

Communications cellulaires

M. Jean-Pierre CHANGEUX, professeur

Le cours intitulé « Cartes cérébrales et cartes mentales » s'inscrit dans le cadre d'une démarche générale dont l'ambition est d'aborder le problème du *codage* des « objets mentaux » sur la base des données de la biologie moléculaire et cellulaire du système nerveux central, en particulier sur celles présentées au cours des années précédentes (biologie moléculaire des récepteurs de neurotransmetteurs, mécanismes élémentaires de l'apprentissage). L'accent a été mis, cette année, sur les questions de *topologie* d'ensembles organisés de neurones.

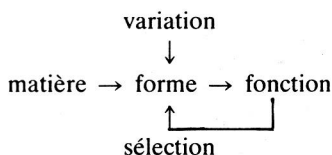
I. APERÇU PHILOSOPHIQUE ET HISTORIQUE DE LA NOTION DE FORME

En guise d'introduction, ont été présentées les principales thèses philosophiques qui se rapportent à la notion de *forme* de l'Antiquité à la fin du XIX^e siècle.

a) Antiquité grecque

Dès le V^e siècle avant notre ère, la PHYSIQUE MILÉSIENNE s'intéresse à la mesure, par exemple de la distance d'un bateau ou de la hauteur d'une pyramide (Thalès), trace les premières cartes géographiques (Anaximandre) et suggère les premiers modèles concrets de phénomènes naturels jusque-là considérés comme mystérieux (orages, tremblements de terre...). De cette époque, datent les premières définitions mathématiques d'une forme et les premiers calculs sur ces formes. Puis, les ATOMISTES (Empédocle, Démocrite) proposent que les formes sont engendrées par « assemblage » et « séparation » d'atomes et que la perception de ces formes fait intervenir des images ou « simulacres qui conservent longtemps l'ordre et la position des atomes de l'objet ». PYTHAGORE et les pythagoriciens adoptent une démarche opposée à celle du positivisme de l'École de Milet et mêlent délibérément Science des nombres et ésotérisme. Pour eux, les nombres sont le « principe, la racine, la

source de toute chose » et le monde en est leur produit. Toutefois, à cette occasion, l'arithmétique s'individualise en science autonome et les premières démonstrations mathématiques apparaissent. PLATON poursuit la démarche des pythagoriciens et propose de manière radicale que les Idées ou Formes se séparent des choses sensibles ou substances concrètes dans lesquelles elles résident. Elles font partie d'un monde à part et expriment les vérités éternelles « transcendantes » de la géométrie. Pour lui, l'organisation du monde résulte d'une *mathesis divina* et se réalise conformément à ces mesures suivant des proportions exactes. L'esprit humain qui a contemplé les divines Idées les redécouvre en lui-même à l'occasion de l'expérience sensible. Il s'en « ressouviend ». Les thèses platoniciennes refloriront au XVII^e siècle avec DESCARTES et MALEBRANCHE et séduiront encore bien des esprits même de nos jours. ARISTOTE rejette délibérément, l'appartenance des Idées à un monde séparé et incite au retour à l'observation. Selon lui, les corps élémentaires sont composés de matière première et de leur forme distinctive, et celle-ci est identifiable par des opérations *logiques*, des raisonnements qui n'ont plus rien de métaphysiques. Pour Aristote, la forme détermine la matière mais la forme est elle-même déterminée par la fonction en vue de la réalisation d'une Fin qui assure la conservation de l'être, son accroissement, son épanouissement. L'« entéléchie » ou état final achevé, marquera les limites de la réalisation possible. Le finalisme d'Aristote repose, donc, sur une chaîne causale dont la direction est opposée à celle des Atomistes. Selon lui, « le tout détermine les parties » et non l'inverse. En dépit de cela, la méthode d'Aristote aura des conséquences positives sur l'évolution des connaissances en incitant à une exploration systématique des formes naturelles et de leur développement. La thèse des Causes finales sera vivement controversée. DIDEROT puis DARWIN et leurs successeurs s'y opposeront avec vigueur et la remplaceront par le couple variation-sélection. La chaîne causale reprend celle des Atomistes : matière → forme → fonction, avec, en plus, une boucle de rétroaction de la fonction sur la détermination héréditaire de la matière en forme constituée par des règles de stabilisation ou sélection.



b) Du XVII^e au XIX^e siècle

Au cours du XVII^e siècle, les premières observations systématiques du développement embryonnaire ont lieu et s'accompagnent d'un débat sur l'origine de la forme. Les défenseurs de la *préformation*, inspirés par les thèses platoniciennes, pensent que « tout se forme à la fois dans l'embryon ; tous les membres se séparent au même moment puis s'accroissent de manière qu'au-

cun ne vient avant ou après l'autre mais ceux qui sont naturellement plus grand apparaissent avant les plus petits, sans être formés plus tôt... » (Hippocrate). Le développement n'est qu'un agrandissement de formes préexistantes. La thèse opposée, dite de l'*épigénèse*, postule au contraire une complexification progressive de l'embryon. Dans Aristote, on lit que la semence du mâle apporte la « forme », le sang menstruel de la femelle la « matière », puis entrent successivement dans l'embryon les âmes « végétative », « sensitive » et « rationnelle ».

William HARVEY, dans « Generation of animals » (1651) reprend le point de vue d'Aristote sur l'*épigénèse*. Se fondant sur une description fidèle des stades de développement de l'embryon de poulet, il écrit que « les animaux parfaits qui ont le sang... sont faits par *épigénèse*, par post-génération et après-production, c'est-à-dire par degrés, partie après partie ». Marcello MALPIGHI s'oppose à ce point de vue et, en dépit d'observations microscopiques originales, adopte une attitude franchement préformationniste. Pour lui, le développement n'est qu'un déploiement de ce qui existe déjà dans l'œuf. Malebranche, dans ses « Recherches de la vérité », écrit : « nous voyons dans le germe d'un œuf frais qui n'a pas été incubé un poulet entièrement formé ». La découverte du papillon replié sur lui-même dans son cocon avant l'éclosion par J. SWAMMERDAM, puis des spermatozoïdes dans le sperme par A. Van LEUWENHOEK semblent donner raison aux préformationnistes (ovistes ou animalculistes) dont l'expression la plus extrême se trouve chez Charles BONNET (1720-1793). Pour celui-ci, les formes animales ou « organisations » sont créations divines et se conservent de génération en génération par « emboîtements » successifs.

L'amélioration des méthodes d'études de l'embryon (microscopie sur coupes fines) et les débuts de l'embryologie expérimentale entraînent un déplacement du débat. C.F. WOLFF décrit (1759) l'apparition des premiers îlots sanguins, la formation de l'intestin par délamination et le repli de la plaque neurale en tube fermé... et de ce fait, réactualise l'*épigénèse*. Mais VON HALLER (1708-1777) réplique qu'il ne faut pas confondre invisible et inexistant et que des « potentialités » peuvent exister dans l'œuf ou l'embryon *avant* leur manifestation. Il introduit la notion, exprimée par la suite par W. HIS (1874), que l'œuf est une *mosaïque d'ébauches* localisées et préformées qui ne sont pas « marquées morphologiquement et donc pas directement reconnaissables ». A l'opposé, E. PFLÜGER défend que l'œuf est isotrope et équivalent dans toutes ses parties. A l'appui de la théorie de la mosaïque, L. CHABRY avec l'œuf d'ascidie et W. ROUX avec celui de grenouille (1887) montrent que la destruction d'un ou plusieurs blastomères aux stades précoces du développement embryonnaire entraîne la formation d'embryons ou de larves incomplètes avec des déficits correspondant aux cellules détruites. Mais H. DRIESCH (1891) découvre sur l'œuf d'oursin que, après séparation des blastomères aux stades 2, 4 et même 8, on peut obtenir à partir de chaque blastomère des larves

pluteus naines mais normalement formées. Chez l'oursin, les premiers blastomères sont « totipotents ». Une « régulation » intervient qui reconstitue le « tout » à partir d'un fragment et DRIESCH l'attribue à une « entéléchie » directement empruntée à Aristote ! En réalité, le caractère en mosaïque ou à régulation de l'œuf varie d'une espèce à l'autre. Il correspond à la mise en place plus ou moins précoce de territoires « déterminés » du cytoplasme de celui-ci. La discussion se déplace désormais sur le terrain de la transmission progressive de leurs déterminants géniques, tant au cours du développement de l'œuf que de celui de l'embryon. Il existe une « prédétermination » de l'ADN de l'œuf fécondé et, en partie seulement, et d'une manière variable d'une espèce à l'autre, des territoires du cytoplasme de l'œuf. Les capacités de « régulation » épigénétique existent également et témoignent de possibilités d'interactions entre les parties qui *coopèrent* au développement de la forme globale.

Fait historique remarquable, un débat semblable entre éléments et totalité se développe au même moment, dans une toute autre discipline : la psychologie de la perception. Les associationnistes avec HELMHOLTZ ou PAVLOV fondent les processus de perception sur l'analyse en éléments (sensations, images, souvenirs...) et l'association par continuité dans le temps et renforcement par répétition. A l'opposé, les psychologues de la Gestalt avec VON EHRENFELS (1890) rejettent « l'atomisme mental ». Selon eux, les « données immédiates » de la perception permettent de saisir des formes globales (Gestalt qualitäten) : mélodies, figures, qui ne sont pas simplement la somme de leurs parties, mais sont perçues comme tout transposable qui fait néanmoins l'objet d'une régulation intérieure. Pour les psychologues de la Gestalt, les formes n'ont rien de commun avec les Idées platoniciennes. Au contraire, il s'agit d'unités organiques et un *isomorphisme* existe entre formes psychologiques et formes physiologiques. « Was innen ist, ist aussen » (Goethe). C'est au niveau de faits physiques cérébraux qu'il faut chercher la notion de forme et la reconnaissance entre forme extérieure et forme intérieure « innée » résulte d'un *accord structural*. Il s'agit, dès lors, de comprendre comment se réalise cet accord, en particulier comment il se développe.

Le débat inauguré par les philosophes grecs sur la notion de forme conserve aujourd'hui une certaine actualité. Le physicien d'Arcy THOMPSON, par exemple, dans « On growth and form » (1917) rejette le darwinisme et ses variations aléatoires en faveur d'une détermination mathématique de la croissance, inspirée de Pythagore et Platon, quelques mathématiciens (R. Thom) également. De même, la notion de « programme génétique », fréquemment employée par les biologistes moléculaires en l'absence de données concrètes, possède une vertu explicative qui n'est pas sans rappeler l'Idée platonicienne. Enfin, bien des biologistes, s'ils ne se réfèrent pas explicitement aux causes finales d'Aristote, en font un usage quotidien, en général sous forme métaphorique, dans leurs discussions de laboratoire.

II. GÉNÉTIQUE DU DÉVELOPPEMENT DE LA FORME DU CORPS CHEZ LA DROSOPHILE

Il revient donc au biologiste d'identifier les mécanismes moléculaires engagés dans la détermination du plan d'organisation du corps : la polarité antéropostérieure et dorsoventrale, la métamérie, l'identité des métamères. La *Drosophile* constitue un matériel de choix pour engager une telle étude du fait de son cycle de reproduction très rapide (10 jours d'œuf à œuf), de son contenu en matériel génétique modeste ($0,24 \times 10^{-6}$ μg d'ADN par noyau réparti en 4 paires de chromosomes, soit 25 fois moins que l'homme) et de l'abondance des mutations portant sur le développement. Celles-ci se répartissent en deux grands groupes. Les mutations à *effet maternel* sont déterminées par le génotype de la mère et le phénotype de l'embryon est, dans ces conditions, indépendant du génotype du zygote. Les mutations à *action zygotique* s'expriment dès la première génération, aux premiers stades du développement embryonnaire et le phénotype de l'embryon est celui attendu de la constitution génétique du zygote.

a) Gènes à effet maternel

Ces gènes s'expriment chez la femelle dans les follicules ovariens au cours de la différenciation terminale de la lignée germinale, où chaque cellule souche se divise 4 fois pour donner 15 cellules *nourricières* et 1 ovocyte. Ces cellules nourricières sont disposées toutes d'un même côté du follicule qui coïncide avec le micropyle et la partie antérieure de l'embryon. De plus, les cellules du follicule ovarien enveloppent l'œuf de manière asymétrique et entraînent une courbure plus prononcée de celui-ci sur une de ses faces qui deviendra la face ventrale de l'embryon.

Deux mutations à effet maternel entraînent à la fois une anomalie de la forme de l'œuf et une perturbation des coordonnées spatiales de l'embryon. Les embryons *dicephalic* possèdent deux « têtes » et l'œuf présente deux micropyles du fait de la répartition des cellules nourricières en deux groupes aux deux pôles de l'ovocyte. Les embryons *K10* sont « dorsalisés ». Chez la larve, les soies de type dorsal très fines et nombreuses disparaissent et sont remplacées par des soies de type ventral. Dans l'ovaire de la mère, les cellules folliculaires sont réparties en couche épaisse sur les deux faces de l'ovocyte entraînant de ce fait une forme anormale de l'œuf.

D'autres mutations affectent les coordonnées spatiales de l'embryon sans altérer la forme de l'œuf. *Bicaudal* provoque l'apparition d'un abdomen double tandis que *dorsal* et certains allèles de *Toll* entraînent, chez la larve, une disposition des soies cuticulaires de type « dorsalisé » (comme *K10*).

L'effet de ces mutations suggère l'intervention de substances « morphogènes » qui pré-détermineraient, dans le cytoplasme de l'ovocyte, avant sa

fécondation, les coordonnées spatiales de l'embryon. Leur présence effective a pu être mise en évidence par des expériences de transfert de cytoplasme. Du cytoplasme est prélevé dans un œuf sauvage et injecté dans un œuf de mutant maternel dans le but de « sauver » l'embryon. L'expérience réussit avec des embryons issus de femelles *dorsal* homozygotes à condition que le cytoplasme provenant de l'embryon sauvage (quel que soit le site de positionnement) soit injecté dans la région ventrale du receveur (Nüsslein-Volhard). La substance injectée rétablit la polarité originelle perdue chez le mutant mais n'en détermine pas de nouvelle. Le locus *dorsal* a été localisé sur le chromosome 2L et isolé. Il code pour un ARN de 2,8 kb qui est présent dans l'ovocyte et disparaît après 2,5 h de développement embryonnaire. La même expérience réalisée avec des embryons de femelle *Toll* homozygote permet d'aller plus loin. Le site d'injection du produit sauvage, qu'il soit ventral ou dorsal, détermine toujours l'apparition d'une face ventrale — à condition toutefois que l'injection ait lieu avant 1,75 h, c'est-à-dire, bien avant la cellularisation du blastoderme. Le produit du gène *Toll* serait donc un « morphogène » déposé dans l'œuf avant la fécondation qui agirait comme « organisateur » (dans le sens de Speman) de la polarité ventro-dorsale de l'embryon.

Ces expériences posent toutefois un problème. Aucune différence significative de concentration des produits du gène *Toll* ou du gène *dorsal* n'est détectée entre les régions dorsales et ventrales de l'œuf sauvage ! La réponse est, peut-être, que cette différence est initialement faible mais s'amplifie ultérieurement. TURING (1952) a abordé ce problème d'une manière théorique en démontrant qu'avec un système de morphogènes qui *réagissent* ensemble et *diffusent*, on peut passer d'un état initial isotrope ou homogène à une organisation structurée (pattern) du fait de l'instabilité déclenchée par une fluctuation aléatoire. Dans ces conditions, une « rupture de symétrie » (symmetry breaking) fait, par exemple, passer d'un tore uniforme à une couronne de 6 tentacules (comme ceux qui entourent la bouche de l'hydre). MEINHARDT et GIERER (1974) ont appliqué ce modèle à la genèse d'un gradient de morphogène. Si, parmi les réactions du système, existe une activation autocatalytique locale couplée à une inhibition à longue distance par un effecteur diffusible, une fluctuation ou différence minime mais localisée de concentration, entraîne dans ces conditions la formation d'un gradient monotone de grande amplitude.

b) Gènes à effet zygotique

Ces gènes s'expriment *après* la fécondation de l'œuf et déterminent non plus les coordonnées cartésiennes de l'embryon mais sa segmentation et l'identité de chaque segment du corps. On connaît un vaste répertoire de mutants (une vingtaine) en général létaux qui affectent *l'organisation métamérique de l'animal*. NÜSSLEIN-VOLHARD et WIESCHAUS (1980) ont distingué parmi ces muta-

tions de segmentation celles qui portent sur la *polarité* antéro-postérieure de chaque segment sans changement de leur nombre (*patch*, *engrailed*) et des mutations qui affectent le nombre de ces segments : un segment sur deux (paired rule : *fushi-tarazu*, *hairy*) ou plusieurs segments consécutifs (gap : *Krüppel*) manquent, allant jusqu'à l'absence totale des segments (*even-skipped*).

Le gène *fushi-tarazu* (*ftz*) a été isolé sur la base de délétions et réarrangements de son locus sur le chromosome 3. Il se compose de deux exons (880 et 980 paires de bases) séparés par un intron (150 paires de base). L'ARN messager de 1,8 kb produit de la transcription du gène apparaît aux premiers stades du développement et sa distribution dans l'embryon sauvage peut être suivie par hybridation *in situ*. Vers la 9^e division nucléaire, l'ARNm apparaît réparti dans l'embryon de manière uniforme ; vers la 12^e division, il s'organise de manière segmentaire en 3 bandes puis, après la cellularisation du blastoderme (3 heures) en 7 bandes. La distribution de la protéine *ftz* produit de traduction de l'ARNm a été révélée par immunohistochimie au niveau des noyaux. Sa répartition dans l'embryon évolue de manière parallèle à celle de l'ARNm. L'expression au niveau des zébrures est transitoire : le marquage disparaît au moment de la gastrulation. La méthode est, toutefois, suffisamment sensible pour montrer que la protéine réapparaît plus tard dans la neurula de 10-12 heures au niveau du système nerveux mais dans *tous* les segments (15 et non 7). Les séquences régulatrices en *cis* du gène *ftz* ont été identifiées en 5' du gène de structure. Des expériences de transformation d'embryons *ftz-* avec des vecteurs d'expression contenant des fragments plus ou moins longs de ces séquences régulatrices ont montré que la séquence complète en 5' (6,1 kb) était nécessaire pour obtenir la survie des embryons. Par contre, seulement 0,6 kb proximaux suffisent pour qu'apparaissent les zébrures, un segment intermédiaire de 2-3 kilobases étant nécessaire à l'expression neurale.

Des études similaires effectuées avec d'autres gènes, *hairy* ou *engrailed*, ont permis de démontrer que ces gènes de segmentation pouvaient interagir entre eux. Ainsi, l'expression de *hairy* est nécessaire à celle de *ftz* qui, lui-même, doit être transcrit pour que *engrailed* s'exprime. La chaîne entière est sous le contrôle des gènes de coordonnées spatiales à effet maternel : *dorsal* et *bicaudal*. Enfin, des régulations négatives ont également lieu puisque dans un segment sur deux, l'expression du gène *ftz* est « réprimée ».

Les mutations *homéotiques* diffèrent des mutations de segmentation du fait qu'elles n'altèrent pas le nombre ou la polarité des segments mais leur *identité*. Par exemple, la mutation *antennapedia* (*Antp*) entraîne la transformation des segments thoraciques T2 et T3 en T1 et *ultrabithorax* (*Ubx*) celle des segments thoracique T3 et abdominal A1 en T2. Les mutations de ce type ont été regroupées en deux complexes chromosomiques, dont la taille peut attein-

dre 120 kb chacun. Les ARN messagers codés par ces gènes sont de l'ordre de 3-4 kb ; ils sont détectés par hybridation *in situ* dans des régions définies par exemple pour *Ubx* au niveau des segments T3-A1 et suivants dès 3 heures de développement puis 3 heures après au niveau du système nerveux embryonnaire avec la même répartition segmentaire. Cette distribution est réglée par d'autres gènes comme *Polycomb* dont la mutation entraîne une « dérepression » d'*Ubx* sur l'ensemble du système nerveux, ganglions cérébroïdes et sous-œsophagiens compris.

Gènes de segmentation et gènes homéotiques de la *Drosophile* possèdent fréquemment dans la région 3' du second exon des séquences communes, d'environ 180 paires de bases appelées par GEHRING et collaborateurs : *homéobox*. Des séquences homologues à 60-80 % ont été retrouvées chez la grenouille, la souris et même l'homme (ainsi que chez la levure). Elles codent vraisemblablement pour des régions de la molécule protéique qui servent à une liaison sur l'ADN. DESPLAN et collaborateurs (1985) ont effectivement montré que l'une d'elle, la protéine *engrailed* se lie directement sur l'ADN et en particulier au niveau des séquences régulatrices situées en 5' du gène de structure *ftz*. Il s'agit donc vraisemblablement de protéines régulatrices qui se fixent sur l'ADN au même titre que les represseurs ou activateurs géniques.

Des gènes contenant l'homéobox ont été isolés dans une banque génomique de souris à partir de sondes *Antp* et *Ubx* de *Drosophile*. L'un d'eux, *hox 3* est transcrit en ARN poly A dans la moelle épinière, les reins mais pas dans les muscles squelettiques, le cerveau ou le foie (chez l'embryon, le nouveau-né mais aussi chez l'adulte). Fait remarquable, il ne s'exprime que dans une partie de la moelle épinière *restreinte* aux régions cervicales et thoraciques.

c) Portée des résultats obtenus avec la *Drosophile*

Le fait que d'importantes homologies existent entre la *Drosophile* et les vertébrés au niveau génique ne signifie pas que les éléments génétiques homologues s'expriment exactement de la même manière au cours du développement dans ces différents groupes d'animaux. Chez la *Drosophile*, les coordonnées spatiales de l'embryon sont déterminés *avant* la fécondation du fait de l'expression de gènes de type *dicephalic* ou *toll* au cours de l'ovogénèse. Les deux ruptures de symétrie concernées sont à rechercher au niveau des relations topologiques de l'ovocyte avec les cellules nourricières. A cet égard, l'œuf de *Drosophile* est prédéterminé et « en mosaïque ».

Le cas de l'œuf d'amphibien (*Xénope*) est différent. Il est pondu, certes, avec une polarité antéro-postérieure marquée par un pôle animal pigmenté qui correspond au point d'attachement sur l'ovaire, mais il ne possède pas de polarité dorso-ventrale. Celle-ci est déterminée par le point de pénétration du spermatozoïde qui, dans les conditions normales de gravité, marque la face

ventrale et par son méridien le plan de symétrie bilatérale. La première rupture de symétrie résulte de l'attachement de l'ovocyte à l'ovaire, la seconde de l'entrée du spermatozoïde (ANCEL et WITTENBERGER, GERHART).

L'œuf des mammifères représente une situation plus extrême. L'œuf paraît totalement isotrope *après* la fécondation jusqu'au stade 8. Le passage du stade 8 au stade 16 s'accompagne de la distinction de deux types cellulaires : les cellules externes donnent le trophoctoderme, les cellules internes l'embryon proprement dit. Une première rupture de symétrie apparaît au stade 32 lorsque la masse cellulaire interne se détache d'une partie du *trophoctoderme* et forme le blastocèle. Le point d'attachement de la masse cellulaire interne sur le trophoctoderme définit la polarité dorso-ventrale de l'embryon. L'apparition de la polarité antéro-postérieure a lieu par la suite. SMITH (1985) a étudié l'orientation des coordonnées spatiales de l'embryon implanté de 4 jours 1/2 par rapport à celles de l'utérus chez la souris. Selon lui, cette orientation est statistiquement *fixe*. SMITH propose que l'environnement de l'embryon dans l'utérus (tissulaire, hormonal...) détermine ses coordonnées spatiales. L'hypothèse reste bien entendu à vérifier !

Les moments critiques où les deux ruptures de symétrie fondamentales qui déterminent les coordonnées spatiales de l'embryon se produisent, diffèrent donc d'un groupe zoologique à l'autre. Ils interviennent au cours de l'ovogénèse chez la *Drosophile*, à la fin de l'ovogénèse et au moment de la fécondation chez le *Xénope*, après la fécondation chez la souris. Il n'est pas exclus, néanmoins, que des déterminants géniques homologues entrent en jeu et que ce soit au niveau du processus de distribution ou de redistribution de leur produit cytoplasmique que les différences d'espèces apparaissent. Une manière de mettre à l'épreuve cette hypothèse serait de rechercher les homologues de *dicephalic*, *toll*, *dorsal*... chez les vertébrés !

Quoi qu'il en soit, le développement d'œuf à œuf apparaît comme le déploiement, dans le temps et dans l'espace, d'un « flux » d'interactions géniques dont le réseau dynamique inclut convergences et divergences de signaux régulateurs ainsi que réemploi de déterminants géniques. Il y a, à la fois, épigénèse pour expression différentielle de gènes et préformation, par codage stable, de l'information génétique au niveau de l'ADN et de certains de produits géniques au niveau du cytoplasme. Le recours aux Idées platoniciennes pour interpréter le développement et la propagation des Formes animales n'a plus sa raison d'être !

III. LES CARTES NEURALES ET LEUR MISE EN PLACE CHEZ LES VERTÉBRÉS

A la mise en place du plan d'organisation du corps, succède le développement et la différenciation des organes qui établissent entre eux des contacts

organisés. Les cartes neurales résultent de la projection ordonnée d'un centre nerveux (ou organe des sens) sur un autre considéré comme cible. Elles peuvent être établies par des méthodes électrophysiologiques et/ou anatomiques et ont été identifiées au niveau des cortex moteurs ou sensoriels (somesthésiques, visuels, auditifs...). Il en existe souvent plusieurs par modalité sensorielle, en particulier chez les vertébrés supérieurs. Il s'agit de « représentations » en deux dimensions et simplifiées de l'ensemble du corps ou d'organes des sens définis, avec, parfois, des *discontinuités* (exemple : face séparée de la tête), des relations de distance souvent mal conservées (exemple : surface relative énorme des moustaches chez le rat) et des déformations systématiques interprétées en termes de *transformations géométriques continues*. Suivant d'Arcy Thompson, celles-ci peuvent être résolues par la méthode des coordonnées. Les changements de coordonnées liés à la croissance et/ou à des forces physiques d'étirement, de compression... produisent des familles de formes appelées homéomorphes à partir de « types » distincts. Pour d'Arcy Thompson, ces types seraient des créations divines conformes aux Idées platonniennes. En réalité, cela conduit à distinguer 1) les opérations qui engagent des ruptures de symétrie et sont susceptibles de produire des types, et 2) les opérations de transformation sur ces types.

a) *La régénération des voies rétino-tectales chez les amphibiens*

Le processus de formation des cartes neurales a été étudié sur le modèle simple de la régénération des projections de la rétine sur le tectum chez les poissons et les amphibiens. Vers 1930-40, la théorie la plus populaire était celle de la « plasticité dynamique » du système nerveux assurant après lésion une restauration fonctionnelle sur le mode empiriste. SPERRY (1943-1965) met cette théorie à l'épreuve avec le Triton. Il effectue d'abord chez l'adulte une simple rotation de 180° du globe oculaire, laissant le nerf optique intact. Immédiatement après l'opération, le triton présente une réponse motrice « inversée » à un stimulus visuel qui ne *se corrige pas* après 4 mois et demi. Cette « rigidité inadaptable » s'observe également lorsque la rotation du globe oculaire est accompagnée de la section du nerf optique. Cinquante jours après la régénération des voies rétino-tectales, la vision est toujours inadaptée. SPERRY en conclut que la régénération a lieu de manière ordonnée et rigide.

« Les cellules ganglionnaires de la rétine, écrit-il, ainsi que les axones des fibres optiques doivent différer de manière intrinsèque les unes des autres suivant leur localisation dans le champ rétinien »... et portent « des étiquettes d'identification individuelle vraisemblablement de nature cytochimique par lesquelles elles sont distinguées les unes des autres »... et « établissent une liaison seulement avec certains neurones auxquels elles s'attachent de manière sélective par certaines affinités chimiques spécifiques ». (Hypothèse de la chémo-affinité). ATTARDI et SPERRY (1960-1961) tentent d'apporter une confir-

mation anatomique des premières expériences sur le triton, fondées strictement sur l'observation du comportement. Ils colorent sélectivement les fibres nouvellement régénérées par la méthode de Bodian et semblent montrer que celles-ci retrouvent leur cible de manière adéquate. Elles seraient douées d'un « homing behavior », en d'autres termes, « chacun rentre chez soi ».

La réalité n'est pas si simple. GAZE (1958), puis JACOBSON (1962) établissent des cartes détaillées des projections rétino-tectales après régénération par des méthodes électrophysiologiques précises. Ils montrent que celles-ci présentent en fait diverses anomalies : groupement de fibres, doubles projections... De plus, l'ablation d'une moitié du tectum s'accompagne, après régénération, de la projection de la rétine *entière* sur la moitié du tectum restant. Il n'y a pas projection « en mosaïque » comme le prévoit l'hypothèse de SPERRY, une « régulation » intervient qui préserve, toutefois, la polarité générale du tectum. Une régulation similaire s'observe après ablation de la moitié de la rétine et régénération sur l'ensemble du tectum. S'il y a, *grosso modo*, assemblage homéomorphe des axones de la rétine aux neurones du tectum avec appariement de polarités complémentaires, cette régénération s'accompagne d'erreurs et fait l'objet d'une importante régulation. L'hypothèse de la chémoaffinité, dans son sens strict, ne permet pas de rendre compte de l'ensemble des résultats.

JACOBSON (1967-1968) a tenté d'identifier le stade du développement où se produit chez le Xénope la détermination de la *polarité* intrinsèque de la rétine. Il excise, puis réimplante l'ébauche de l'œil dans son orbite à divers stades embryonnaires ou larvaires et examine les projections rétino-tectales chez l'adulte opéré. Si la rotation a lieu au stade 28, les projections sont normales, au stade 30 l'axe antéro-postérieur est inversé, le dorso-ventral normal, au stade 31 les deux axes sont inversés. La période critique de détermination de la polarité du tectum a lieu *avant* l'établissement des connections rétino-tectales. La même expérience effectuée avec le tectum montre que le diencéphale voisin impose sa polarité au tectum lui-même dérivé du diencéphale. Celle-ci s'intègre, de plus, dans la polarité d'ensemble du système nerveux. La détermination des cartes neurales rejoint celle du plan d'organisation du corps.

L'examen attentif de l'évolution de l'ébauche de la plaque neurale chez le Xénope comme chez l'homme rappelle, de manière surprenante, celle du plan d'organisation de l'embryon de *Drosophile* : formation d'une structure « zébrée » avec rides successives, qui définissent cerveau antérieur, moyen et postérieur... puis chaque segment acquiert son identité. Tout se passe comme si des gènes de segmentation puis des gènes homéotiques entraînent en action.

b) *Mécanismes élémentaires intervenant dans la mise en place des connections rétino-tectales*

L'existence de cartes neurales et leurs possibilités de régénération, même approximative chez les amphibiens, n'est pas contestée ; la nature des mécanismes élémentaires concernés par leur développement reste très discutée. Deux groupes principaux de données ont été retenus : ils portent l'un sur le mode de croissance et l'organisation des axones du nerf optique, l'autre sur l'intervention de facteurs chimiques dans l'orientation de ceux-ci ainsi que dans la reconnaissance et l'adhésion à leur cible.

— *Organisation et croissance des axones du nerf optique*

LEVINTHAL et collaborateurs (1975-1978) ont décrit en détail l'organisation de l'œil de la Daphnie (crustacé cladocère) et de son nerf optique après reconstruction de coupes sériées observées au microscope électronique. Le nombre fixe de neurones et d'axones et la reproductibilité de leur connectivité, d'un individu isogénique à l'autre, ont permis d'analyser comment cette connectivité s'établit. Selon ces auteurs, un axone « pionnier » se dirigerait de manière directionnelle vers la cible et serait accompagné par des axones « suiveurs » qui adhèreraient aux précédents par leur cône de croissance. La séquence temporelle de poussée des axones serait la même que celle de la maturation des neurones sensoriels : d'où l'hypothèse formulée par LEVINTHAL d'un *codage temporel* de la mise en place des connections.

SCHOLES (1979) s'est préoccupé de la topographie des fibres du nerf optique tout le long du nerf de l'œil au tectum. Celle-ci fait l'objet d'une transformation remarquable de coordonnées polaires en coordonnées cartésiennes (qui se produit lorsqu'un éventail ouvert se ferme). Cette transformation est « fluide » en ce sens que des relations *locales* entre axones voisins sont maintenues. Il y a conservation de la « rétinotopie » jusqu'au tectum où une réorganisation a lieu avec échange partiel mais régulier entre proches voisins. D'où l'hypothèse qui n'est pas contradictoire avec celle du codage temporel, que la *conservation de la topologie interaxonale* contribue à la mise en place des connections entre cartes.

La présence d'une rétinotopie au niveau du tractus visuel (après le chiasma des nerfs optiques) chez le chat a été reconnue par GUILLERY et collaborateurs (1982). Celle-ci s'accompagne toutefois d'une dispersion significative des axones et résulte également d'une *superposition* partielle de plusieurs cartes différentes.

D'autres auteurs rejettent la notion de rétinotopie sur la base d'une absence de conservation des relations de voisinage entre axones soit au microscope

optique chez le chat (HORTON *et al.*, 1979), soit au microscope électronique chez le singe (WILLIAMS et RAKIC, 1985). Ces derniers auteurs ont montré que sur 50 μm 92 % des contacts entre proches voisins étaient perdus bien que les axones étudiés restent dans un même domaine du nerf ($15 \times 15 \mu$). L'existence d'une microdispersion des axones ne s'oppose toutefois pas à la présence d'une rétintopie plus globale des axones du nerf optique chez les vertébrés supérieurs.

Plus curieux sont les résultats de HARRIS (1986) sur le « retour au bercail » (homing behavior) des axones de la rétine après transplantation de l'œil chez l'embryon de Xénope de 24 heures. Les axones de l'œil transplanté sont marqués par la peroxydase du raifort et l'on observe que ceux-ci progressent en navigant séparément les uns des autres « en apparence » directement vers leur cible, comme s'ils étaient guidés à distance par celle-ci.

— *Facteurs chimiques de croissance, de reconnaissance et d'adhésion*

Ramon Y CAJAL, dès les années 1900, proposait que des facteurs diffusibles « attirent » des axones en croissance vers leur cible. Un *chimiotropisme* de cette nature a été mis en évidence par R. LÉVI-MONTALCINI et collaborateurs (1978). A la suite de l'injection répétée de NGF dans le plancher du 4^e ventricule, s'observe la remontée de fibres sympathiques le long de la moelle épinière jusqu'à l'encéphale.

CAMPENOT (1977-1981) puis GUNDERSEN et BARRETT (1979) ont montré une croissance directionnelle des axones de neurones sympathiques en culture vers une source artificielle de NGF par le truchement de leur cône de croissance. Le chimiotropisme des axones vers une cible, source de facteur de croissance paraît vraisemblable.

La contribution de *facteurs de surface* au niveau de la cible est également plausible. Dans une série d'expériences ingénieuses, BONHOEFFER et collaborateurs (1980, 1982, 1984) ont soumis les axones rétinien à un choix entre deux cibles cellulaires qui leur sont présentées de manière équivalente. Selon eux, les cônes de croissance rétinien préfèrent les cellules tectales aux cellules rétiniennes et les axones des cellules de la rétine temporale préfèrent le tectum antérieur. Les chiffres publiés montrent toutefois une variabilité importante qui affecte la crédibilité des résultats.

L'identification de facteurs de surface engagés dans l'adhésion entre cellules embryonnaires a été entreprise et menée à bien par G. EDELMAN et collaborateurs au cours des 10 dernières années. Ceux-ci ont d'abord mis au point une méthode de mesure précise de l'adhésion intercellulaire par mesure de radioactivité ou comptage automatique. Ils ont ensuite développé des anticorps dirigés contre la surface cellulaire, obtenu des anticorps qui bloquent l'adhésion intercellulaire et identifié l'antigène responsable par neutralisation

de l'effet inhibiteur des anticorps. Deux catégories de molécules d'adhésion (Cell Adhesion Molecules ou CAM) ont été isolées, purifiées et séquencées : N-CAM pour le système nerveux, L-CAM pour le foie. N-CAM est une glycoprotéine de masse moléculaire 150-250 KD dont la copule glucidique varie au cours du développement.

Les anticorps dirigés contre N-CAM bloquent la ségrégation somas-neurites dans des agrégats histiotypiques de rétines, la formation de faisceaux de fibres nerveuses à partir de neurones de ganglions rachidiens en culture et la mise en place de cartes rétino-tectales chez le Xénope. Les protéines N-CAM interviennent donc effectivement dans les processus d'adhésion intercellulaire qui contribuent au développement des cartes neurales.

— *Importance de l'activité du réseau nerveux en croissance*

Le rôle de l'activité électrique dans la « mise au point » de la connectivité adulte a déjà été souligné dans les cours précédents. Elle intervient effectivement chez le poisson lors de la régénération des voies rétino-tectales : le blocage par la tétrodoxine de l'activité électrique interfère avec le développement d'une carte normale. Les effets observés, en particulier les champs récepteurs plus larges (30°) que chez le contrôle (11°) vont dans le sens du maintien d'une « exhubérance » connectionnelle transitoire consécutive au blocage chronique de l'activité. En d'autres termes, en accord avec la théorie de l'épigénèse par stabilisation sélective des synapses (CHANGEUX et collaborateurs, 1973, 1976), l'activité nerveuse est requise pour l'élimination de contacts synaptiques surnuméraires qui apparaissent transitoirement au cours du développement.

Cette mise au point ultime des cartes neurales par l'activité nerveuse devient particulièrement critique lors de la coordination de cartes neurales entre elles. Celle-ci est requise par la mise en œuvre d'une opération commune comme, par exemple, la vision stéréoscopique binoculaire ou la perception unifiée des espaces visuels et auditifs. Le problème des interactions entre cartes neurales et la relation de ces interactions avec la formation des cartes mentales sera discuté l'an prochain.

En conclusion, le développement de la forme du corps, du système nerveux central et des cartes qu'il contient se réalise de manière progressive au cours du développement embryonnaire et postnatal. Les déterminants génétiques « innés » qui règlent le développement des coordonnées spatiales, de la segmentation et de l'identité des segments du corps sont en cours d'identification. Leur expression combinatoire et séquentielle, avec « convergence et divergence » de signaux régulateurs s'effectue dans des conditions telles que s'établissent des distributions spatiales restreintes (patterns) d'ARN messagers morphogènes ou/et d'activités géniques de noyaux cellulaires distribués. Ces

anisotropies peuvent être « amplifiées » par des mécanismes de « régulation » du type de ceux proposés par TURING. Ces opérations de rupture de symétrie se poursuivent lors de la genèse des cartes neurales mais s'accompagnent d'opérations de transformation géométrique dont les mécanismes élémentaires sont en cours de déchiffrement.

SÉMINAIRES

Recherches récentes en neuropsychologie

— 17 mars, E. ROLLS : Information representation, processing and storing in the brain.

— 24 mars, J. BANCAUD : Effets comportementaux de la stimulation corticale chez l'Homme.

— 7 avril, M.F. BEAUVOIS et J. DESROUESNE : Quelques dissociations neuropsychologiques.

— 14 avril, T. SHALLICE : Disorders of reading and writing.

— 21 avril, D BROADBENT : Aspects of attention.

— 28 avril, M. JEANNEROD : Le mouvement : de la représentation à l'exécution.

— 5 mai, P. BERTELSON : Lecture tactile et lecture visuelle.

— 12 mai, J. MEHLER : Compréhension de la chaîne parlée : théories et expériences.

— 26 mai, X. SERON et G. DELOCHE : Une approche cognitive du traitement des nombres.

COMPTE RENDU DE L'ACTIVITÉ DU LABORATOIRE DE COMMUNICATIONS CELLULAIRES

Au cours des douze derniers mois, la recherche a été poursuivie dans notre laboratoire autour de sept thèmes principaux :

1. La topologie fonctionnelle des chaînes du récepteur de l'acétylcholine.
2. Les transitions allostériques du récepteur de l'acétylcholine.
3. La biosynthèse du récepteur de l'acétylcholine et sa régulation au cours du développement.
4. L'assemblage et la maturation de la membrane sous-synaptique au cours du développement de la synapse cholinergique.

5. L'identification et la purification de facteurs d'extension de neurites, actifs sur les neurones spinaux et la régulation de leur production par les cellules musculaires chez le poulet.

6. L'évolution de l'innervation grimpante des cellules de Purkinje dans le cervelet de rongeurs.

7. Les modèles d'apprentissage.

I. TOPOLOGIE FONCTIONNELLE DES CHAÎNES DU RÉCEPTEUR DE L'ACÉTYLCHOLINE

Les ADN codant pour les quatre chaînes qui composent la molécule du récepteur de l'acétylcholine ont été clonés et séquencés chez la Torpille (revue NUMA *et coll.*, 1983 ; POPOT et CHANGEUX, 1984) et chez diverses espèces de vertébrés (revue KUBO *et coll.*, 1985). Sur la base des données de structure primaire, des modèles détaillés d'organisation transmembranaire ont été proposés (CLAUDIO *et coll.*, 1983 ; DEVILLERS-THIÉRY *et coll.*, 1983 ; NODA *et coll.*, 1983 b ; FINER-MOORE et STROUD, 1984 ; GUY, 1984 ; CRIADO *et coll.*, 1985). Ils présentent les points communs suivants : 1) l'orientation vers la face synaptique d'un grand domaine hydrophile NH₂ terminal, 2) l'orientation vers la face cytoplasmique d'un petit domaine hydrophile, 3) L'identification de 4 segments hydrophobes à des hélices- α transmembranaires. Les différences principales entre modèles portant sur : 1) la présence (FINER-MOORE et STROUD, 1984 ; GUY, 1984) (ou l'absence) d'une hélice amphipatique transmembranaire supplémentaire ou Hélice A aux dépens du *petit* domaine hydrophile (cytoplasmique), ce qui oriente la séquence des acides aminés COOH terminaux en direction du cytoplasme (ou de la fente synaptique) et, 2) sur l'existence (hypothétique) d'une boucle transmembranaire aux dépens du *grand* domaine hydrophile (synaptique) (CRIADO *et coll.*, 1985).

Cette année, en collaboration avec les groupes de M. GOELDNER et C. HIRTH de l'Université Louis Pasteur à Strasbourg, J.Y. CHANG de CIBA-GEIGY à Bâle, C. MONTECUCCO et R. BISSON de l'Université de Padoue et récemment F. LEDERER, de l'Hôpital Necker, Paris, ces modèles d'organisation transmembranaire ont été mis à l'épreuve par le marquage covalent de sites spécifiques à l'aide de sondes radioactives suivi de l'identification et de la séquence des peptides marqués.

a) Site récepteur de l'acétylcholine

(DENNIS *et coll.*, 1985 ; LAGENBACH-CACHAT *et coll.* en préparation)

Le site de liaison de l'acétylcholine a été marqué par deux antagonistes irréversibles : 1) le 4-N-maleimido-phenyl trimethyl ammonium (MPTA) qui

réagit avec un (ou plusieurs) résidu(s) cystéine situé(s) au niveau du site actif, ou de son voisinage, après réduction de la protéine réceptrice par le dithiothréitol (revue KARLIN 1983) ; 2) un nouvel antagoniste cholinergique photoactivable le p-diméthyl aminobenzène diazonium fluoroborate (DDF) (KOTZYBA-HIBERT *et coll.*, 1985 et LAGENBACH-CACHAT *et coll.* en préparation) qui marque le site récepteur de manière sensible à l' α -bungarotoxine et à la carbamylcholine *en l'absence* de réduction préalable de la molécule de récepteur. Après marquage, la chaîne α est purifiée, puis clivée par le bromure de cyanogène et le tout est fractionné par chromatographie à haute pression en phase réverse. L'analyse de la séquence des peptides marqués par le MPTA et de DDF révèle des séquences NH_2 -terminales identiques débutant à Lys-179. En accord avec les résultats de KAO *et coll.*, 1984, la mesure de la radioactivité libérée à chaque cycle de séquence montre que les cystéines 192 et 193 sont marquées par le MPTA. Par contre, le DDF marque sur le même fragment (en l'absence de réduction) des acides aminés *différents* mais situés au voisinage des cystéines 192 et 193 (DENNIS *et coll.*, 1985, et non publié). Fait intéressant, le DDF tritié marque, en plus, mais de manière moins prononcée, un peptide qui n'est pas marqué par le MPTA et qui n'est pas un fragment du peptide précédent. Ce peptide est à l'étude. En accord avec le modèle proposé (voir DEVILLERS-THIÉRY *et coll.*, 1983 et ci-dessus), le peptide principal marqué par le DDF est situé dans le grand domaine hydrophile NH_2 -terminal qui se trouve donc bien exposé (au moins en partie) en regard de la fente synaptique.

b) *Site de haute affinité des bloquants non compétitifs*

(GIRAUDAT *et coll.*, 1986, [collaboration avec J.Y. CHANG, CIBA-GEIGY, Bâle])

Les bloquants non compétitifs de la réponse de perméabilité sont des réactifs potentiels du canal ionique (revue CHANGEUX, 1981) qui se lient à plusieurs catégories de sites sur la molécule de récepteur dont un, de haute affinité, est sensible à l'histrionicotoxine et se trouve présent à un seul exemplaire par Forme Légère du récepteur (revue HEIDMANN *et coll.*, 1983). Dans les conditions où elle occupe ce site et après irradiation U.V., la chlorpromazine ^3H marque de manière covalente les quatre sous-unités, ce qui suggère une localisation de ce site dans l'axe de quasi-symétrie de l'oligomère (revue CHANGEUX *et coll.*, 1984). Le mélange rapide de fragments de membranes riches en récepteur avec des agonistes cholinergiques accélère fortement la liaison covalente de la chlorpromazine ^3H (HEIDMANN et CHANGEUX, 1984), en accord avec l'hypothèse que ce site fait partie, ou est directement en relation, avec le canal ionique. Le peptide marqué par la chlorpromazine sur la chaîne δ n'a pas pu être purifié jusqu'à l'homogénéité du fait de son caractère hydrophobe très marqué. Il a néanmoins été identifié par la mise en œuvre d'une stratégie originale de clivage de la chaîne δ . Celle-ci se fonde sur la comparaison des séquences de mélanges de peptides obtenus après clivage

par la trypsine et par le bromure de cyanogène : la radioactivité libérée par la fraction purifiée de peptides trypsiniques apparaît au cycle n° 6 alors qu'elle se trouve au cycle n° 5 après clivage par le bromure de cyanogène. Cela permet d'identifier la Ser 262 comme site de marquage covalent de la chaîne δ sensible à la phencyclidine par la chlorpromazine ^3H . Ce résidu est situé dans le segment hydrophobe N° 2. Dans des expériences de mutagénèse *in vitro*, MISHINA *et coll.* (1985) ont montré que la délétion partielle de ce segment (Δ 249-257) dans la chaîne α abolit la réponse ionique sans altérer l'affinité apparente pour l'acétylcholine. Bien que des délétions dans d'autres régions de la molécule aient le même effet, ces données sont en accord avec l'hypothèse que le site de liaison de la chlorpromazine est en relation, ou bien même fait partie, du canal ionique.

II. TRANSITIONS ALLOSTÉRIQUES DU RÉCEPTEUR DE L'ACÉTYLCHOLINE

Les données de marquage présentées dans le chapitre précédent ainsi que les expériences de mutagénèse *in vitro* (MISHINA *et coll.*, 1985) montrent que des régions *non homologues* des sous-unités α et δ interviennent respectivement dans la structure du site de liaison de l'acétylcholine et du site de haute affinité des bloquants non compétitifs du canal ionique. La régulation des états d'ouverture du canal ionique et des états de liaison des bloquants non compétitifs par l'acétylcholine est donc « indirecte », ou allostérique, et transmise par une (ou plusieurs) transitions conformationnelles de la molécule protéique (voir CHANGEUX 1981, CHANGEUX *et coll.*, 1984). Les travaux effectués dans ce laboratoire depuis près de 15 ans ainsi que dans d'autres laboratoires (revue HESS *et coll.*, 1983, BOYD et COHEN, 1984, McCARTHY *et coll.*, 1986) ont conduit à la mise en évidence d'un minimum de 4 conformations interconvertibles : de repos (R), active (A), intermédiaire (I) et désensibilisé (D) avec des affinités *croissantes* pour l'acétylcholine (de R à D) et des vitesses d'interconversion *décroissantes* (de R à D), le canal ionique n'étant ouvert que dans l'état A.

Cette année, l'analyse des transitions conformationnelles du récepteur a été réalisée simultanément par trois méthodes distinctes mais complémentaires : 1) enregistrements électrophysiologiques par la méthode du « patch clamp » (RIBERA *et coll.*, 1985, CHANGEUX *et coll.*, 1986), 2) marquage photochimique du récepteur dans des conditions de mélange rapide (HEIDMANN et CHANGEUX 1984, 1986), 3) pharmacologie moléculaire *in vitro* (CHEMOULLI *et coll.*, 1985).

a) *Analyse de l'effet de faibles concentrations de chlorpromazine et de phencyclidine sur des canaux ioniques ouverts par l'acétylcholine dans les myotubes de souris C₂*

(RIBERA *et coll.*, 1985 ; CHANGEUX *et coll.*, 1986)

Le mode d'action des bloquants non compétitifs utilisés dans les expériences de marquage, chlorpromazine, phencyclidine, a été analysé en détail sur les myotubes de souris C₂ par la méthode du « patch clamp » dans la configuration « cellule attachée » (HAMILL *et coll.*, 1981). Les canaux uniques ont été enregistrés en présence de concentrations croissantes de bloquant non compétitif dans des conditions où ces composés sont chargés positivement (pH 7,2). La conductance des canaux uniques enregistrés n'est pas modifiée par ces composés à des concentrations allant de 10 à 500 nM, mais chlorpromazine et phencyclidine à des concentrations de 10 à 200 nM entraînent une réduction du temps moyen d'ouverture. Cet effet est insensible au voltage et ne varie pas simplement de manière linéaire avec la concentration d'agent bloquant. Il n'est pas accompagné d'une réduction des fréquences d'ouverture des canaux ce qui suggère que, dans ce domaine de concentration, la fraction d'états « non conducteurs » du récepteur (bloqué ou désensibilisé) ne change pas. Par contre, aux concentrations supérieures à 300 nM, une diminution de cette fréquence s'observe. Dans les mêmes conditions, le temps moyen d'ouverture s'allonge et revient à des valeurs proches de celles observées en l'absence d'effecteur.

Un modèle simple qui rend compte, parmi d'autres, de ces résultats suppose que : 1) le site de *haute* affinité des bloquants non compétitifs n'est pas situé à l'intérieur du canal ionique mais à l'une de ses ouvertures, en position *superficielle*, insensible aux champs électriques ; 2) les sites de *faible* affinité situés par exemple à la périphérie du récepteur en contact avec la phase lipidique affecteraient de manière indirecte le site de haute affinité « interne » des bloquants non compétitifs dans l'état actif A du récepteur. Dans ces conditions, l'état actif du récepteur pourrait exister sous au moins *deux* conformations distinctes.

b) *Marquage par photoirradiation U.V. de l'état actif A du récepteur dans les conditions de mélange rapide avec l'acétylcholine*

(HEIDMANN et CHANGEUX 1984, 1986)

Les bloquants non compétitifs augmentent la liaison à l'équilibre des agonistes et antagonistes cholinergiques (COHEN *et coll.*, 1974, revue HEIDMANN *et coll.*, 1983), réciproquement, les agents cholinergiques accroissent celle des bloquants non compétitifs (COHEN 1978, revue HEIDMANN *et coll.*, 1983). Des interactions allostériques existent donc à l'équilibre entre effecteurs cholinergi-

ques et bloquants non compétitifs (CHANGEUX, 1981). L'analyse des cinétiques de liaison de l'histrionicotixine (ARONSTAM *et coll.*, 1981) et de la phencyclidine (OSWALD *et coll.*, 1983) a mis en évidence une association rapide mais non résolue de ces bloquants non compétitifs à un état transitoire du récepteur peuplé sélectivement par les agonistes cholinergiques mais pas par les antagonistes compétitifs. Des expériences antérieures de mélange rapide effectuées, dans *ce laboratoire*, avec un bloquant non compétitif fluorescent, la quinacrine, avaient déjà révélé un accroissement de fluorescence rapide propre aux agonistes cholinergiques (GRUÑHAGEN *et coll.*, 1977).

Dans *ce laboratoire* (HEIDMANN et CHANGEUX 1984, 1986), un appareillage d'irradiation U.V. a été mis au point pour résoudre les cinétiques d'association de la chlorpromazine tritiée avec le récepteur de l'acétylcholine membranaire et pour marquer par photo-irradiation ses sous-unités dans le domaine de temps de 100 millisecondes à quelques secondes. Le mélange rapide de l'acétylcholine avec les membranes riches en récepteur équilibrées avec la chlorpromazine tritiée suivi d'une irradiation U.V. brève (20 msec.) met en évidence un processus d'association bimoléculaire rapide (proche d'un contrôle par diffusion) de la chlorpromazine tritiée avec les 4 sous-unités du récepteur. Cette association rapide de la chlorpromazine tritiée n'est pas observée lors du mélange avec les antagonistes compétitifs : d-tubocurarine, flaxedil ou α -toxine. Sa vitesse initiale s'accroît jusqu'à plus de 1 000 fois en fonction des concentrations d'agoniste avec : 1) un maximum de 0,6 pour la carbamylcholine, de 0,2 pour le phenyltriméthylammonium, lorsqu'on prend 1 pour l'acétylcholine, 2) des constantes de dissociation apparentes de 30 μ M, 400 μ M ou 300 μ M respectivement pour l'acétylcholine, la carbamylcholine et le phenyltriméthylammonium et 3) une forme sigmoïde (coefficient de Hill 1,1-1,3).

Dans les conditions où la pré-incubation des membranes avec l'acétylcholine entraîne la désensibilisation de la réponse, l'association rapide de chlorpromazine tritiée décroît, en parallèle, avec la fermeture du canal ionique au niveau des 4 sous-unités. L'association rapide, agoniste-dépendante de chlorpromazine tritiée a donc lieu au niveau du site commun aux sous-unités du récepteur. Ce site devient accessible quand le canal s'ouvre et il se trouve donc situé à proximité, ou même au niveau du canal ionique.

c) *Effets allostériques d'un composé anti-parkinsonien, la diprobutine, sur le récepteur nicotinique de Torpedo*

(CHEMOUILLI *et coll.*, 1985) (Collaboration avec le groupe SANOFI de Toulouse)

L'hypothèse suivant laquelle nombre d'agents pharmacologiques exercent leur action sur des récepteurs de neurotransmetteurs au niveau de sites allostériques au lieu du (ou en plus du) site de liaison des agonistes (voir CHANGEUX, 1981) a été mise à l'épreuve à l'occasion d'un travail effectué sous

contrat avec la SANOFI. Les effets d'un nouveau composé anti-parkinsonien, la diprobutine ou tripropylmethylamine, ont été étudiés *in vitro* sur le récepteur nicotinique de *T. marmorata* et sur des membranes de cerveau de cobaye. Il a été trouvé que la diprobutine inhibe l'efflux d'ions monovalents de microsacs excitables en présence d'agoniste, déplace à l'équilibre le récepteur vers son état de haute affinité pour des antagonistes D, et antagonise de manière compétitive la liaison de phencyclidine tritiée sur son site de haute affinité. Avec les membranes de cerveau de cobaye, la diprobutine déplace la phencyclidine tritiée liée à son site de haute affinité mais dans un domaine de concentration différent de celui noté avec le récepteur de Torpille. La diprobutine se comporte donc comme un *effecteur allostérique* du récepteur de Torpille et peut, potentiellement, exercer le même effet sur le récepteur nicotinique central dans la mesure où celui-ci porte effectivement un site pour la phencyclidine. L'éventualité qu'une action pharmacologique de cette nature rende compte des effets anti-parkinsoniens de la déprobutine chez l'homme reste à démontrer.

III. BIOSYNTHÈSE DU RÉCEPTEUR DE L'ACÉTYLCHOLINE ET SA RÉGULATION AU COURS DU DÉVELOPPEMENT

Au cours du développement de la jonction neuromusculaire, le récepteur de l'acétylcholine, initialement présent sur toute la surface de la fibre musculaire, disparaît dans les régions extrajonctionnelles. Cette élimination résulte d'une répression de la biosynthèse du répresseur par l'activité électrique du muscle (revue CHANGEUX *et coll.*, 1986). L'analyse de cette régulation a été poursuivie cette année sur plusieurs plans :

a) *Localisation chromosomique des gènes codant pour les sous-unités α , β , γ , et δ du récepteur de l'acétylcholine chez la souris*

(O. HEIDMANN *et coll.*, sous presse) (collaboration avec B. ROBERT, J.L. GUÉNET, Institut Pasteur et J. MERLIE, Saint-Louis, Missouri)

NEF *et coll.* (1984) et SHIBABARA *et coll.* (1985) ont montré l'un chez le poulet, l'autre chez l'homme, que des clones génomiques contenant simultanément des séquences propres aux sous-unités γ et δ pouvaient être isolés. Ce résultat laissait penser que les gènes codant pour les quatre sous-unités du récepteur pouvaient être liés sur un même chromosome. En collaboration avec Jean-Louis GUÉNET de l'Institut Pasteur et avec J. MERLIE de l'Université Washington, Saint-Louis, Missouri, la localisation chromosomique des quatre gènes du récepteur a été établie par la méthode de ROBERT *et coll.* (1985) qui repose sur la détection d'un polymorphisme de restriction et sur la ségrégation de ce polymorphisme dans un back-cross entre 2 lignées de souris phylogéni-

quement éloignées (*Mus musculus domesticus* et *Mus spretus*) mais encore interfécondes.

Les ADN des souris DBA/2 et *Mus spretus* ont été digérés indépendamment par une dizaine d'enzymes de restriction différents. L'hybridation des fragments d'ADN sur gel avec les sondes radioactives α , β , γ et δ , correspondant à l'exon le plus en 3' des gènes (taille des sondes : 300 à 500 bp) met en évidence des bandes de tailles différentes dans les hydrolysats obtenus avec l'enzyme PvuII pour la sonde δ , avec l'enzyme HincII pour les sondes α et β et avec l'enzyme EcoRI pour la sonde γ . Ce polymorphisme de restriction permet ainsi de différencier l'allèle de la souche DBA/2 de l'allèle correspondant de la souche *Mus spretus* et de suivre la ségrégation de ces « allèles » dans la descendance d'un back-cross [(DBA/2 \times *Spretus*) \times DBA/2]. Chacun des descendants est soit homozygote pour l'« allèle » DBA/2, soit hétérozygote et présente les 2 bandes caractéristiques des « allèles » DBA/2 et *Spretus*.

Par analyse de la ségrégation des allèles des gènes codant pour α , β , γ et δ , entre eux et avec d'autres marqueurs génétiques ou biochimiques dont la localisation chromosomique est déjà connue, il est possible de déterminer si les gènes sont liés ou non sur un même chromosome (ROBERT *et coll.*, 1985). Les ADN des 42 descendants du back-cross ont ainsi été analysés. Dans un premier temps il a été montré, comme prévu, que les gènes codant pour les sous-unités γ et δ coségrègent mais que ceux codant pour les sous-unités α et β ségrègent au hasard.

Pour le gène α , dans les 42 descendants analysés il y a une co-ségrégation à 81 % avec l'actine cardiaque α , préalablement localisée sur le chromosome 17 par CZOSNEK *et coll.* (1983). Cependant, la co-ségrégation de ce gène avec le marqueur Glo-1 localisé avec certitude sur le chromosome 17 est inférieure à 50 %.

Pour le gène β , sur 42 descendants analysés, il existe une co-ségrégation à 100 % avec les gènes codant pour les isoformes squelettiques des chaînes lourdes de la myosine, localisés par cette même technique sur le chromosome 11 (ROBERT *et coll.*, 1985 ; WEYDERT *et coll.*, 1985). Le gène β se trouve donc très proche de ces gènes.

Pour les gènes γ et δ , il y a une co-ségrégation à 96 et 97 % respectivement pour 29 et 39 descendants analysés avec le gène codant pour l'isoforme fœtale de la chaîne légère de la myosine, localisé sur le chromosome 1 (ROBERT *et coll.*, 1985).

Le système des gènes du récepteur de l'acétylcholine représente donc un cas intermédiaire entre celui de l'hémoglobine, pour lequel les différentes chaînes sont codées par des gènes dispersés sur différents chromosomes, et le cas du

canal sodium, où il n'existe qu'un seul gène codant pour une longue chaîne polypeptidique comprenant 4 segments répétés homologues (NODA *et coll.*, 1984).

b) *Effets de l'activité électrique du muscle sur l'expression du gène codant pour la sous-unité α chez le poulet*

(KLARSFELD et CHANGEUX, 1985 ; KLARSFELD *et coll.*, sous presse)

La régulation par l'activité électrique de la biosynthèse du récepteur de l'acétylcholine dans des cultures primaires de myotubes de poulets a été étudiée par les méthodes de la génétique moléculaire. Les clones codant pour la sous-unité α , isolés à partir d'une banque génomique de poulet, ont été utilisés pour évaluer le contenu en ARNm de la sous-unité α par hybridation sur des gels de transfert Northern (KLARSFELD et CHANGEUX, 1985). En accord avec les études antérieures (SHAINBERG et BURSTEIN, 1976 ; BETZ et CHANGEUX, 1979) la tétrodontoxine, qui bloque l'activité spontanée des myotubes en culture, provoque après 2 jours un accroissement de 2 à 2,3 fois du contenu des fibres musculaires en récepteur de surface sans changement appréciable du contenu total en protéines. Dans les mêmes conditions le contenu en ARNm spécifique de la sous-unité α s'accroît près de 13 fois tandis que l'ARNm spécifique de l'actine ne change pas de manière significative. Cet accroissement suit de près celui observé *in vivo* après dénervation de muscles squelettiques chez le poussin (voir MERLIE *et coll.*, 1984 chez le rat).

L'étude du rôle fonctionnel des séquences régulatrices associées en *cis* au gène codant pour la sous-unité α a été abordée par la méthode de l'expression transitoire d'un gène « rapporteur » codant pour la chloramphénicol acétyltransférase (CAT), enzyme dont la mesure dans des cultures cellulaires est rapide et sensible. Les séquences promotrices situées en amont des séquences codant pour la sous-unité α (environ 850 paires de bases) ont été introduites dans un plasmide recombinant en tête du gène codant pour la CAT. Cette construction exprime la CAT à un niveau élevé dans les myotubes fusionnés de souris C2C7 mais ne l'exprime pas dans les myoblastes non fusionnés de cette même lignée cellulaire ou dans une lignée non myogénique de souris (KLARSFELD *et coll.*, sous presse). Des travaux sont en cours pour distinguer les séquences régulatrices responsables de l'expression propre au muscle, de celles engagées dans la régulation par l'activité ainsi que pour identifier le (ou les) signaux internes qui servent d'intermédiaires entre l'activité électrique membranaire et la/ou les protéines régulatrices qui se fixent sur les séquences en question.

IV. ASSEMBLAGE ET MATURATION DE LA MEMBRANE SOUS-SYNAPTIQUE AU COURS DU DÉVELOPPEMENT DE LA SYNAPSE CHOLINERGIQUE

(CARTAUD *et coll.*, 1984 ; KORDELI *et coll.*, 1986)

Au moment où le récepteur extra-jonctionnel disparaît, la membrane sous-synaptique se différencie et se consolide. La densité de surface du récepteur de l'acétylcholine augmente localement près de 100 fois, il s'immobilise, devient métaboliquement stable et le temps d'ouverture du canal ionique associé devient plus bref (sauf chez les oiseaux). Parmi les nombreux mécanismes susceptibles d'intervenir dans cette évolution, l'interaction du récepteur avec une protéine périplasmique de 43 000 daltons v_1 a été suggérée (CARTAUD *et coll.*, 1984).

Cette année, les relations de la protéine v_1 avec le cytosquelette de l'électroplaque de Torpille ont été étudiées à l'aide d'anticorps monoclonaux. Des contacts entre « filaments intermédiaires » de 10 nm et le cytosquelette ont été observés au niveau de la membrane post-synaptique *in situ* sur des sections transversales de l'électrocyte de *T. marmorata*. Des fragments de membrane riches en récepteur ont ensuite été marqués avec l'anticorps monoclonal anti- v_1 , colorés à l'or et examinés au microscope électronique après contraste négatif. Dans ces conditions, les filaments intermédiaires ne sont jamais marqués par l'anticorps sauf à leur extrémité. Cela suggère que v_1 (comme l'ankyrine dans la membrane d'érythrocyte) sert de pièce intermédiaire dans l'ancrage des molécules de récepteur au cytosquelette sous-neural (CARTAUD *et coll.*, 1984 ; KORDELI *et coll.*, 1986).

Les anticorps antidesmine marquent les filaments intermédiaires qui s'attachent au voisinage de la protéine v_1 sur la face innervée de l'électroplaque et traversent celle-ci de part en part pour aboutir à la face non innervée. Les anticorps anti-actine forment des petits agrégats dispersés dans l'ensemble du cytoplasme mais pas des accumulations sous neurales comme cela a été mentionné avec la jonction neuromusculaire des vertébrés supérieurs (BLOCH et HALL, 1983). Toutefois, après homogénéisation du tissu électrique, un marquage intense par les anticorps anti-actine apparaît au niveau des fragments de membranes riches en récepteur, vraisemblablement à la suite d'une redistribution artéfactuelle du pool cytoplasmique d'actine. Les anticorps antifodrine et anti-ankyrine marquent sélectivement la face cytoplasmique de la membrane non innervée. Filamine et vinculine sont détectés dans des homogénats d'électrocyte après transfert sur gel par la méthode de Western mais pas par immunocytochimie. Ces résultats (KORDELI *et coll.*, 1986) montrent une très nette polarité de la distribution des composants du cytosquelette dans l'électroplaque. Jusqu'à ce jour seule la protéine 43 000 v_1 paraît propre au cytosquelette sous-neural.

V. IDENTIFICATION ET PURIFICATION DE FACTEURS D'EXTENSION DE NEURITES, ACTIFS SUR LES NEURONES SPINAUX ET RÉGULATION DE LEUR PRODUCTION PAR LES CELLULES MUSCULAIRES CHEZ LE POULET

Les travaux effectués *dans ce laboratoire* au cours des récentes années ont conduit à la mise en évidence, dans les milieux conditionnés, sur des myotubes de poulets embryonnaires *in vitro* (HENDERSON *et coll.*, 1981) et dans des extraits de muscles de poussins (facteur néo-natal) (HENDERSON *et coll.*, 1983) de facteurs de croissance (ou MNGF) qui provoquent l'extension de neurites à partir de cellules nerveuses en culture provenant de tubes neuraux dissociés d'embryons de poulets de 4 jours et demi.

a) Purification du MNGF néo-natal

(TAGUCHI *et coll.*, 1985, et en préparation)

La purification du facteur néo-natal a été poursuivie à partir de muscles de poussins dénervés. A chaque étape de purification une courbe dose-réponse complète a été établie avec les cultures de neurones spinaux. La chromatographie conventionnelle et la chromatographie à moyenne pression (FPLC) ont été utilisées avec les colonnes suivantes : 1) DEAE-Sepharose, échangeur d'ions ; 2) Polyanion, échangeur d'anions ; 3) Mono P, chromatofocalisation ; 4) Superose, tamis moléculaire ; et 5) Pro-RPC, chromatographie en phase réverse. Le facteur actif purifié a un poids moléculaire apparent de 50 000 daltons dans des conditions non-dénaturantes, et un point isoélectrique apparent voisin de 5. A partir des pattes dénervées de 100 poussins, des quantités de l'ordre d'une dizaine de microgrammes de facteur purifié peuvent être obtenues (TAGUCHI *et coll.*, 1985 et non publié). Les meilleures préparations obtenues avaient une activité spécifique d'environ $2-7 \times 10^6$ unités par mg de protéine, comparables à celle du NGF pur (5×10^6 unités par mg de protéine) soit une purification de 10^4 fois par rapport à l'extrait musculaire de départ. Après électrophorèse en SDS et coloration argentique, les fractions les plus purifiées donnent 3 bandes de protéine de masse moléculaire apparente 55 000, 25 000 et 14 000 daltons. Des travaux en cours sur l'identification de la/ou des sous-unité(s) active(s) suggèrent que le polypeptide de poids moléculaire 25 000 détient au moins une partie de l'activité MNGF après électrophorèse en 0,1 % SDS. Ce facteur est, sans ambiguïté, distinct de la laminine.

b) MNGF en pathologie humaine

(HENDERSON *et coll.*, 1986b ; HAUSER *et coll.*, 1986)

La méthode de mesure de l'activité MNGF mise au point dans ce laboratoire avec des neurones de poulet en culture est encore utilisable lorsque des

extraits de muscle proviennent d'espèces différentes : souris, rat et même homme. Elle a été appliquée à l'étude d'une maladie neurologique grave, la maladie de *Werdnig-Hoffmann* (W.H.) qui, comme la sclérose latérale amyotrophique, s'accompagne d'une dégénérescence progressive des motoneurons spinaux, mais à la différence de celle-ci, débute dans la période périnatale et est associée à des éléments génétiques transmis de façon autosomale récessive. La mesure du contenu en MNGF et la recherche d'antagonistes des MNGF embryonnaire et néo-natal ont été effectuées à partir de biopsies prélevées chez des malades *Werdnig-Hoffmann* fournis par le D^r F. HENTATI et par le P^r FARDEAU de l'Unité 153 de l'INSERM. Chaque extrait musculaire humain a été testé de trois manières différentes.

1) Une série de concentrations d'extraits humains a été étudiée pour leurs activités intrinsèques sur l'extension de neurites. 2) La même série de concentrations d'extrait humain a été dosée en présence d'une concentration fixe de facteur « embryonnaire » ou 3) d'une concentration fixe de facteur « néonatal » de poulet.

Dans une première série de biopsies (20 malades *Werdnig-Hoffmann*, 20 contrôles du même âge, 18 testés peu de temps après le prélèvement), des différences très frappantes ont été constatées. L'activité intrinsèque MNGF de tous les extraits est basse et ne diffère pas de manière reproductible entre W.H. et contrôles. Cependant, dans 15 cas sur 20 W.H. étudiés s'observe une inhibition jusqu'à 100 % de l'activité du facteur de croissance « néo-natal » du poulet. L'inhibition observée avec les W.H. intervient à une concentration d'environ 0,5 µg/ml protéine totale, ce qui suggère l'existence d'un inhibiteur spécifique. Les mêmes extraits n'inhibent pas l'action du facteur « embryonnaire » de poulet. Aucun (0 sur 20 testés) des témoins pathologiques ou morphologiquement normaux étudiés n'a montré une inhibition comparable. La nature des substances inhibitrices est inconnue. Une analyse des anticorps anti-muscle présents dans ces extraits musculaires n'a pas permis de déceler une population d'immunoglobulines propre aux extraits qui inhibent l'effet du MNGF.

Quelques travaux ont été effectués avec des sérums de malades atteints de *sclérose latérale amyotrophique* (SLA). Des extraits de muscle dénervé de poulet ont été séparés sur gel SDS, transférés sur de la nitrocellulose, incubés avec des sérums ou des IgG purifiées de malades SLA et contrôle et révélés par autoradiographie après incubation avec de la [¹²⁵I]-protéine A. De multiples bandes ont été observées avec les sérums de malades et de contrôles mais aucune bande n'a été trouvée spécifique de la SLA. Des bandes aux alentours de 56 000 daltons étaient présentes dans 13/31 cas SLA et 21/48 contrôles, dont 3/7 malades atteints du syndrome Guillain-Barré. Des résultats semblables ont été obtenus en utilisant comme antigène des extraits de muscle humain ou des milieux conditionnés par des diaphragmes dénervés de rat. Ces résultats mettent en cause la spécificité des anticorps anti-56 000 de Gurney.

VI. ÉVOLUTION DE L'INNERVATION GRIMPANTE DES CELLULES DE PURKINJE DANS LE CERVELET DE RONGEURS

La portée des résultats obtenus dans le développement de l'innervation motrice du muscle a été évaluée en s'adressant à un système central simple, le cervelet, dont la synaptologie est connue (ECCLES *et coll.*, 1967). Dans ce système, le phénomène d'élimination synaptique spontanée a été démontré, dans ce laboratoire, au cours du développement de la jonction fibres grimpances-cellule de Purkinje dans le cervelet de rat (CRÉPEL *et coll.*, 1976 ; MARIANI et CHANGEUX, 1981 a, b).

a) Etude quantitative du nombre des neurones de l'olive bulbaire

(DELHAYE-BOUCHAUD *et coll.*, 1985 ; SHOJAEIAN *et coll.*, 1986) (collaboration avec le groupe de N. DELHAYE-BOUCHAUD, Paris VI)

L'élimination de contacts surnuméraires entre fibres grimpances et cellules de Purkinje peut être due soit à une simple régression de collatérales d'axones, soit à la mort de neurones olivaires. Pour distinguer entre ces deux possibilités, le nombre total de neurones par olive a été compté sur des coupes sériées chez le raton, de la naissance jusqu'à l'état adulte. L'évolution de ce nombre est biphasique. D'abord, il décroît légèrement (25 %) jusqu'au 5^e jour post-natal (c'est-à-dire le jour du maximum de multiinnervation), puis, *en apparence*, s'accroît progressivement jusqu'à des valeurs chez l'adulte voisines de celles observées à la naissance (DELHAYE-BOUCHAUD *et coll.*, 1985, SHOJAEIAN *et coll.*, 1985).

Pour s'affranchir de cette phase de croissance apparente du nombre de neurones, des comptages ont été effectués dans l'olive inférieure de souris mutantes *weaver*, *reeler* et de rats irradiés aux rayons X chez lesquels l'innervation multiple se maintient chez l'adulte (revue MARIANI, 1982, 1983). Aucune différence significative n'a été notée avec des animaux témoins du même âge. La mort cellulaire précoce n'intervient donc pas (ou peu) au cours du phénomène d'élimination synaptique.

Des résultats différents ont été obtenus avec un autre mutant, la souris *staggerer* où une grande partie (70-90 %) des cellules de Purkinje sont absentes ou disparaissent au cours du développement (HERRUP et MULLEN, 1979). Chez l'adulte les cellules survivantes sont multiinnervées par les fibres grimpances. Les comptages effectués avec les mutants montrent que le nombre des neurones olivaires est, dès l'âge de 10 jours post-nataux, inférieur à celui des témoins de plus de 50 % et que ce déficit s'accroît légèrement au cours du développement (SHOJAEIAN *et coll.*, 1986).

b) *Etude de la carte des projections de la périphérie sur le cortex cérébelleux par la voie des fibres grimpantes*

(MULLE *et coll.* en préparation ; MARIANI *et coll.*, 1986)

Afin de comprendre la signification fonctionnelle de la régression synaptique, une étude systématique des cartes de projections de plusieurs afférences périphériques sur le cortex cérébelleux par la voie des fibres grimpantes a été entreprise et les cartes obtenues comparées chez l'animal à cellules de Purkinje multiinnervées et chez l'animal à cellules de Purkinje monoinnervées. La réponse évoquée via les fibres grimpantes est enregistrée dans les cellules de Purkinje d'un lobe cérébelleux convenablement choisi après stimulation des deux nerfs sciatiques, du museau, des deux pattes antérieures et de la queue. La position précise de toutes les cellules enregistrées est repérée par marquage, et reportée sur un atlas établi à partir d'une série de coupes sagittales de cervelet de rat. Plusieurs centaines de cellules ont été enregistrées pour chaque situation expérimentale (mono ou multiinnervée).

Le traitement de cet ensemble de données a requis la mise au point d'une banque de données sur ordinateur avec clefs de sélection permettant de réaliser automatiquement les histogrammes et les cartes choisies. La cartographie détaillée des lobules VII et VIII dans leur portion médiane a été réalisée chez le rat adulte normal et comparée à la carte des zones correspondantes chez des rats adultes agranulaires où chaque cellule de Purkinje reçoit plusieurs fibres grimpantes. Des zones précises de réponse ont pu être décrites pour la stimulation du nerf trijumeau contralatéral, de la queue et des pattes antérieures et une étude exhaustive des convergences éventuelles a été effectuée chez les rats normaux et agranulaires. La comparaison précise de ces deux situations suggère que, dans les conditions de stimulation utilisées, la régression de la multiinnervation ne paraît pas jouer un rôle majeur dans la mise en place des zones de projection de l'adulte.

VII. MODÈLES D'APPRENTISSAGE

(CHANGEUX et HEIDMANN, 1986 ; TOULOUSE *et coll.*, 1986 ; NADAL *et coll.*, 196 ; YÉRAMIAN et CHANGEUX, 1986)

Depuis près de 15 ans le laboratoire s'intéresse aux mécanismes élémentaires de l'apprentissage dans un cadre théorique « sélectionniste » ou darwinien (CHANGEUX, 1972 ; CHANGEUX *et coll.*, 1973 ; CHANGEUX et DANCHIN, 1976). Dans un premier temps, ces réflexions ont donné lieu à une modélisation du développement épigénétique des réseaux de neurones et à la formulation de l'hypothèse de la « stabilisation sélective des synapses » (CHANGEUX *et coll.*, 1973).

Récemment, nous nous sommes tournés vers l'apprentissage chez l'adulte qui a déjà fait l'objet de nombreuses tentatives de modélisation (voir EDELMAN, 1978 ; VON DER MALSBERG, 1981). L'idée proposée (CHANGEUX, 1983, CHANGEUX *et coll.*, 1984, A. HEIDMANN *et coll.*, 1984) est que l'apprentissage chez l'adulte porte sur les activités neuronales corrélées exprimées dans des assemblées coopératives de neurones plutôt que sur des réseaux purement « anatomiques » de cellules. Par exemple, sous l'effet d'un centre régulateur divergent du tronc cérébral se produirait un état « attentif » local tel que le réseau cortical considéré se mettrait à produire *spontanément* des états d'activité transitoires, variables dans l'espace et dans le temps (ou « pré-représentations »), analogues aux « variations » darwiniennes. La « mise en mémoire » d'une pré-représentation particulière s'effectuerait alors par un mécanisme de « résonance » dans la mesure où cette pré-représentation correspond au « percept » évoqué par l'interaction avec le monde extérieur. Ce modèle a donné lieu à un premier traitement par les méthodes de la mécanique statistique (A. HEIDMANN *et coll.*, 1984) suivant le formalisme de LITTLE et SHAW (1978). Il a été suivi de développements plus généraux qui ont conduit à l'extension aux assemblées de neurones des modèles créés par les physiciens pour les « verres de spin », états particuliers de la matière constitués par des ensembles non ordonnés de particules en interaction. Le travail effectué en collaboration avec G. TOULOUSE de l'Ecole de Physique et de Chimie de Paris, S. DEHAENE et J.P. NADAL de l'Ecole Normale Supérieure, a conduit à une mise en question du modèle « instructif » de HOPFIELD (1982) et à une première présentation d'un modèle « verre de spin » d'apprentissage par sélection (TOULOUSE *et coll.*, 1986). Une de ses propriétés caractéristiques susceptible d'intéresser le neurobiologiste est l'existence d'une organisation hiérarchique spontanée des états du réseau ou « ultramétricité », qui se manifeste en dépit du caractère non ordonné des assemblées de neurones. Une autre propriété originale de « mémoires » ainsi constituées est leur caractère de « palimpseste » (NADAL *et coll.*, 1986) : des conditions peuvent être définies où la capacité de mémoire maximale reste stable du fait que, lors de l'acquisition de nouvelles traces, les plus anciennes s'effacent.

En parallèle, au niveau le plus élémentaire, celui de la synapse, les réflexions ont porté sur une modélisation des changements d'efficacité synaptique locaux sur des bases moléculaires nouvelles. Le modèle proposé (HEIDMANN et CHANGEUX, 1982) se fonde sur les propriétés « allostériques » bien établies du récepteur de l'acétylcholine (voir II) qui peuvent, en toute légitimité, être étendues aux récepteurs du système nerveux central liés à un canal ionique. Le postulat de base de ce modèle d'apprentissage à court terme (CHANGEUX et HEIDMANN, 1986) est que le récepteur postsynaptique peut exister sous au moins deux états en équilibre réversible : un (par exemple A) susceptible à l'ouverture du canal (activation par l'agoniste), l'autre réfractaire à l'activation ou désensibilisé (I). Le rapport des deux états (A/I) détermine

l'amplitude de la réponse postsynaptique et donc « l'efficacité » de la synapse à entraîner l'apparition d'un potentiel d'action dans la cellule postsynaptique. Ce rapport peut également être réglé par des « effecteurs allostériques », tels que le potentiel de membrane (TAKEYASU *et coll.*, 1983), des ligands comme les neurotransmetteurs ou des peptides (sur la face synaptique), les ions Ca^{++} ou les nucléotides cycliques (sur la face cytoplasmique) ou bien même des réactions covalentes comme les phosphorylations (références CHANGEUX *et coll.*, 1984) qui vont « informer » la synapse considérée de l'état d'activité des synapses qui aboutissent sur la même cellule postsynaptique.

Les propriétés de ce modèle ont été analysées en détail et diverses situations expérimentales simulées sur ordinateur et comparées aux données expérimentales (CHANGEUX et HEIDMANN, 1986). Les régulations d'efficacité d'une synapse par son propre état d'activité (régulation homosynaptique) et par celui des synapses voisines (régulation hétérosynaptique) sont prises en compte par le modèle et peuvent être appliquées respectivement à la désensibilisation spontanée de la jonction neuromusculaire (MAGLEBY et PALLOTA, 1981) ou à la potentiation à long terme des synapses hippocampiques (ANDERSEN *et coll.*, 1980) ainsi qu'au « conditionnement classique » mis en évidence chez l'Aplysie par KANDEL (1977) ou dans le cortex cérébral par BARANYI et FEHER (1981). Les constantes de vitesse de la transition réversible $A \rightleftharpoons I$ et les relations temporelles d'activité de synapses voisines déterminent, dans ces conditions, la durée du changement d'efficacité synaptique. Le modèle rend compte de la règle d'« association » de HEBB et en particulier des schémas simples du conditionnement classique. Mieux, il permet d'imaginer un mécanisme simple de « résonance » : la conjonction de l'activité électrique spontanée et de l'activité évoquée permet une modulation de la réponse postsynaptique en entraînant le franchissement (ou non) d'un « seuil » lié à la coopérativité de la transition allostérique du récepteur postsynaptique.

Enfin, divers modèles ont été récemment proposés dans le but de rendre compte des changements d'efficacité synaptique à court terme résistants à la dégradation métabolique des composants de la synapse (CRICK, 1984 ; LISMAN, 1985). Celui que nous avons suggéré (YÉRAMIAN et CHANGEUX, 1986) se fonde sur la propriété de la protéine 43 000 ν_1 de s'associer au récepteur sur sa face cytoplasmique et sur l'existence d'une « coopérativité » fonctionnelle entre molécules de récepteur dans un dimère lourd (YÉRAMIAN *et coll.*, 1986). Le schéma proposé suppose que : 1) la protéine 43 000 peut être « activée » par une modification covalente catalysée par un enzyme (par exemple une kinase) qui est activé par un ion qui pénètre dans le cytoplasme lors de l'activation des récepteurs par le neurotransmetteur (par exemple le Ca^{++}) et 2) la forme activée de la protéine 43 000 provoque la « dimérisation coopérative » de molécules de récepteurs. Il s'ensuit une boucle autocatalytique qui s'auto-entretient dans la mesure où la synapse présente une activité spontanée minimale. Il est plausible que l'activité spontanée « paradoxale »

qui s'observe au cours du sommeil chez les vertébrés supérieurs joue un rôle de « consolidation » ou plutôt de maintenance des traces de mémoire mises en place lors de la veille.

PUBLICATIONS

1985

(suite)

Article

P. CHEMOULLI, T. HEIDMANN, J.P. CHANGEUX, A. BACHY et M. MORRE, *Allosteric effects of diprobutine on the acetylcholine receptor* (*Eur. J. Pharmacol.*, 117, 205-214).

Revue

M. DENNIS, J. GIRAUDAT, C. HIRTH, M. GOELDNER, F. HIBERT, J.Y. CHANG et J.P. CHANGEUX, *Structural analysis of the cholinergic binding sites of the acetylcholine receptor from *Torpedo marmorata**. (*International Symposium on Molecular Aspects of Neurobiology, June 1985, Florence, Italie, Abstract n° 22*).

J.P. CHANGEUX, David NACHMANSOHN, *a pioneer of neurochemistry* (In : *Molecular Basis of Nerve Activity*, CHANGEUX, HUCHO, MAELICKE, NEUMANN, Eds. Walter de Gruyter & Co, Berlin, p. 1-32).

1986

Articles

J. GIRAUDAT, M. DENNIS, T. HEIDMANN, P.Y. HAUMONT, F. LEDERER et J.P. CHANGEUX, *Structure of the high-affinity binding site for non competitive blockers of the acetylcholine receptor : [³H] chlorpromazine labels homologous residues in the β and δ chains* (soumis).

A. KLARSFELD, P. DAUBAS, B. BOURACHOT et J.P. CHANGEUX, *A 5' flanking region of the chicken acetylcholine receptor alpha-subunit gene confers tissue-specificity and developmental control of expression in transfected cells* (*Mol. Cell. Biol.*, sous presse).

B. FONTAINE, A. KLARSFELD, T. HÖKFELT et J.P. CHANGEUX, *Calcitonin gene-related peptide, a peptide present in spinal cord motoneurons, increases the number of acetylcholine receptors in primary cultures of chick embryo myotubes* (*Neuroscience Letters*, 71, 59-65).

P. BENOIT, J. MARIANI, N. DELHAY-BOUCHAUD et G. CHAPPUIS, *Evidence for a multiple innervation of cerebellar Purkinje cells by climbing fibers in adult ferrets infected at birth by a mink enteritis virus* (*Develop. Brain Res.*, sous presse).

C. MULLE, N. DELHAYE-BOUCHAUD et J. MARIANI, *Peripheral maps and synapse elimination in the cerebellum of the rat. I. Representation of peripheral inputs through the climbing fiber pathway in the posterior vermis of the normal adult rat* (soumis).

J. MARIANI, C. MULLE, B. GEOFFROY et N. DELHAYE-BOUCHAUD, *Peripheral maps and synapse elimination in the cerebellum of the rat. II. Representation of peripheral inputs through the climbing fiber pathway in the posterior vermis of the X-irradiated adult rat* (soumis).

H. SHOJAEIAN, N. DELHAYE-BOUCHAUD et J. MARIANI, *Decreased number of cells in the inferior olivary nucleus of the adult mouse (+/sg) heterozygous for the staggerer gene* (*Neuroscience*, sous presse).

O. HEIDMANN, A. BUONANNO, B. GEOFFROY, B. ROBERT, J.L. GUÉNET, J.P. MERLIE et J.P. CHANGEUX, *Chromosomal localization of the nicotinic acetylcholine receptor genes in the mouse* (*Science*, sous presse).

C.E. HENDERSON, S.L. HAUSER, M. HUCHET, F. DESSI, F. HENTATI, T. TAGUCHI, J.P. CHANGEUX et M. FARDEAU, *Extracts of muscle biopsies from patients with spinal muscular atrophies inhibit neurite outgrowth from spinal neurons in vitro*.

J. LANGENBACH-CACHAT, C. BON, M. GOELDNER, C. HIRTH et J.P. CHANGEUX, *Photoaffinity labelling of the acetylcholine receptor by aryldiazonium derivatives* (soumis).

J.P. BOURGEOIS, M. TOUTANT, J.L. GOUZÉ et J.P. CHANGEUX, *Effect of activity on the selective stabilization of the motor innervation of fast muscle posterior latissimus dorsi from chick embryo* (*Int. J. Devl. Neuroscience*, 4, 415-429).

T. HEIDMANN et J.P. CHANGEUX, *Characterization of the transient agonist-triggered state of the acetylcholine receptor rapidly labeled by the noncompetitive blocker [³H] chlorpromazine : additional evidence for the open channel conformation* (*Biochemistry*).

S.L. HAUSER, P.A. CAZENAVE, O. LYON-CAEN, T. TAGUCHI, E. BARBIER, M. HUCHET, H. NURET, J.P. CHANGEUX et C.E. HENDERSON, *Immunoblots analysis of circulating antibodies against muscle proteins in amyotrophic lateral sclerosis and other neurological diseases* (*Neurology*, sous presse).

J.P. CHANGEUX, C. PINSET et A.B. RIBERA, *Single-channel analysis of the effects of low concentrations of chlorpromazine and phencyclidine on the acetylcholine receptor in C2 mouse myotubes* (*J. Physiol. London*, 378, 497-513).

E. YÉRAMIAN et J.P. CHANGEUX, *Un modèle de changement d'efficacité synaptique à long terme fondé sur l'interaction du récepteur de l'acétylcholine avec la protéine sous synaptique de 43 000 daltons* (*C.R. Acad. Sci., Paris*, 302, Série III, n° 17, 609-616).

J.P. NADAL, G. TOULOUSE, J.P. CHANGEUX et S. DEHAENE, *Networks of formal neurons and memory palimpsests* (*Europhys. Lett.*, 1, 535-542).

G. TOULOUSE, S. DEHAENE et J.P. CHANGEUX, *Spin glass model of learning by selection* (*Proc. Nat. Acad. Sci, U.S.A.*, 83, 1695-1699).

J. GIRAUDAT, M. DENNIS, T. HEIDMANN, J.Y. CHANG et J.P. CHANGEUX, *Structure of the high affinity binding site for non competitive blockers of the acetylcholine receptor : Serine 262 of the delta-subunit is labeled by ³H chlorpromazine* (*Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.*, 83, 2719-1723).

C. KORDELI, J. CARTAUD, O.H. NGHIÊM, L.A. PRADEL, C. DUBREUIL, D. PAULIN et J.P. CHANGEUX, *Evidence for a polarity in the distribution of proteins from the cytoskeleton in T. marmorata electrocytes* (*J. Cell. Biol.*, 102, 748-761).

C.E. HENDERSON, P. BENOIT, J.L. GUÉNET, M. HUCHET et J.P. CHANGEUX, *Increase of neurite-promoting activity for spinal neurons in muscles of « paralysé » mice and tenotomised rats* (*Develop. Brain Res.*, 25, 65-70).

J. MARIANI, N. DELHAYE-BOUCHAUD, C. MULLE, P. BENOIT et V. CORDONNIER, *Existence d'un très faible taux résiduel d'innervation multiple des cellules de Purkinje par les fibres grimpanes dans le cervelet du rat adulte normal* (*C.R. Acad. Sci., Paris*, 301, 523-525).

M. DENNIS, J. GIRAUDAT, F. KOTZYBA-HIBERT, M. GOELDNER, C. HIRTH, J.Y. CHANG et J.P. CHANGEUX *A photoaffinity ligand of the acetylcholine binding site predominantly labels the region 179-207 of the α -subunit on native acetylcholine receptor from Torpedo marmorata* (*FEBS Lett.*, 207, 243-247).

Revues

J.P. CHANGEUX, *Allosteric receptors as molecular devices for short-term changes of synapse efficacy* (soumis).

J.P. CHANGEUX et T. HEIDMANN, *Allosteric receptors and molecular models of learning* (« New Insights into Synaptic Function », G. EDELMAN, W.E. GALL and W.M. COWAN Eds. John Wiley Publishers, sous presse).

J.P. CHANGEUX, *Coexistence of neuronal messengers and molecular selection* (*Progr. Brain Res.*, sous presse).

J.P. CHANGEUX, A. KLARSFELD et T. HEIDMANN, *The acetylcholine receptor and molecular models for short and long term learning* (*Dahlem Konferenzen. In « The cellular and molecular bases of learning », J.P. CHANGEUX and M. KONISHI, ed. Springer-Verlag, Berlin, sous presse*).

J. MARIANI, *Neurosciences and Human Freedom in* (*Proceedings of the International meeting on : effects of recent technological advances on human rights, organized by the International Social Sciences Council and Unesco, Barcelona*), 25-28 March 1985 (sous presse).

T. TAGUCHI et C.E. HENDERSON, *Neurite promoting factors for embryonic spinal neurons : studies on development in the chick and possible importance for the understanding of degenerative disorders of the nervous system* (In : « New Concepts in Alzheimer's Disease », M. BRILEY, A. KATO et WEBER eds Macmillan, sous presse).

M. ALAA EL DIN, C. MULLE, N. DELHAYE-BOUCHAUD et J. MARIANI, *Creation of a data base to process neurophysiological results obtained in the cerebellum (Proceedings of the International Congress of Signal Processing in Clinical and Experimental Neurophysiology, sous presse).*

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

Jean-Pierre CHANGEUX :

— Conférence « Learning by selection : theories and facts in the nervous system », Congrès I.B.M. « Knowledge based systems and logic programming », Lech/Oberlech, Autriche, 30 juillet-2 août 1985.

— Conférence « The acetylcholine receptor during synapse formation » et « Epigenesis of neuronal network by selective stabilization », International School of Biophysics, Course on Generation of Diversity and Specificity in the nervous system, Erice, Sicile, 18-24 juillet 1985.

— Conférence « Recent progress on the structure and the function of the acetylcholine receptor », International Society on Toxinology, 8th World Congress on Animal, Plant and Microbial toxins, Newcastle upon Tyne, Grande-Bretagne, 11-16 août 1985.

— Conférence Plénière « Structure et Fonction du récepteur de l'acétylcholine », Forum des Jeunes Chercheurs, Liège, Belgique, 4 septembre 1985.

— Plenary Lecture à l'occasion de la remise du diplôme de « *Honorary member of the Japanese Biomedical Society* », 58th Annual Meeting of the Japanese Biomedical Society, Sendai, Japon, 27 septembre-2 octobre 1985.

— *Ciba-Geigy Drew Award in Biomedical Research* « The acetylcholine receptor : an allosteric membrane protein », Madison, New Jersey, U.S.A., 16 octobre 1985.

— Conférence, XIII^e Congrès National de l'U.N.A.F.A.M., Dijon, 16 novembre 1985.

— Conférence « The acetylcholine receptor : models for short and long term changes of efficacy », X^e Conférence en Neurobiologie « Régulation et plasticité synaptique », Gif-sur-Yvette, 28 novembre 1985.

— Conférence « Cerveau et pensée », Cercle Parisien de la Ligue de l'Enseignement, Paris, 4 décembre 1985.

— Conférence « The acetylcholine receptor and models for short and long term learning », Institut Culturel Franco-Allemand, Tübingen, R.F.A., 13 janvier 1986.

— Conférence « Espoirs de la Biologie Moléculaire », Troisième Colloque sur la démence sénile, Ministère des Affaires Sociales et de la Solidarité Nationale, Paris, 27 janvier 1986.

— Conférence « Les communications cellulaires dans le système nerveux », Collège de France, Paris, 6 février 1986.

— Conférence « Learning by selection », International Conference on Biological Computation, University of Arizona, Tucson, U.S.A., 22 février 1986.

— *Distinguished Lecture* « A molecular approach to learning by selection of synapses », Series in the Brain Science, *The Whittaker College of Health Sciences, Technology and Management*, M.I.T., Cambridge, Massachusetts, U.S.A., 24 février 1986.

— *Walter E. Dandy Lecture* « The neuromuscular junction and learning : facts and theory », The John Hopkins Medical Institutions, Baltimore, Maryland, U.S.A., 26 février 1986.

— Course « Learning from a neuronal and bahavioral perspective », Cornell University, Ithaca, New York, U.S.A., 27 février 1986.

— *F.O. Schmitt Lecture and Prize* « The acetylcholine receptor : models for short and long term changes of synapse efficacy », Rockefeller University, New York, U.S.A., 11 mars 1986.

— Conférence « Génétique moléculaire du système nerveux central », Congrès des Neurosciences, Bordeaux, 23 avril 1986.

— Conférence « Neurones, représentations et environnement », Colloque L'Homme Moderne, Hagetmau, Landes, 17 mai 1986.

— Conférence « Activity-dependent selection of developing synapses », Meeting « Brain beyond genes », Waldorf-Astoria, New York, U.S.A., 2-4 juin 1986.

Anne DEVILLERS-THIERY :

— Co-organisatrice du mini-colloque I.N.S.E.R.M. : Génétique moléculaire et pathologie, La Bussière-sur-Ouche, 14-16 juin 1985.

— Séminaire D.E.A. Pharmacologie Moléculaire, Pharmacologie expérimentale et métabolisme, Université Paris V, 20 janvier 1986.

— Conférence au Colloque des Neurosciences de Bordeaux, 23 avril 1986.

— Séminaires (8 heures de cours), Maîtrise de Biologie Moléculaire des Eucaryotes, Université Paris VI.

Christopher HENDERSON :

— Conférencier : Conférence I.N.S.E.R.M. « Développement et maturation des interactions nerf-muscle », Seillac, France, 22-26 septembre 1985.

— Conférencier : Symposium International « New Concepts in Alzheimers' Disease », Castres, 2-4 octobre 1985.

— Discussant : Dahlem Workshop « Neural and Molecular Mechanism of Learning », Berlin, R.F.A., 8-12 décembre 1985.

— Conférencier : Réunion annuelle de la Société Française de Neurologie, Paris, 9 janvier 1986.

— Conférencier : Colloque de la Société de Gérontologie « Thérapeutiques de la Démence », Paris, 27 janvier 1986.

— Conférencier : International Meeting on « Growth Factors in the Nervous System », Leeds Castle, Grande-Bretagne, 24-26 mars 1986.

— Conférencier : Colloque National des Neurosciences, Bordeaux, 22-26 avril 1986.

— Conférencier : « Trends in Neurobiology », Congrès de l'Association Franco-suédoise pour la Recherche, Stockholm, Suède, 6-7 juin 1986.

— Conférencier : 4^e Colloque Annuel de la Société de Biologie Cellulaire de France, Nantes, 12 juin 1986.

— Conférencier : VI International Congress on Neuromuscular Diseases, Muscular Dystrophy Association, Los Angeles, U.S.A., 6-11 juillet 1986.

André KLARSELD :

— International Symposium on Molecular Aspects of Neurobiology, Florence, Italie, 19-21 juin 1985.

— Conférences « Le récepteur de l'acétylcholine », D.E.A. de Biologie Moléculaire et Cellulaire, 20 mars 1986 et D.E.A. de Pharmacologie, 10 avril 1986.

— Cours d'Immunopathologie de l'Institut Pasteur, 23 avril 1986.

DISTINCTIONS

Jean-Pierre CHANGEUX :

— Honorary member of the Japanese biochemical society, Sendai, Japon, 1^{er} octobre 1985.

— Ciba-Geigy Drew Award in Biomedical research, Madison, N.J., U.S.A., 16 octobre 1985.

- Prix Céline. Institut Pasteur, octobre 1985.
- Whittaker distinguished lecture in brain science, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Mass., U.S.A., 24 février 1986.
- First Walter Dandy lecture. The John Hopkins Medical Institutions, Baltimore, Md., U.S.A., 26 février 1986.
- F.O. Schmitt prize and medal, Neuroscience Research Program, Rockefeller University, New York, U.S.A., 11 mars 1986.