. Les enregistrements unitaires effectués par Fuster et Alexander (1971, Fuster, 1980) dans le cortex préfrontal du Singe, au cours de la performance du test de réponse différée, ont permis de distinguer plusieurs catégories de cellules : certaines répondent par une augmentation ou une diminution d'activité aux mouvements de l'écran, d'autres sont activées pendant toute la durée du test, enfin, les plus intéressantes (17 % du total) sont inhibées pendant la présentation du stimulus et pendant la réponse, mais deviennent actives pendant le délai qui précède la réponse. La présentation complète du stimulus (bols + nourriture) est nécessaire pour leur activation et elles sont absentes chez les animaux non entraînés. Le déclenchement de leur activité est déterminé par la relation de contingence entre événements temporels séparés. Elles se répartissent en deux groupes spécialisés, semble-t-il, l'un dans la mémoire à court terme, l'autre dans la commande motrice. En conclusion, le cortex préfrontal intervient dans la programmation, dans le temps et dans l'espace, d'actes moteurs qui font suite à une série d'intégrations sensorielles et cognitives. Il est important de souligner à ce stade que, bien qu'encore très fragmentaires, ces recherches montrent qu'il devient

possible d'analyser les fonctions supérieures, ou encore globales, du cerveau au niveau unitaire et par-là de « les réduire » à des mécanismes cellulaires.

*

**

Une des manières de s'attaquer à la complexité d'organisation du cerveau adulte est de comprendre comment elle se construit au cours du développement embryonnaire et postnatal. Chez l'Homme, la première ébauche proprement nerveuse — la plaque neurale — se forme vers la 3^e semaine de vie fœtale à partir de l'ectoderme embryonnaire et se referme en tube neural. Celui-ci se renfle en 3 vésicules successives, puis se courbe au niveau de flexures. La vésicule antérieure produit deux évaginations : les vésicules cérébrales, qui, en se développant vers l'arrière, recouvrent le reste de l'encéphale. Des scissures apparaissent à la surface des vésicules cérébrales, d'abord lisses, les plus anciennes phylogénétiquement apparaissant les premières. Le nouveau-né possède encore un cerveau très immature qui ne pèse que le 1/4 de celui de l'adulte.

L'histogénèse du cortex débute par la stratification de l'épithélium qui constitue la paroi des vésicules cérébrales. Ces cellules neuroépithéliales en prolifération forment une couche matricielle pré-ventriculaire qui se sépare d'une couche marginale ou plexiforme, pauvre en corps cellulaires. Entre la 8^e et la 11^e semaine de vie fœtale chez l'Homme (E 45 - E 100 chez le Macaque) des neurones s'accumulent au milieu de la couche plexiforme. C'est l'ébauche de la *plaque corticale* d'où vont dériver les principales couches du cortex (V à VIa). D'après Marin-Padilla, seules les couches I et VIb auraient une origine différente : elles se différencieraient avant la formation de la plaque corticale et correspondraient au cortex primitif des Reptiles (chez qui la plaque corticale n'apparaît pas).

Progressivement, l'épaisseur de la plaque corticale s'accroît, tandis que celle de la couche matricielle diminue, puis les 6 couches du cortex s'individualisent, les plus profondes se formant les premières (de la 13^e à la 16^e semaine chez l'Homme ; de E 86 à E 96 chez le Macaque).

Un des résultats les plus remarquables d'études récentes sur l'histogénèse du cortex concerne la mise en correspondance des divisions cellulaires avec la ségrégation des couches corticales. L'injection de thymidine tritiée dans le fœtus (ou la femelle gestante) permet de marquer les noyaux des cellules en division ; les plus marqués de ceux-ci, détectés chez l'adulte par autoradiographie, ont effectué leur dernière division (date de naissance) au moment précis où a été réalisé le marquage chez le fœtus. Angevine et Sidman (1961) ont découvert, chez la Souris, que la date de naissance des neurones des couches les plus profondes était antérieure (E 11) à celle des couches les plus superficielles (E 15 - E 17). Le cortex se développe donc de l'intérieur

vers l'extérieur. Lorsque l'autoradiographie est pratiquée sur le tube neural 1 heure après le marquage, tous les noyaux radioactifs se retrouvent dans la couche matricielle périventriculaire. Celle-ci constitue donc le compartiment de *prolifération* à l'origine de toutes les cellules du cortex. La dernière division effectuée, les neuroblastes migrent de la couche matricielle vers la plaque corticale, et parcourent une distance qui est d'autant plus grande que la date de naissance est plus tardive.

Chez le Singe, les neurones du cortex visuel (Rakič, 1974) sont produits entre E 40 et E 100 pour une période de gestation de 165 jours. Comme chez l'Homme, le contingent total des neurones corticaux est acquis avant la naissance. Leurs dates de naissance sont : couche VI : E 45 - E 62, V et IVc : E 70, IVb : E 80, II et III : E 90. Les dates de naissance des neurones du corps genouillé latéral (E 36 - E 43) précèdent celles des neurones corticaux et leur migration s'effectue suivant une direction ventro dorsale. Enfin, les cellules ganglionnaires de la rétine se divisent de E 33 à E 62. La genèse des neurones composant les relais successifs des voies visuelles s'effectue donc dans l'ordre rétine → corps genouillé latéral → cortex, c'est-à-dire de la périphérie vers le centre.

Le mécanisme des migrations qui permettent aux neuroblastes d'atteindre la plaque corticale est mal connu. Pour Rakič, les fibres gliales radiaires, qui traversent l'épaisseur du cortex, serviraient de « rail » au neuroblastes en migration. Sur une section tangentielle de cortex, leur densité, d'ailleurs, coïncide avec celle des neurones. D'autre part, des figures d'association s'observent, au microscope électronique, entre les cellules en migration et les fibres radiaires gliales.

Chez le mutant « reeler » de Souris, l'architecture du cortex apparaît inversée : la couche VI est la plus superficielle et les couches II-III les plus profondes. Il semble que chez ce mutant ce soient les mécanismes de dépassement requis pour que les cellules dernières nées atteignent les couches les plus superficielles, puis ceux d'arrêt des cellules en migration qui sont perturbés au niveau de la plaque corticale.

L'ontogénèse des efférences du cortex visuel vers le corps genouillé latéral a été étudiée par Shatz et Rakič (1981) chez le Singe par transport antérograde de radioactivité ; elle débute à E 70 au moment où ont migré les neurones des couches VI et V dans la plaque corticale et s'achève à E 95. Les principales efférences du cortex sont donc mises en place bien avant la naissance. Il en est de même pour les afférences sous-corticales qui, à E 64, atteignent le cortex mais s'arrêtent dans la zone intermédiaire au niveau d'un *compartiment d'attente*. Puis, elles envahissent la plaque corticale au moment où y migrent les neurones qui vont constituer la couche IV (E 91). A E 124,

les fibres géniculo-corticales, d'abord distribuées de manière diffuse au niveau de la couche IV, ségrègent horizontalement en couches IVa et IVc, puis à E 144, en bandes verticales de dominance oculaire. Le bouclage des afférences et efférences thalamocorticales s'effectue de manière réciproque et synchrone. La lamination du corps genouillé a lieu entre E 90 et E 95, et précède donc, elle aussi, celle du cortex. Les grandes lignes de la connectivité extrinsèque du cortex cérébral s'établissent, de la périphérie vers le centre, bien avant que l'interaction avec le monde extérieur ne soit possible.

Il ne faut toutefois pas croire que la forme des arborisations dendritiques et axonales des cellules qui interviennent dans ces circuits s'effectue en une seule étape et précède la naissance. Bien au contraire, la morphologie de l'adulte s'acquiert et évolue encore 35 semaines après la naissance chez le Singe et 108 jours après celle-ci chez le Chat. Shatz et Rakić (1981), Lund et collaborateurs (1977-1979) et Cragg (1975) ont suivi en détail la morphogénèse des cellules pyramidales et la synaptogénèse corticale aux divers stades du développement. Au moment où les premiers axones corticaux atteignent le corps genouillé latéral chez le Singe (E 70 - E 74), les cellules pyramidales de la couche VI (qui produisent ces axones) possèdent une forme très simple réduite à un dendrite apical lisse, un dendrite basilaire dirigé en profondeur et l'axone. Progressivement, apparaissent plusieurs dendrites basilaires, des branches horizontales sur le dendrite apical, des collatérales axonales ; le soma, de fusiforme, devient pyramidal. Les dendrites « barbus » puis « chevelus » se couvrent d'épines. Le neurone traverse un stade « supra épineux » vers la 8^e semaine après la naissance chez le Singe, suivi par une phase régressive très prolongée où le nombre d'épines décroît jusqu'à la valeur de l'adulte (5-7 ans). Cette phase régressive a lieu à un moment où le jeune Singe interagit activement avec son environnement.

Le développement de la somatotopie corticale n'a donné lieu qu'à un nombre restreint d'investigations. L'exemple le plus étudié est celui de la projection des vibrisses du museau de la Souris ou du Rat. Van der Loos et Woolsey (1973) ont découvert sur des coupes tangentielles au niveau de la couche IV du cortex somesthésique des rangées de « barils » de 200 à 400 μm de diamètre dont les bords sont constitués par l'accumulation de corps cellulaires. La stimulation d'une vibrisse entraîne une réponse électrique au niveau d'un seul baril et sa destruction localisée à la naissance fait disparaître le baril correspondant chez l'adulte. A chaque vibrisse correspond donc un baril cortical. La forme de chaque baril coïncide avec celle des fibres thalamo-corticales qui occupent le centre du baril. De plus, on retrouve au niveau du complexe ventrobasal du thalamus des rangées de bariloïdes de 70 μm de diamètre dont la disposition reprend celle des barils corticaux et des vibrisses. La destruction localisée des vibrisses à la naissance chez le Rat entraîne la disparition, à la fois, des bariloïdes et des barils

correspondants. La même opération effectuée 4-5 jours après la naissance n'altère que la topologie des barils, pas celle des bariloïdes. Passée cette période critique, l'ablation des vibrisses n'a aucun effet sur la distribution des bariloïdes et barils observés chez l'adulte. La détermination de la somatotopie thalamique précède donc celle du cortex. Les mécanismes qui interviennent dans la mise en place de ces somatotopies sont encore mal connus : une organisation diffuse et multimodale pourrait précéder la distribution précise et unimodale de l'adulte.

Les effets de l'expérience sur le développement du cortex cérébral ont été explorés en détail au niveau de l'aire 17 chez le Chat et le Singe par Wiesel et Hubel à partir de 1963. Ils montrent que l'occlusion d'un œil à la naissance par suture des paupières entraîne une atrophie des neurones du corps genouillé latéral (leur surface diminue de 25 à 40 %) sans que leurs propriétés physiologiques changent de manière significative. Par contre cette intervention affecte très profondément la physiologie des neurones corticaux. D'abord, le Chat voit mal l'œil privé de lumière : il se heurte à des obstacles placés sur son chemin et tombe d'une table où on l'a déposé. Normalement les cellules du cortex répondent soit à un seul œil (contra- ou ipsi-latéral) soit aux deux avec une dominance d'un œil sur l'autre plus ou moins prononcée. Après occlusion post-natale de l'œil droit, les cellules enregistrées dans l'aire 17 gauche répondent uniquement à la stimulation de l'œil ipsi-latéral qui a été soumis à une expérience visuelle normale. Ce déficit ne résulte pas de lésions importantes de la rétine ou du corps genouillé latéral, mais apparaît principalement cortical. L'absence d'expérience visuelle d'un œil chez l'adulte pendant plus d'un an n'a pas d'effet, par contre une période critique existe après la naissance, où l'occlusion d'un œil entraîne une lésion corticale. Elle débute vers la 4^e semaine chez le Chaton et se prolonge jusqu'à la 6-8^e semaine et quelques jours de privation de lumière pendant cette période suffisent pour modifier les propriétés des neurones corticaux. Fait remarquable, si au lieu d'un seul œil les deux sont fermés pendant la période critique peu d'anomalies de dominance oculaire s'observent. Seul le dysfonctionnement résultant d'une asymétrie de vision des deux yeux a donc un effet.

On sait que, chez l'adulte, les cellules possédant la même dominance oculaire se regroupent en bandes verticales que l'on met en évidence aisément par autoradiographie après injection d'un acide aminé radioactif dans l'œil. D'abord diffuses, les projections géniculo-corticales se distribuent en bandes alternées de dominance oculaire plusieurs semaines *avant* la naissance chez le Singe (Rakič, 1976). L'occlusion d'un œil après la naissance entraîne chez l'adulte un rétrécissement des bandes correspondantes accompagné de leur fragmentation. La privation de vision d'un œil provoque donc, à la fois, une atrophie du soma des neurones du corps genouillé latéral et une rétraction de leur arborisation axonale au niveau du cortex. Celles-ci sont toutefois

capables de réoccuper le territoire perdu si l'expérience de privation sensorielle a été suffisamment brève pour devenir réversible.

L'analyse électrophysiologique des modifications synaptiques associées à l'occlusion d'un œil (Singer, 1979) confirme une diminution des réponses excitatrices associées aux fibres géniculocorticales, sans modification essentielle de la connectivité intra-corticale. L'occlusion d'un œil entraîne donc une déconnection anatomique et fonctionnelle des axones thalamo-corticaux au profit de l'autre œil.

La distribution en bandes des afférences corticales n'existe pas dans tous les cortex. C'est ainsi que, chez la Grenouille, les axones des cellules ganglionnaires de la rétine sur le toit optique ou tectum se croisent complètement et se projettent sur le tectum contralatéral. M. Constantine-Paton (1981) greffe l'ébauche d'un 3^e œil à une jeune neurula et observe que les fibres issues de cet œil surnuméraire se projettent sur le tectum contralatéral et là s'organisent en bandes répétées avec les projections de l'œil normal. Comme chez le Singe, les projections d'abord mélangées ségrègent progressivement au cours du développement. Une compétition semble se produire entre fibres nerveuses issues d'yeux différents. Celle-ci peut avoir lieu sans greffe d'œil surnuméraire, lorsque l'un des deux tectums est enlevé chez l'embryon. L'examen de la carte des projections rétinienne montre que celle-ci n'est pas perturbée — et donc paraît indépendante — de l'organisation en bandes.

Divers modèles théoriques (Von der Marlsburg, Swindale) rendent compte de la mise en place des bandes de dominance oculaire au cours du développement, ainsi que de l'effet de l'expérience visuelle. Ils restent encore très phénoménologiques.

Pour conclure, il apparaît clairement que des recherches récentes, principalement d'anatomie fine et quantitative, conduisent à l'énoncé de règles d'organisation du cortex cérébral qui en réduisent l'apparente complexité et de plus révèlent des mécanismes élémentaires de développement particulièrement économiques en gènes de structure.

J.-P. C.

SÉMINAIRES

Maladies du système nerveux d'origine autoimmune

J.F. BACH : Concepts actuels sur l'autoimmunité.

A. GOVAERT : Immunogénétique des maladies neurologiques - Myasthénie - Sclérose en plaques.

- R. LEBAR : Encéphalite autoimmune expérimentale.
A. VINCENT : Myasthenia gravis and experimental myasthenia.
M.A. BACH : Immunologie de la sclérose en plaques.
B. FULPIUS : Epilepsie essentielle d'origine autoimmune ?
J.F. BACH : Thymus et myasthénie.
V. TER MEULEN : Slow viruses and neurological diseases.
J.P. THIERY : Analyse immunologique des propriétés adhésives des cellules nerveuses.

COMPTE RENDU D'ACTIVITÉ DU LABORATOIRE DE COMMUNICATIONS CELLULAIRES
ANNÉE 1980

Pendant l'année 1980, l'activité du laboratoire a été centrée comme par le passé, autour de deux thèmes principaux : 1) les propriétés structurales et fonctionnelles de la protéine réceptrice de l'acétylcholine sous forme purifiée et intégrée à la membrane sous-synaptique et 2) le développement de la synapse étudié sur la jonction neuro-musculaire de l'embryon de Poulet et sur le cervelet de la Souris et de quelques-uns de ses mutants neuropathologiques. Une nouvelle ligne d'expériences a, de plus, été abordée cette année. Il s'agit d'une tentative d'isolement de facteur(s) stimulant la croissance de neurites propre aux neurones de la moelle épinière d'embryon de Poulet.

I. - *STRUCTURE DE LA PROTÉINE RÉCEPTRICE
DE L'ACÉTYLCHOLINE*

1. *Identification morphologique des formes légères et lourdes de la molécule de récepteur cholinergique par microscopie électronique (CARTAUD et al., 1980)*

La molécule de récepteur cholinergique peut exister sous deux formes hydrodynamiques : une forme légère (L) (coef. de sédimentation 9 S, rayon de Stokes 7 nm) et une forme lourde (H) (coef. de sédimentation 13 S, rayon de Stokes 8,5 nm) ; la forme H (M. Mol. 500 000) résulte de la dimérisation de la forme L (M. Mol. 250 000) par l'intermédiaire d'un pont disulfure intermoléculaire qui associe deux chaînes δ . L'observation au microscope électronique, par contraste négatif, des formes L et H de *Torpedo marmorata*

purifiées puis « reconstituées » au sein de vésicules lipidiques de grande taille a révélé des paires coplanaires de rosettes, ou doublets de forme L. L'analyse statistique des distances centre à centre entre paires de rosettes déterminées sur micrographies permet de conclure que les doublets et les rosettes isolées sont les contreparties morphologiques respectives des formes H et L de la molécule de récepteur.

2. Structure et rôle des quatre chaînes polypeptidiques du récepteur

Le traitement par le bromure de cyanogène de la chaîne α fragmente celle-ci en un ensemble de peptides dont un, de masse moléculaire apparente 5 000, est marqué par un ligand d'affinité du site récepteur de l'acétylcholine, le MPTA. Ce peptide a été purifié par électrophorèse dénaturante en gel de polyacrylamide et par chromatographie à haute pression en phase liquide (GIRAUDAT, non publié).

Le site de liaison des bloquants non-compétitifs de la réponse physiologique : les anesthésiques locaux aminés ou la toxine de Grenouille histrionicotoxine existe à proximité du site récepteur de l'acétylcholine dans les fragments de membranes riches en récepteur. Des expériences préliminaires ont permis de montrer qu'un dérivé de photoaffinité d'un anesthésique local, le 5-azido-³H-triméthisoquin (5A-³HT) marque deux bandes de masse moléculaire apparente 50 et 66 000 dalton qui, sur gel SDS, coïncident avec les chaînes β et δ du récepteur. Ce marquage est inhibé par l'histrionicotoxine ou les anesthésiques locaux et est augmenté par la carbamylcholine. Il satisfait donc les critères de liaison sur le site de haute affinité des bloquants non-compétitifs. Le marquage de deux chaînes polypeptidiques au lieu d'une paraissait surprenant (OSWALD *et al.*, 1980).

En fait, quand les fragments de membranes sont purifiés puis solubilisés par le cholate de Na en présence d'un cocktail d'inhibiteurs de protéase, en particulier d'EDTA, une seule bande de protéine est marquée par le 5A-³HT et correspond à la chaîne δ du récepteur. D'autre part, quand l'EDTA est remplacé dans le mélange par le calcium, une bande marquée au 5A-³HT de M. Mol. apparente 50 000 apparaît mais diffère de la chaîne β du récepteur sur des gels de polyacrylamide à mailles étroites. L'interprétation de ces données est que 1) le 5A-³HT marque sélectivement la chaîne δ , 2) une protéase calcium dépendante copurifie avec les fragments de membranes riches en récepteur et dégrade la chaîne δ marquée au 5A-³HT en une bande radioactive de masse moléculaire 50 000 (SAITOH *et al.*, 1980).

L'attaque protéolytique sélective des fragments de membranes riches en récepteur a permis de montrer que les chaînes α , β et δ traversent la membrane et que la chaîne de masse moléculaire 43 000 est présente exclusivement sur la face interne, cytoplasmique, de la membrane sous-synaptique.

La même méthode a été appliquée à la dissection de la chaîne δ qui porte quatre sites distincts : 1) un site d'attachement de résidus glycosidiques, 2) le site marqué par le 5A-³HT, 3) un site phosphorylé *in vitro*, 4) la cystéine engagée dans la dimérisation L \rightarrow H. L'attaque du récepteur par des concentrations croissantes de trypsine donne successivement des fragments de M. Mol. apparente 50 000, 49 000 et 47 000. Ce dernier fragment est encore glycosylé et contient le site marqué au 5A-³HT ; il a le même acide aminé N-terminal, la valine, que la chaîne δ ; le site phosphorylé est situé entre les points de clivage qui donnent les fragments de masse moléculaire 49 et 50 000 dalton ; finalement, la cystéine responsable de la dimérisation L \rightarrow H a été localisée sur le fragment de masse moléculaire 16 000 qui est libéré à la suite du premier clivage de la chaîne δ en fragment 50 000 (WENNOGLE *et al.*, 1980).

II. - INTERACTIONS ALLOSTÉRIQUES ET TRANSITIONS CONFORMATIONNELLES DU RÉCEPTEUR MEMBRANAIRE

Les caractéristiques structurales qui déterminent la réactivité différentielle d'un ligand avec le site récepteur et le site de liaison des bloquants non-compétitifs ont été explorées à l'aide de plusieurs séries nouvelles d'analogues acylés de l'acétylcholine. Essayés sur l'électroplaque d'*Electrophorus electricus*, les membres C₁, C₂ et C₃ des séries dansylamidoacétylcholine (C_nDACHol) et naphtylsulfamidoacétylcholine (C_nNACHol) se comportent comme des bloquants non-compétitifs tandis que les analogues en C₄, C₅ et C₇ montrent un caractère agoniste puissant avec une affinité apparente qui s'accroît avec la longueur du bras carboné. D'autre part, les C₁₀-DACHol et -NACHol sont des bloquants non-compétitifs très efficaces. Le remplacement du noyau aromatique N-terminal par un groupe polaire abolit l'effet bloquant non-compétitif et fournit des agonistes. Sans ambiguïté le site récepteur de l'acétylcholine et le site de liaison des bloquants non-compétitifs possèdent des propriétés structurales différentes (WAKSMAN *et al.*, 1980).

L'exploration de l'interaction de l'agoniste Dns-C₆-Cho avec les fragments de membranes riches en récepteur à l'aide d'une méthode de mélange rapide a permis de résoudre, cette année, un processus de relaxation « intermédiaire » qui se développe dans le domaine de temps de 1 à 100 millisecondes. La constante apparente de vitesse du signal fluorescent augmente d'une manière sigmoïde en fonction de la concentration d'agoniste (Coef. de Hill $n_H = 1,86$) et atteint un maximum à une concentration de DNS-C₆-Cho de 300 μ m. Ces données s'interprètent dans le cadre d'un modèle qui inclut des interactions coopératives entre sites récepteurs et une isomérisation de la protéine

réceptrice vers un état « intermédiaire » qui pourrait faire partie du processus de « désensibilisation rapide » de la réponse physiologique récemment découvert (HEIDMANN et CHANGEUX, 1980).

III. - RECONSTITUTION D'UN RÉCEPTEUR CHOLINERGIQUE FONCTIONNEL

L'incorporation de la forme L (9 S) du récepteur dans un mélange complexe de lipides (asolectine) suivant une méthode décrite précédemment fournit des vésicules qui montrent une régulation du flux de ^{22}Na par la carbamylcholine mais aucun effet de cet agoniste sur le transport de chlore. La réponse de perméabilité est bloquée par les toxines α de venin de Serpent et est sujette à la désensibilisation. De plus, les bloquants non-compétitifs des canaux ioniques, comme le triméthisoquin et l'histrionicotoxine, abolissent la réponse de perméabilité aux ions. La forme L du récepteur de l'acétylcholine contient donc le canal ionique ainsi que le site de liaison des bloquants non-compétitifs. Si l'on remplace l'asolectine par la phosphatidylcholine d'œuf, il s'ensuit une réaggrégation séparée du récepteur et des lipides et, par voie de conséquence, l'échec de la reconstitution. De plus, l'augmentation de la force ionique lors de l'élimination du détergent diminue l'efficacité d'incorporation du récepteur ce qui suggère que des interactions ioniques jouent un rôle important dans le processus de reconstitution (POPOT *et al.*, 1981).

Les lipides comme l'asolectine jouent un rôle critique dans la reconstitution en empêchant la protéine réceptrice de tomber dans un état de faible affinité « dégénéré » qui ne peut plus être interconverti vers l'état de haute affinité. Cette année, une méthode a été mise au point qui ne requiert plus l'addition de lipides pour la conservation des propriétés fonctionnelles du récepteur dans son état soluble L. Cette méthode inclut l'échange du cholate par un détergent neutre, le Tween 80. Dans ces conditions, la transition lente et l'effet du triméthisoquin sur cette transition sont conservés (HEIDMANN *et al.*, 1981).

IV. - ÉVOLUTION DU RÉCEPTEUR AU COURS DU DÉVELOPPEMENT DE LA SYNAPSE CHOLINERGIQUE ET DE SA MATURATION

Dans la membrane sous-synaptique de la synapse électromotrice et de la jonction neuromusculaire adultes, la protéine réceptrice de l'acétylcholine forme des agrégats denses et immobiles et son temps de vie est supérieur

à 10 jours, alors que dans la fibre musculaire embryonnaire il est animé d'un mouvement de translation rapide et possède un temps de renouvellement métabolique beaucoup plus bref (environ 18 heures). Les raisons de ces différences ont été recherchées au niveau de la structure primaire du récepteur, de modifications covalentes de celui-ci et/ou de son environnement membranaire local.

La *phosphorylation* a été suggérée comme modification covalente intervenant au cours de la synaptogénèse. De fait, le récepteur d'organe électrique peut être phosphorylé *in vitro* et sa phosphorylation (ou déphosphorylation) modifient sa libération de la membrane sous-synaptique par des détergents ainsi que sa susceptibilité à la dénaturation thermique. Cette année, l'état de phosphorylation du récepteur de l'acétylcholine a été comparé chez des Torpilles *nouveau-né* et *adulte*. Le récepteur du nouveau-né paraît plus susceptible à la dénaturation thermique et focalise à un pH isoélectrique plus alcalin (de 0,1 unité pH) que celui de l'adulte mais tous les deux ont la même composition en sous-unités. Le traitement du récepteur adulte par la phosphatase alcaline de *E. coli* diminue sa stabilité thermique et déplace son point isoélectrique vers un pH plus alcalin mais aucun de ces effets n'est observé avec le récepteur du nouveau-né. L'état de phosphorylation du récepteur augmente donc au cours du développement de l'organe électrique (SAITOH et CHANGEUX, 1981).

La *chaîne de masse moléculaire* 43 000 est une protéine périphérique interne présente dans les fragments de membranes riches en récepteur. Cette année, plusieurs observations expérimentales ont conduit à la suggestion que cette protéine possède un rôle *structural*. Après libération de la protéine 43 000 par traitement alcalin, l'organisation en ruban des rosettes de récepteur observé par cryodécapage (congélation lente) est remplacée par un réseau de grande dimension (maille environ 100 nm) qui résulte d'une redistribution latérale des rosettes pendant la congélation (CARTAUD *et al.*, 1981).

Après marquage des fragments de membranes riches en récepteur par un dérivé paramagnétique de la N-ethyl maléimide, aucun mouvement des protéines déterminé par la méthode de résonance de spin électronique par transfert de saturation n'est décelable. Par contre, la libération de la protéine 43 000 par traitement à pH 11 permet d'observer un mouvement de rotation avec un temps de corrélation de rotation de 30-100 μ seconde. La réassociation de la protéine 43 000 provoque une restriction de ce mouvement. Son interaction avec la face interne de la membrane sous-synaptique contribue donc à l'immobilisation du récepteur.

Des expériences de dénervation et de régénération effectuées avec le muscle squelettique adulte ont conduit à la proposition que sur la face externe de la membrane sous-synaptique, la membrane basale, ou l'un de ses

constituants, joue le rôle de facteur « organisateur » de l'accumulation dense de récepteur cholinergique. Cette année, la distribution des macromolécules de la membrane basale et de la matrice intercellulaire explorée par immunocytochimie de fluorescence en microscopie optique avec l'électroplaque d'*E. electricus* a été trouvée diffuse dans le cas des collagènes de type I et III et limité à la *face innervée* de l'électroplaque dans le cas des collagènes de type IV et V, de la laminine, de la fibronectine et de l'actine (LABAT-ROBERT *et al.*, 1980).

V. - *TENTATIVE D'IDENTIFICATION
A PARTIR DE MILIEUX CONDITIONNÉS
PAR DES CELLULES MUSCULAIRES D'UN FACTEUR
DE CROISSANCE DES NEURITES PROPRES AUX NEURONES
DE LA MOELLE ÉPINIÈRE D'EMBRYON DE POULET*

(HENDERSON *et al.*, 1981)

Au cours de la synaptogénèse, il a été postulé que des facteurs « rétrogrades », libérés par la cellule cible, jouaient un rôle essentiel dans la poussée de neurites et dans leur stabilisation au cours de la synaptogénèse. Nous avons essayé d'identifier un facteur de ce type dans le cas de la jonction neuromusculaire d'embryon de Poulet. Des milieux conditionnés par des cellules musculaires provoquent l'extension de neurites par des neurones dissociés en culture obtenus à partir de tubes neuraux d'embryon de Poulet de 4 à 5 jours. Le facteur actif est macromoléculaire et son activité détruite par la trypsine. Après filtration sur gel de Sépharose l'activité est récupérée dans des pics qui correspondent à des M. Mol. apparentes de 40 000 et 500 000 ainsi que dans le volume mort de la colonne. Les milieux conditionnés par des cellules de foie ou de peau de Poulet contiennent aussi une activité qui stimule la croissance des neurites mais à un plus bas niveau. Aucune activité n'est trouvée dans le NFG, l'insuline, le sérum de Veau fœtal, le sérum de Cheval et dans des milieux conditionnés par le poumon et le cœur d'embryon de Poulet ou par le clone C₆ de cellules gliales.

VI. - *SYNAPTOGÉNÈSE DANS LE CERVELET DE LA SOURIS
ET DE QUELQUES-UNS DE SES MUTANTS NEUROPATHOLOGIQUES*

(MARIANI et CHANGEUX, 1981)

Les études microphysiologiques effectuées dans le laboratoire ont permis d'établir chez le jeune Rat l'existence d'une multiinnervation transitoire des

cellules de Purkinje par les fibres grimpantes qui précède la monoinnervation de l'adulte. Cette année, l'analyse de la multiinnervation grimpante a été poursuivie chez le jeune Rat et chez le mutant *staggerer* ; de plus, l'activité spontanée des cellules olivaires au cours du développement postnatal a été enregistrée.

Dans le cervelet du mutant *staggerer*, les fibres parallèles n'établissent pratiquement aucune synapse avec les dendrites des cellules de Purkinje qui se trouvent dépourvues d'épines tertiaires. Des enregistrements unitaires extracellulaires des cellules de l'olive inférieure et intracellulaires dans les cellules de Purkinje chez le mutant *staggerer* ont montré que des synapses fonctionnelles existent entre fibres grimpantes et cellules de Purkinje chez le mutant *staggerer* et que la grande majorité des cellules de Purkinje des animaux mutants adultes sont multiinnervées par les fibres grimpantes.

Des enregistrements intracellulaires de potentiels postsynaptiques de fibres grimpantes (et aussi de potentiels d'actions) ont été obtenus dans des cellules de Purkinje du vermis de Ratons âgés de 3 à 15 jours (310 neurones). Ces résultats démontrent que la multiinnervation grimpante est présente dès 3 jours et établissent que dans les cellules de Purkinje multiinnervées par les fibres grimpantes, l'efficacité des différentes fibres grimpantes n'est pas la même. Le nombre moyen de fibres grimpantes par cellule de Purkinje passe par un maximum au 5^e jour post-natal puis décroît régulièrement jusqu'à ce que la monoinnervation soit établie au 15^e jour post-natal. Enfin, la décharge spontanée des potentiels postsynaptiques d'excitation des fibres grimpantes a été trouvée plus importante dans les cellules de Purkinje multiinnervées que monoinnervées.

Des enregistrements unitaires extracellulaires effectués sur 250 neurones olivaires du jour post-natal 1 jusqu'à l'âge adulte montrent une augmentation régulière (9-10 ×) de l'activité des neurones olivaires au cours du développement. La comparaison aux mêmes âges de l'activité olivaire moyenne et de l'activité évoquée dans les cellules de Purkinje par les fibres grimpantes donne une idée du nombre moyen de fibres grimpantes se terminant sur chaque cellule de Purkinje à chaque âge. Ce nombre évolue d'environ 4 à 5-6 jours, à environ 2 à 8-9 jours et décroît ensuite jusqu'à 1 du 13^e au 15^e jour, quand la monoinnervation est complètement établie. La détermination du nombre moyen de fibres grimpantes par cellules de Purkinje effectuée par 2 méthodes différentes (activité spontanée et nombre de paliers dans la réponse évoquée) donne donc des résultats très superposables.

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 1980-1981

P.L. WOODHAMS, J. COHEN, J. MALLET et R. BALAZS, *A preparation enriched in Purkinje cells identified by morphological and immunocytochemical criteria (Brain Res., 199, 435-442, 1980).*

C.E. HENDERSON, M. HUCHET et J.P. CHANGEUX, *Neurite outgrowth from embryonic chicken is promoted by media conditioned by muscle cells (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 78, 2625-2629, 1981).*

J. CARTAUD, A. SOBEL, A. ROUSSELET, P.F. DEVAUX et J.P. CHANGEUX, *Consequences of alkaline treatment for the ultrastructure of the acetylcholine receptor-rich membranes from Torpedo marmorata electric organ (J. Cell. Biol., sous presse, 1981).*

J. MARIANI et J.P. CHANGEUX, *Etude par enregistrements intracellulaires de l'innervation multiple des cellules de Purkinje par les fibres grimpanes dans le cervelet du Rat en développement (C.R. Acad. Sci. Paris 291, 97-100, 1980).*

L.P. WENNOGLE, R. OSWALD, T. SAITOH et J.P. CHANGEUX, *Dissection of the 66,000 dalton subunit of the acetylcholine receptor (Biochemistry, 20, 2492-2497, 1981).*

J.P. CHANGEUX, J. GIRAUDAT, T. HEIDMANN, J.L. POPOT et A. SOBEL, *Functional properties of the acetylcholine receptor protein (Neurochem. Int., 2, Pergamon Press Ltd, 219-231, 1980).*

J. LABAT-ROBERT, T. SAITOH, G. GODEAU, L. ROBERT et J.P. CHANGEUX, *Distribution of macromolecules from the intercellular matrix in the electroplaque of Electrophorus electricus (F.E.B.S. Lett., 120, 259-263, 1980).*

J. CARTAUD, J.L. POPOT et J.P. CHANGEUX, *Light and heavy forms of the acetylcholine receptor from Torpedo marmorata electric organ : morphological identification using reconstituted vesicles (F.E.B.S. Lett., 121, 327-332, 1980).*

T. HEIDMANN et J.P. CHANGEUX, *Interaction of a fluorescent agonist with the membrane-bound acetylcholine receptor from Torpedo marmorata in the millisecond time range : resolution of an « intermediate » conformational transition and evidence for positive cooperative effects (Biochem. Biophys. Res. Commu., 97, 889-896, 1980).*

J.L. POPOT, J. CARTAUD et J.P. CHANGEUX, *Reconstitution of a functional acetylcholine receptor : incorporation into artificial lipid vesicles and pharmacology of the agonist-controlled permeability changes (Eur. J. Biochem., 118, 203-214, 1981).*

J. MARIANI et J.P. CHANGEUX, *Ontogenesis of olivocerebellar relationships : I - studies by intracellular recordings of the multiple innervation of Purkinje cells by climbing fibers in the developing Rat cerebellum (J. of Neurosci., sous presse, 1981).*

J. MARIANI et J.P. CHANGEUX, *Ontogenesis of olivocerebellar relationships : II - spontaneous activity of inferior olivary neurons and climbing fiber-mediated activity of cerebellar Purkinje cells in developing rats (J. of Neurosci., sous presse, 1981).*

R. OSWALD et J.P. CHANGEUX, *Ultraviolet light induced labeling by non-competitive blockers of the acetylcholine receptor from Torpedo marmorata (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 78, 3925-3929, 1981).*

T. SAITOH et J.P. CHANGEUX, *Change in the state of phosphorylation of the acetylcholine receptor during maturation of the electromotor synapse in Torpedo marmorata electric organ (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., sous presse, 1981).*

J.P. CHANGEUX, *The acetylcholine receptor : an « allosteric » membrane protein (In « Harvey Lectures », sous presse, 1981).*

T. HEIDMANN, J.B. CUISINIER et J.P. CHANGEUX, *Conservation des propriétés allostériques de la protéine réceptrice de l'acétylcholine en solution détergente sans addition de lipides (C.R. Acad. Sci. (Paris), 292, 13-15, 1981).*

J.P. CHANGEUX, *Properties of the acetylcholine receptor from fish electric organ (Nobel Foundation Symp., sous presse, 1981).*

J. MALLET, *Biochemistry and immunology of neurological mutants in the Mouse (Current Topics in Develop. Biol., 15, 41-65, 1980).*

J.P. CHANGEUX, Ph. COURREGE, A. DANCHIN et J.M. LASRY, *Un mécanisme biochimique pour l'épigénèse de la jonction neuromusculaire (C.R. Acad. Sci. (Paris), 292, 449-453, 1981).*

M. TOUTANT, J.P. TOUTANT, D. RENAUD, G. LE DOUARIN et J.P. CHANGEUX, *Effet de la stimulation médullaire chronique sur le nombre total de sites d'activité acétylcholinestérasique du muscle posterior latissimus dorsi de l'embryon de Poulet (C.R. Acad. Sci. (Paris), III, 292, 771-775, 1981).*

R. OSWALD et J.P. CHANGEUX, *Selective labeling of the δ subunit of the acetylcholine receptor by a covalent local anesthetic (Biochemistry, sous presse, 1981).*

J. MARIANI, *Extent of multiple-innervation of Purkinje cells by climbing fibers in the olivocerebellar system of weaver, reeler and staggerer mutant mice (J. Neurobiol., soumis, 1981).*

CONFÉRENCES DONNÉES SUR INVITATION A DES CONGRÈS, COLLOQUES
ET SYMPOSIA INTERNATIONAUX

Jean-Pierre CHANGEUX :

- International Titisee Conference on Membrane Channels, Titisee (R.F.A.), 6-8 mars 1980.
- Neurosciences Research Program, Boston (U.S.A.), 7-9 mai 1980.
- Symposium on Molecular Aspects of Bioelectricity, Liège (Belgique), 25-27 mai 1980.
- International Congress of Physiology, Satellite Symposium, Bremen (R.F.A.), 9-12 juillet 1980.
- 13th F.E.B.S. Meeting, Jerusalem (Israël), 23-29 août 1980.
- Conférence à l'Université d'Innsbruck (Autriche), 15-17 septembre 1980.
- Neurosciences Research Program, Boston (U.S.A.), 19-22 octobre 1980.
- Conférences au N.I.H. Bethesda et à St Louis University, St Louis (U.S.A.), 23-24 octobre 1980.
- Workshop, Brown University, Providence (U.S.A.), 16-19 novembre 1980.
- Second Nobel Conference, Karolinska Institutet, Stockholm (Suède), 7-9 décembre 1980.
- Colloque Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried (R.F.A.), 5 février 1981.
- Société Française de Philosophie, Paris, 28 février 1981.
- Conférence plénière, British and Irish Biochemical Society Symposium, Trinity College, Université de Dublin (Irlande), 26-27 mars 1981.

Thierry HEIDMANN :

- Participation au Colloque Neurosciences au Touquet, 1-4 octobre 1980.

Jean MARIANI :

- Participation au Colloque Neurosciences au Touquet, 1-4 octobre 1980.
- Conférence Institut de Neurophysiologie, Marseille, avril 1981.
- 1st Meeting of the International Society for Developmental Neurosciences, Strasbourg, 1-4 juillet 1980.

Pierre BENOIT :

- Participation au Colloque Neurosciences au Touquet, 1-4 octobre 1980.
- Rencontres de Méribel, Les Arcs (Savoie), Mars 1981.

Jérôme GIRAUDAT :

- Participation au Colloque Neurosciences au Touquet, 1-4 octobre 1980.
- Participation au Congrès du Neurosciences Research Program, Woods Hole (U.S.A.), 4-9 mai 1981.

Christopher HENDERSON :

- 1st Meeting of the International Society for Developmental Neurosciences, Strasbourg, 1-4 juillet 1980.

Tsunao SAITOH :

- Embo Workshop, Villejuif, 26-28 mars 1980.

Anne DEVILLERS-THIERY :

- Symposia on Molecular and Cellular Biology, Queenstone, Colorado (U.S.A.), I.C.N.-U.C.L.A., 13-21 mars 1981.

DISTINCTION

Jean-Pierre CHANGEUX

- Grand prix international de la section des Sciences, Académie de Lutèce (décembre 1980).