

Neuropharmacologie

M. Jacques GLOWINSKI, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeur

Cours : Les ganglions de la base : Nouveaux horizons (2^e partie)

Prolongeant l'analyse des données récentes sur les ganglions de la base, un ensemble de structures impliquées dans le contrôle des fonctions sensori-motrices, limbiques et cognitives, nous nous sommes intéressés cette année à trois domaines particuliers : 1) la localisation et les interactions fonctionnelles des récepteurs dopaminergiques D1 et D2 ; 2) les propriétés neurotoxiques du MPTP et les modèles animaux de la maladie de Parkinson ; 3) les aspects ontogénétiques des compartiments striataux (striosomes et matrice).

1) Certaines données anatomiques et biochimiques suggèrent que les récepteurs D1 et D2 dopaminergiques se trouvent localisés sur des populations distinctes de neurones efférents du striatum et que leur stimulation provoque respectivement une activation (D1) ou une inhibition (D2) de l'activité de ces neurones. Nous avons analysé plusieurs travaux qui contredisent partiellement cette hypothèse et qui révèlent d'une part une co-localisation de ces récepteurs sur certaines populations neuronales et d'autre part des réponses inhibitrices médiées par les récepteurs D1. Plusieurs études biochimiques, électrophysiologiques et comportementales indiquent l'existence de phénomènes coopératifs impliqués dans les effets médiés par la stimulation des récepteurs D1 et D2, ces événements intervenant au niveau cellulaire ou mettant en jeu des ensembles neuronaux. Ces interactions, dont les répercussions sont importantes, ont été analysées en détail en nous attachant à distinguer deux situations distinctes permettant d'approfondir ces mécanismes : les réponses obtenues chez l'animal normal et celles observées chez l'animal dépourvu d'innervation dopaminergique striatale, situation dans laquelle les récepteurs D1 et D2 sont hypersensibles. Enfin, deux types de modèles animaux, l'un chez le rat nouveau-né et l'autre chez le rat adulte, ont permis de mettre en évidence des phénomènes de sensibilisation à long terme (priming) induits par

les agonistes D1 et dans certains cas D2 après destruction de l'innervation dopaminergique du noyau accumbens ou du striatum. Ces phénomènes de mémorisation ont été précisément décrits ainsi que le blocage de leur induction par des antagonistes des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate).

2) Le MPTP (1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) est une substance neurotoxique qui détruit les neurones dopaminergiques nigro-striataux et reproduit ainsi très rapidement chez l'homme des déficits sensori-moteurs et cognitifs très voisins, voire identiques à ceux observés chez le parkinsonien. Après avoir rappelé la découverte fortuite de cette substance, nous avons comparé ses effets chez l'homme et plusieurs espèces animales, et notamment le singe et la souris, puis montré que la destruction des neurones noradrénergiques du locus coeruleus amplifiait la dégénérescence des neurones dopaminergiques provoquée par le MPTP. Formé dans les astrocytes à partir du MPTP, le MPP⁺ est en fait le métabolite neurotoxique du MPTP. Les différents facteurs contribuant à sa neurotoxicité ont été envisagés : capture sélective dans les terminaisons dopaminergiques, transfert dans les vésicules synaptiques de stockage du médiateur et déplacement de la dopamine, liaison et libération progressive à partir de la neuromélanine chez les primates, inhibition du complexe I mitochondrial conduisant à la réduction des taux d'ATP et à la formation d'ions superoxydes et de radicaux libres neurotoxiques, accroissement par des mécanismes indirects de la transmission glutamatergique impliquée (via les récepteurs NMDA) dans les processus de neurotoxicité. A chaque étape, plusieurs mécanismes de protection ont été envisagés : ceci nous a amené à considérer le rôle de certains facteurs de croissance tel que le BDNF qui semble jouer un rôle particulier dans le développement des neurones dopaminergiques.

3) Les striosomes et la matrice, les deux principaux compartiments anatomiques du striatum, apparaissent successivement au cours de l'ontogenèse. Après avoir rappelé l'identité des marqueurs biochimiques permettant de les identifier au cours de l'embryogenèse et pendant la période post-natale, nous avons décrit toute une série d'expériences complémentaires révélant les rôles respectifs des facteurs génétiques et épigénétiques impliqués dans la genèse de ces compartiments. Différents problèmes ont été abordés : hétérogénéité des lignées cellulaires à l'origine de ces compartiments striataux, date de migration des neurones et cellules gliales de ces compartiments, adhésion entre les neurones des striosomes et reconnaissance avec les neurones des couches profondes du cortex cérébral, formation des voies nigro-striatales originaires des deux compartiments, rôle des cellules cibles de ces voies dans la survie des neurones pendant la période postnatale et enfin rôle de la voie nigro-striatale dopaminergique dans l'organisation de ces deux réseaux striataux.

Séminaires : Mécanismes de libération des médiateurs chimiques

H. KORN (Paris) : Libération quantique des neurotransmetteurs dans le système nerveux central

A. MARTY (Paris) : Courants synaptiques inhibiteurs dans les cellules de Purkinje

J.P. HENRY (Paris) : Processus de transport des médiateurs au niveau vésiculaire

D. AUNIS (Strasbourg) : Protéines essentielles impliquées dans la libération des catécholamines des cellules chromaffines

F. VALTORTA (Milan, Italie) : Phosphoprotéines des vésicules synaptiques et régulation des fonctions synaptiques

M. ISRAEL (Gif/Yvette) : Libération de l'acétylcholine : le médiatophore

M.L. KEMEL (Paris) : Circuits locaux contribuant à la régulation présynaptique de la libération de dopamine dans les compartiments striataux : striosomes et matrice

D. NICHOLLS (Dundee, UK) : Canaux ioniques présynaptiques impliqués dans le processus d'exocytose du glutamate

S. LANGER (Paris) : Mécanismes présynaptiques impliqués dans le contrôle de la libération des neurotransmetteurs

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE NEUROPHARMACOLOGIE
(INSERM U.114)

Plusieurs axes de recherche ont été poursuivis. Ils peuvent être brièvement résumés.

*1. INTERACTIONS CELLULAIRES AU COURS DU DÉVELOPPEMENT
DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL*

1.1. ÉTUDE DES FONCTIONS ET DE LA DIFFÉRENCIATION DES CELLULES MICROGLIALES (Responsable de l'équipe : Michel Mallat)

1.1.1. *Interactions entre les macrophages cérébraux et les neurones*

a. *Secrétion de facteurs de croissance neuronaux par les macrophages cérébraux*

Précédemment nous avons observé que des macrophages cérébraux de rat isolé in vitro secrètent spontanément dans leur milieu de culture des facteurs

stimulant la croissance ou la régénération de prolongements neuronaux. Nous avons, cette année, tenté d'identifier les molécules responsables de cette activité des macrophages. Les résultats indiquent la participation majeure d'une glycoprotéine de la matrice extracellulaire : la thrombospondine. En premier lieu, l'activité des facteurs macrophagiques introduits dans les cultures neuronales a pu être neutralisée par des anticorps anti-thrombospondine. De plus, la production macrophagique de thrombospondine a été directement démontrée par immunoprécipitation de la protéine dans le milieu de culture des macrophages cérébraux. Cette observation a été validée *in situ* par la localisation immunocytochimique de la protéine dans des coupes de tissus adulte. Nous avons constaté que l'expression de thrombospondine est induite dans le striatum de rat lésé par une injection locale d'acide kainique, la protéine étant localisée dans les macrophages recrutés dans la structure lésée. Au delà de l'analyse des interactions microglie-neuronaux, nos résultats ont permis d'identifier une source cellulaire de thrombospondine dans le SNC (B. Chamak, M. Mallat.)

b. *Hétérogénéité fonctionnelle et neurotoxicité des macrophages cérébraux*

Bien que les macrophages produisent des facteurs de croissance des neurites, ces cellules ont aussi la capacité de tuer des neurones par la production de radicaux libres oxygénés. Précédemment, nous avons montré que cette activité peut se manifester *in vitro* lors d'un contact membranaire entre les deux types cellulaires et que la neurotoxicité des macrophages issus du cortex cérébral est plus marquée que celle des macrophages provenant du mésencéphale. Des travaux en cours portent sur la régulation de cette neurotoxicité. Deux approches ont pour but d'analyser le rôle promoteur des interactions membranaires. La première vise à caractériser les molécules d'adhésion favorisant le contact entre les macrophages cérébraux et les neurones à l'aide d'un test quantitatif de l'adhésion *in vitro*. La seconde exploite des anticorps monoclonaux générés contre des cellules microgliales par l'équipe du Dr. W.F. Hickey (USA) pour étudier l'expression de molécules de surface par les macrophages en fonction de leur origine mésencéphalique ou corticale. Selon les premiers résultats certains anticorps se distinguent par leur liaison préférentielle aux macrophages issus du cortex cérébral (M. Mallat, M. Gelman, B. Chamak).

1.1.2. *Etudes sur le développement microglial*

Au cours de l'ontogénèse, la croissance de la population microgliale dépend à la fois d'une infiltration du tissu nerveux par des précurseurs macrophagiques exogènes et d'une prolifération intracérébrale de macrophages. La régulation de ces deux mécanismes fait l'objet de travaux dans notre équipe.

a. *Rôle des facteurs de croissance des lignages hématopoïétiques dans la prolifération in vitro des cellules microgliales*

Suite à nos résultats sur l'expression de gènes de facteur de croissance macrophagique par les cellules nerveuses, nous avons étudié le rôle possible de trois cytokines, le M-CSF, le GM-CSF et l'interleukine 3, dans la prolifération spontanée de cellules microgliales au sein de cultures primaires issues du cortex cérébral d'embryons de souris (E16). L'influence de ces facteurs de croissance a été évaluée par leur neutralisation à l'aide d'anticorps spécifiques introduits dans les cultures. Les résultats indiquent que parmi les trois cytokines testées, seul le M-CSF est nécessaire pour la prolifération des cellules microgliales. De plus le M-CSF est apparu responsable de l'accroissement du taux de prolifération microglial en réponse au traitement des cultures par deux autres cytokines recombinantes : l'interleukine 1 et le TNF. Ces résultats confrontés aux analyses moléculaires antérieures confèrent une fonction au M-CSF produit par les cellules du système nerveux immature (Théry et Mallat).

b. *Influence des cellules nerveuses sur la migration in vitro de macrophages*

Outre l'étude de la prolifération microgliale, une analyse de l'infiltration du tissu nerveux par les macrophages a été récemment entreprise. L'objectif est de rechercher une production par les cellules cérébrales de facteurs chemotactiques actifs sur les macrophages cérébraux ou leurs précurseurs. Dans sa phase actuelle, cette analyse comporte la mise au point d'un test quantitatif de migration polarisée de macrophages en réponse à leur exposition à des facteurs solubles produits par des cellules nerveuses en culture (C. Calvo).

1.2. GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DE LA SENSIBILITÉ DES NEURONES DOPAMINERGIQUES NIGRO-STRIATAUX À UNE PERTURBATION DU MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE (Responsable de l'équipe : Matthieu Lévi-Strauss)

1.2.1. *Génétique moléculaire de la compartimentation striatale*

Le criblage différentiel d'une banque d'ADN complémentaires de striatum, destiné à identifier des ARN messagers impliqués dans le mécanisme de la compartimentation striatale, nous a conduit à sélectionner deux ADN complémentaires susceptibles de répondre à ce critère et jusqu'alors inconnus.

L'ARN messenger correspondant à l'ADN complémentaire 3.1 est très abondant dans certains neurones de la couche germinative bordant le ventricule au cours de leur période de prolifération et durant les quelques jours qui suivent leur migration. Très curieusement, les neurones capables de se diviser après la naissance en dehors de la couche germinative (cellules des grains du cervelet,

de l'hippocampe et du bulbe olfactif) sont les seuls à exprimer l'ARN 3.1 à l'âge adulte. Malgré sa relativement grande taille (2000 bases) l'ARN 3.1 semble coder pour une petite protéine de 68 acides aminés, identifiée en comparant les séquences nucléotidiques des ADN complémentaires humains et murins que nous avons clonés. L'expression dans *E. Coli* de ce polypeptide nous a permis d'obtenir un anticorps qui devrait faciliter sa mise en évidence directe ainsi que la détermination de sa localisation sub-cellulaire.

L'ARN messager 8.5 est lui aussi très abondant dans les neurones embryonnaires. Sa séquence nucléotidique, homologue à celle d'un ADN complémentaire déjà décrit, nous a permis de définir une nouvelle famille de protéines du système nerveux central. Il code pour une protéine de 20 kDa dont nous analysons la localisation sub-cellulaire (collaboration avec le Dr. Claude Tougard, Groupe de Neuroendocrinologie Cellulaire et Moléculaire) à l'aide d'un anticorps obtenu par immunisation avec la protéine recombinante (J.M. Studler, D. Sabéran-Djoneidi, M. Gelman, M. Lévi-Strauss)

1.2.2. Analyse moléculaire de la sensibilité des neurones dopaminergiques nigro-striataux à une perturbation du métabolisme énergétique

Le but de cette étude est, d'une part, de mettre en évidence une sensibilité particulière des neurones dopaminergiques nigro-striataux à une perturbation du métabolisme énergétique qui pourrait, par exemple, expliquer leur forte sensibilité au MPTP. D'autre part, et toujours dans le but de comprendre la fragilité de ces neurones, nous tentons d'identifier les bases cellulaires et moléculaires de la mutation weaver de la souris.

Chez des animaux normaux, nous avons montré que la recapture de dopamine, mesurée sur des synaptosomes ou sur des neurones mésencéphaliques en culture primaire, est plus sensible que la recapture d'autres neurotransmetteurs (GABA, sérotonine, noradrénaline) à l'action de plusieurs inhibiteurs de la phosphorylation oxydative (roténone, cyanure, antimycine). Cette observation suggère, conformément à notre hypothèse, l'existence d'un déficit énergétique constitutif des neurones dopaminergiques. Nous avons également mis en évidence une diminution de la recapture de la dopamine dans des cultures de neurones mésencéphaliques d'embryons de souris weaver homozygotes ou hétérozygotes par rapport à des embryons sauvages. Nous analysons actuellement le mécanisme de ce déficit (I. Marey-Semper, M. Gelman, M. Lévi-Strauss).

2. RÉGULATION DES SYSTÈMES DE TRANSDUCTION ASSOCIÉS — CERTAINS RÉCEPTEURS MEMBRANAIRES CENTRAUX

2.1. RÔLE DES ASTROCYTES DANS LA RÉGULATION DE LA TRANSMISSION GLUTAMATERGIQUE DANS LE STRIATUM (Responsable de l'équipe : Joël Prémont)

Les astrocytes possèdent un système de recapture du glutamate à haute affinité et dépendant du sodium pouvant être inhibé par l'acide arachidonique. Nous avons précédemment montré, qu'en réponse à certains signaux neuro-naux, les astrocytes libèrent de l'acide arachidonique en quantité suffisante pour retentir sur leur capacité de recapture de cet acide aminé. Les astrocytes pourraient donc participer à la régulation de l'efficacité de la transmission glutamatergique. De plus, nous avons récemment démontré que le glutamate, lui même, induit une libération de l'acide arachidonique des astrocytes en culture primaire provenant de différentes régions (striatum, hippocampe, cortex cérébral et cervelet) du cerveau d'embryons de souris.

2.1.1. *Caractérisation pharmacologique des récepteurs impliqués dans la libération d'acide arachidonique induite par le glutamate dans les astrocytes de striatum*

Les astrocytes de striatum possèdent des récepteurs métabotropiques et ionotropiques du glutamate. L'analyse pharmacologique des récepteurs responsables de la libération d'acide arachidonique, indique que des récepteurs métabotropiques sont exclusivement impliqués dans ce processus. En effet, la libération de cet acide gras est insensible aux agonistes (AMPA) ou aux antagonistes (CNQX, DNQX, APV) des récepteurs ionotropiques. En revanche, l'AP3 ou l'AP4, deux inhibiteurs de récepteurs métabotropiques, suppriment l'effet du glutamate sur la libération d'acide arachidonique. Les astrocytes possèdent également des récepteurs métabotropiques responsables de la production de dérivés phosphorylés de l'inositol. Nous avons montré que ces récepteurs diffèrent des précédents : l'AP4 ne diminue pas la production de dérivés phosphorylés de l'inositol induite par le glutamate et le quisqualate reproduit entièrement ses effets alors qu'il n'est qu'un agoniste très partiel des récepteurs responsables de la libération d'acide arachidonique. Enfin, l'évolution de l'effet du glutamate en fonction de sa concentration sur la libération de l'acide gras, est compatible avec l'implication d'un seul récepteur dont l'affinité serait relativement basse ($EC_{50} = 200 \mu M$). Par contre, deux récepteurs différant entre eux par leurs affinités pour le glutamate ($EC_{50} = 30$ et $300 \mu M$) sont certainement impliqués dans la production de dérivés phosphorylés de l'inositol.

Les astrocytes possèdent également des récepteurs de l'ATP (P2 purinergiques) responsables à la fois d'une production de dérivés phosphorylés de

l'inositol et d'une libération d'acide arachidonique. Nous avons montré qu'il existe une très forte synergie entre les effets de l'ATP et du glutamate mettant probablement en jeu l'activation d'une activité protéine kinase C. L'ensemble de ces deux observations préliminaires nous incite à explorer l'hypothèse selon laquelle les astrocytes du striatum au contact des interneurons cholinergiques participeraient, dans le cadre d'un mécanisme de cotransmission, au renforcement de la transmission glutamatergique. En effet, dans les interneurons cholinergiques du striatum, l'ATP est co-localisé dans les vésicules synaptiques contenant l'acétylcholine. Par ailleurs, les « gabaergic medium sized spiny neurons » du striatum sont innervés par les afférences corticostriatales glutamatergiques. Dans ce contexte, il est tentant d'imaginer que la stimulation de la libération d'acide arachidonique par le glutamate (libéré des afférences glutamatergiques) est augmentée lors de l'activation simultanée des interneurons cholinergiques, dans les astrocytes par l'ATP et dans les neurones par l'acétylcholine. Ainsi l'acide arachidonique pourrait renforcer la transmission glutamatergique en potentialisant les courants induits par le NMDA dans les neurones et en bloquant la recapture de glutamate dans les astrocytes situés au voisinage des interneurons cholinergiques.

2.1.2. *Identification d'une nouvelle cible du glutamate et du monoxyde d'azote dans les neurones de striatum, la glyceraldéhyde-3-phosphodéshydrogénase*

Le glutamate, par l'intermédiaire des récepteurs NMDA, induit la synthèse d'un second messager transcellulaire, le monoxyde d'azote (NO). Ce gaz dissout synthétisé à partir de l'arginine possède deux cibles identifiées jusqu'à présent, la guanylate cyclase soluble (stimulée) présente en quantité variable dans les neurones et les astrocytes et le récepteur NMDA (bloqué). S'inspirant de travaux réalisés par d'autres auteurs sur des érythrocytes et des coupes de cerveaux, des expériences préliminaires nous indiquent que des « donneurs » de NO comme le sodium nitroprussiate et le SIN1, induisent l'ADP ribosylation d'une protéine de 39 KDa dans les neurones de striatum en culture. De nombreux arguments (expériences de western blot et d'immunoprécipitation) permettent de penser que cette protéine de 39 KDa (PM apparent) est la glyceraldéhyde-3-phosphate-déshydrogénase (GAPDH), une enzyme de la glycolyse. Des données préliminaires, indiquent que le glutamate provoque une baisse de la synthèse d'ATP dans les neurones striataux. Un lien entre l'inhibition de la GAPDH et la réduction de synthèse d'ATP devra être recherché. En effet, si tel devait être le cas, l'une des clés de la neurotoxicité du glutamate pourrait être élucidée.

2.1.3. *Rôle des radicaux libres oxygénés ($O_2^{\cdot-}$)*

Des expériences préliminaires indiquent que le sodium nitroprussiate qui ne donne que du NO induit une ADP ribosylation de moindre amplitude que le SIN1 qui libère à la fois du NO et $O_2^{\cdot-}$. Ceci suggère que les radicaux $O_2^{\cdot-}$

potentialisent l'ADP ribosylation de la GAPDH par le NO. Cette hypothèse est actuellement vérifiée grâce à l'utilisation de piègeurs de radicaux $O_2^{\cdot-}$ tel que le 5,5-diméthyl-pyrroline-1-oxide (DMPO). Dans des circonstances particulières (absence d'arginine), l'activation de la NO synthase constitutive des neurones par le complexe calcium-calmoduline peut aboutir à la production de radicaux $O_2^{\cdot-}$. Les effets de la production de radicaux $O_2^{\cdot-}$ en réponse au glutamate sur l'ADP ribosylation de la GAPDH sont également recherchés.

2.1.4. Rôle de l'activité protéine kinase C dans l'augmentation du calcium cytosolique induite par le NMDA dans les neurones de striatum

Nous avons étudié le rôle des activités protéines kinases C dans l'augmentation du calcium cytosolique (mesuré en vidéo-microscopie) dans les neurones striataux en réponse au NMDA. Les principales conclusions de cette étude sont les suivantes : l'augmentation du calcium cytosolique induite par le NMDA est complètement dépendante d'une activité protéine kinase C. De plus, l'activation de protéines kinases C ne potentialise que les réponses sous maximales au NMDA. Ces conclusions diffèrent de celles d'autres équipes ayant réalisées des études parallèles dans lesquelles seul le courant induit par le NMDA fut mesuré (technique du patch clamp). Une inhibition de la perméabilité au calcium du canal NMDA par le calcium pourrait être à l'origine de cette anomalie. Cependant, une modification de la sélectivité ionique du canal NMDA résultant d'une phosphorylation du canal ou d'un élément qui lui serait associé peut aussi être envisagée.

2.2. ÉTUDE DES INTERACTIONS GLIALES PAR L'INTERMÉDIAIRE DES JONCTIONS DE TYPE GAP (Responsable de l'équipe : C. Giaume)

2.2.1. Étude des mécanismes intracellulaires impliqués dans la régulation de la perméabilité jonctionnelle des astrocytes

En utilisant comme modèle « in vitro » les astrocytes en culture primaire, la perméabilité des jonctions « gap » a été étudiée en présence de différents agonistes. Un effet inhibiteur attribué à la fermeture des canaux jonctionnels a été démontré pour l'EGF (10^{-7} M), la noradrénaline (10^{-5} M) et les endothélines (10^{-7} M). L'inhibition induite par les endothélines étant très rapide et complète, ces peptides ont permis d'analyser en détail les systèmes de transduction impliqués dans la régulation de ces jonctions composées majoritairement d'une protéine, la connexine 43. Dans les astrocytes, les endothélines augmentent des seconds messagers dont la production est liée à l'activité des phospholipases C et A2 : le calcium intracellulaire, le diacylglycérol et l'acide arachidonique (AA). Des inhibiteurs de la protéine kinase C (staurosporine et H7) ne modifient pas l'action inhibitrice des endothélines sur les jonctions. Par contre, cette inhibition est supprimée par le 4BPB (10^{-5} M), un bloquant relativement spécifique de la phospholipase A2, et reproduite de

manière concentration-dépendante par l'acide arachidonique (10^{-5} M = 50 % d'inhibition). Ces observations suggèrent que cet acide gras pourrait directement intervenir dans le mécanisme de découplage. L'AA est métabolisé selon deux voies principales, celle des cyclooxygénases et celle des lipoxygénases ; l'inhibition de l'une ou l'autre de ces voies a permis de démontrer que les endothélines agissent probablement par l'intermédiaire d'un produit des lipoxygénases (C. Giaume, L. Venance, J. Cordier).

2.2.2. *Couplages jonctionnels homotypique et hétérotypique lors de la différenciation des oligodendrocytes*

La différenciation des oligodendrocytes (cellules gliales myélinisantes du système nerveux central) est caractérisée par d'importants changements dans l'expression de canaux ioniques. Nous avons étudié le développement de la communication intercellulaire par les canaux jonctionnels. Deux stades de différenciation ont été considérés : les précurseurs O-2A et les oligodendrocytes matures, identifiés par immunocytochimie et en électrophysiologie. Les couplages ioniques et chimiques sont caractéristiques du stade de développement : absents au niveau des précurseurs O-2A, ils sont présents au stade oligodendrocyte et sont sensibles à divers agents découplants. D'autre part, l'existence d'un couplage hétérotypique entre oligodendrocytes et astrocytes de type-1 a été recherchée en utilisant des cultures hétérogènes dans lesquelles plusieurs classes de cellules gliales étaient présentes. Après 6 semaines de cocultures, 25 % des oligodendrocytes sont couplés avec les astrocytes. Par contre aucun échange de colorant n'est détecté entre les astrocytes et les cellules microgliales ou les précurseurs O-2A. Ces observations démontrent que des jonctions « gap » fonctionnelles apparaissent progressivement au cours de la différenciation des oligodendrocytes et qu'une communication apparaît simultanément avec les astrocytes. La démonstration d'un couplage chimique hétérotypique indique qu'en plus des ions, ces deux types de cellules gliales sont capables d'échanger des signaux « chimiques », par exemple des seconds messagers. En conséquence, dans le cadre d'une organisation syncytiale de la névroglie la stimulation des récepteurs astrocytaires pourrait indirectement, mais spécifiquement, affecter les propriétés des oligodendrocytes via cette voie de communication intercellulaire (L. Venance, J. Cordier ; Coll. ext. B. Zalc Salpêtrière, Paris).

2.3. RÉCEPTEURS DES TACHYKININES

(Responsable de l'équipe : Jean-Claude Beaujouan)

2.3.1. *Mise en évidence d'une nouvelle classe de récepteurs des tachykinines*

Ces études ont été poursuivies en étroite collaboration avec l'équipe de S. Lavielle et G. Chassaing du laboratoire de Chimie Biologique (Jussieu, Paris VI).

L'iléon de cobaye possède des récepteurs NK-1 et NK-3 ainsi qu'une faible quantité de récepteurs NK-2 mis en évidence par la liaison spécifique de $^3\text{H-NKA}$. Les diverses tachykinines endogènes et les agonistes sélectifs NK-1 et NK-3 contractent l'iléon de cobaye. Le septide (analogue C-terminal court de la substance P (SP) : [p Glu⁶,Pro⁹]SP (6-11)) présente une efficacité comparable à celle de la SP mais curieusement ne possède qu'une faible affinité pour les sites NK-1 marqués par la $^3\text{H-[Pro}^9\text{]SP}$ (ligand NK-1 sélectif) sur les membranes de l'iléon de cobaye. D'autres analogues de la SP tels que l'[Apa⁹⁻¹⁰]SP, la SP-O-CH₃ et des fragments C-terminaux de la SP ont des propriétés analogues à celles du septide. L'activité puissante de ces peptides sur l'iléon de cobaye (contraction) ne peut être expliquée par leur interaction avec les sites NK-2 et NK-3 puisqu'ils ne présentent pas ou peu d'affinité pour ces sites. D'autre part, le GR 71251 et la [D-Pro⁹,Pro¹⁰,Trp¹¹]SP inhibent avec une meilleure efficacité l'action contracturante du septide que celle induite par la [Pro⁹]SP. Ces résultats suggèrent que le septide et certains analogues de la SP (fragments C-terminaux de la SP) exercent leurs actions biologiques sur l'iléon de cobaye par l'intermédiaire d'un nouveau type de récepteur des tachykinines (F. Petitet et al., G. Chassaing et al.).

2.3.2. Différences interspèces des récepteurs des tachykinines

a) Le CP-96,345 (un antagoniste NK-1 non peptidique) a permis de révéler des différences dans les propriétés des récepteurs NK-1 selon les espèces, cet antagoniste étant plus actif et afin sur des préparations de cobaye et de l'homme que sur celles de rat et de souris. Nous avons confirmé ces données et montré à l'inverse qu'un autre antagoniste NK-1 non peptidique, le RP 67580, est plus puissant sur des préparations de souris et de rat que sur celles de cobaye (J.-C. Beaujouan et al.).

b) Des différences d'espèces ayant été observées pour les récepteurs NK-1 et NK-2 nous avons recherché l'existence d'une différence analogue pour les récepteurs NK-3. Le SR 48968 (un antagoniste NK-2 non peptidique puissant) inhibe également l'activation de la phospholipase C induite par le septide (agoniste sélectif NK-3) dans des coupes d'iléon de cobaye. De plus, le SR 48968 interagit avec les sites de liaison NK-3 du cobaye mais pas avec ceux du rat. Cette différence entre espèces a pu être confirmée avec des agonistes NK-3 tels que la [Pro⁷]NKB. En effet, celui-ci présente une meilleure affinité pour les sites NK-3 corticaux du rat que pour ceux du cobaye (F. Petitet et al.).

2.3.3. Étude des systèmes de transduction associés aux récepteurs astrocytaires de type NK-1

Les astrocytes corticaux en culture primaire de souriceaux nouveau-nés possèdent des récepteurs NK-1 associés à une phospholipase C mais sont

dépouvus de récepteurs NK-2 et NK-3. L'inhibition par de nombreux antagonistes NK-1 peptidiques et non peptidiques de la stimulation de la phospholipase C induite par la [Pro⁹]SP a été étudiée sur cette préparation. Les antagonistes non peptidiques sont plus efficaces que les peptidiques ; pour toutes ces molécules, une excellente corrélation a pu être retrouvée entre leur affinité et leur activité antagoniste. Le RP 67580 (Rhône-Poulenc Rorer), molécule non peptidique, s'est révélé l'antagoniste le plus puissant vis à vis de la stimulation de la phospholipase C et de l'élévation de la concentration cytosolique de calcium induite par la [Pro⁹]SP. (J.-C. Beaujouan et al.).

3. ÉTUDES DES PROTÉINES KINASES ET PHOSPHATASES NEURONALES ET ASTROCYTAIRES ET DE LEURS SUBSTRATS

3.1. ÉTUDE DE PROTÉINES KINASES ET PHOSPHATASES NEURONALES ET DE LEURS SUBSTRATS (Responsable de l'équipe : Jean-Antoine Girault)

3.1.1. Étude des sites de phosphorylation de la DARPP-32, un inhibiteur de phosphatase intervenant dans l'action de la dopamine (Frédéric Desdouits, Jean-Antoine Girault)

La protéine phosphatase 1 est une enzyme ubiquitaire dont le rôle majeur dans les régulations cellulaires a été bien étudié dans certains processus métaboliques comme le métabolisme du glycogène, mais reste mal connu dans les neurones. Deux protéines régulatrices inhibent puissamment la phosphatase 1 lorsqu'elles sont phosphorylées par la protéine kinase activée par l'AMPc sur une thréonine. Ces deux protéines, dont la séquence est homologue, sont l'inhibiteur 1 et la DARPP-32 (dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein, Mr = 32 000). La DARPP-32 est enrichie dans certains neurones cérébraux, notamment les neurones striatonigraux où sa phosphorylation est stimulée par la dopamine et sa déphosphorylation par le glutamate.

En plus de sa phosphorylation sur la thréonine 34, la DARPP-32 est phosphorylée sur des sérines dans les cellules intactes. Nous avons identifié précédemment les résidus phosphorylés par la caséine kinase II. Nous poursuivons actuellement la caractérisation de la phosphorylation de la DARPP-32 par la caséine kinase I, en collaboration avec le groupe de Paul Greengard (Rockefeller University, New York). Le site de phosphorylation principal pour cette kinase a été identifié par mutagenèse dirigée, il s'agit de la sérine 137. La phosphorylation de la DARPP-32 sur la sérine 137 par la caséine kinase I *in vitro* modifie sa migration électrophorétique en gel de polyacrylamide en présence de SDS. Cette phosphorylation a aussi lieu dans les neurones aussi bien au niveau somatodendritique (striatum) que dans les terminaisons (substance noire). La déphosphorylation de la sérine 137 est catalysée par la

phosphatase 2A. *In vitro*, la caséine kinase I phosphoryle également plusieurs autres résidus vraisemblablement sans signification physiologique. Le rôle de la phosphorylation de la DARPP-32 par la caséine kinase I, en particulier les conséquences de cette phosphorylation sur l'action d'autres kinases ou d'autres phosphatases sur la protéine est actuellement à l'étude. La comparaison des cartes phosphopeptidiques de la DARPP-32 obtenues à partir de neurones striatonigraux prémarqués au ^{32}P -phosphate aux cartes obtenues *in vitro* montre que la phosphorylation par les caséines kinases I et II rend compte de tous les sites phosphorylés dans les cellules intactes en conditions basales.

D'autre part nous avons étudié les conséquences éventuelles de la phosphorylation de la DARPP-32 sur sa conformation en solution. Cette étude, réalisée par spectroscopie de fluorescence résolue en fonction du temps, en collaboration avec les Dr. Paolo Neyroz (Université de Bologne) et Fabio Benfenati (Université de Modène), a porté sur la fluorescence du tryptophane en position 163 et de la cystéine en position 72, conjuguée à différents fluorophores. Les études de « quenching », de décroissance de fluorescence et d'anisotropie de fluorescence de la DARPP-32 native ou dénaturée et dans différents états de phosphorylation, ont montré que cette protéine possède une structure organisée malgré sa pauvreté en hélice ou en feuillet identifiables par dichroïsme circulaire. Le tryptophane 163 est situé dans un environnement beaucoup plus mobile que la cystéine 72. La phosphorylation par la protéine kinase activée par l'AMPc ou par la caséine kinase II ne modifie pas la conformation globale de la protéine. Ces résultats, ainsi que d'autres obtenus par l'étude de peptides synthétiques, suggèrent que la phosphorylation par ces deux kinases exerce ses effets sur la DARPP-32 essentiellement par des effets locaux électrostatiques et/ou stériques.

3.1.2. *Étude de la phosphorylation de protéines sur des tyrosines dans les synapses striatales* (Julio C. Siciliano, Mathias Menegoz, Michèle Gelman, Ferran Burgaya et Jean-Antoine Girault)

Nous nous intéressons au rôle possible des phosphorylations de protéines sur des tyrosines dans l'établissement et le maintien des contacts synaptiques, dans le système nerveux central, au cours du développement et chez l'adulte. Au cours des années précédentes nous avons mis en évidence les principales protéines phosphorylées sur des tyrosines au cours du développement, dans le tissu nerveux du rat et de la souris et dans les cellules en culture. Nous avons étudié plus particulièrement une phosphoprotéine majoritaire, d'un poids moléculaire apparent de 180 kDa (pp180) enrichie au niveau postsynaptique. Dans le striatum, la forme phosphorylée de pp180 augmente après lésion des neurones dopaminergiques ou traitement prolongé par les neuroleptiques. Cette observation est à rapprocher des modifications morphologiques des densités post-synaptiques décrites après traitement chronique par les neuroleptiques. Pour comprendre le rôle éventuel de pp180 et de sa régulation dans

ces modifications, nous avons poursuivi l'étude de cette protéine. Il s'agit d'une glycoprotéine de 180 kDa, difficile à solubiliser, dont la forme phosphorylée est fortement enrichie dans les densités post-synaptiques. pp180 a été partiellement purifiée par affinité sur colonne de lectine et nous avons obtenu des fragments de séquences peptidiques, après protéolyse ménagée à la trypsine. Ces séquences ne présentent pas d'homologie avec des protéines connues. Les expériences en cours visent à produire des anticorps contre des peptides synthétiques correspondant à ces séquences et à cloner l'ADN complémentaire de pp180 à l'aide de sondes oligonucléotidiques dégénérées.

Par ailleurs, nous avons étudié la régulation de la phosphorylation de protéines sur des tyrosines dans des tranches de cerveau de rat et des neurones en culture. La dépolarisation par le KCl ainsi que l'application d'un certain nombre d'agonistes de neurotransmetteurs (glutamate, t-ACPD, AMPA, methoxamine, carbachol) entraîne l'augmentation de la phosphorylation de protéines de 110 et 120 kDa (pp110 et pp120) sur des tyrosines. Ces effets font intervenir une augmentation du Ca^{++} intracellulaire et une activation de la protéine kinase C. Les travaux en cours ont pour but d'identifier pp110 et pp120 et de caractériser les enzymes impliquées dans leur régulation.

3.2. RÔLE DES PHOSPHORYLATIONS ASTROCYTAIRES DANS LES INTERACTIONS NEURO-GLIALES (Responsable de l'équipe : Hervé Chneiweiss)

Les phosphoprotéines astrocytaires peuvent être considérées comme les cibles intracellulaires finales de l'action des neurotransmetteurs. Une stratégie d'analyse par gels bidimensionnels (2D-SDS-PAGE) des protéines dont le degré de phosphorylation varie en réponse à divers traitements pharmacologiques nous a conduit à caractériser une protéine de faible poids moléculaire enrichie dans les astrocytes en comparaison des autres cellules cérébrales, pour laquelle nous avons proposé le nom de PEA15 (Protéine Enrichie dans les Astrocytes de 15 kDa, pI 5,2-5,4). PEA-15 est un substrat endogène pour la protéine kinase C, et le site de phosphorylation a pu être déterminé.

Plusieurs antisera ont été obtenus à partir de séquences peptidiques internes, y compris contre le site de phosphorylation par la PKC. Au moins deux de ces sera reconnaissent PEA-15 différemment en fonction de son état de phosphorylation. Par analyse en immunoréplique, l'abondance de PEA-15 au sein des astrocytes a pu être confirmée. Par ailleurs, une expression ubiquitaire modérée de la protéine est mise en évidence au sein d'autres cellules cérébrales (neurones, microglie, oligodendrocytes, cellules endothéliales) obtenues en populations homogènes en culture primaire. A l'échelle subcellulaire, il s'agit essentiellement d'une protéine cytosolique. En dehors du cerveau, seul le poumon semble exprimer la protéine. Enfin, une grande conservation de la protéine peut être observée au cours de l'évolution,

puisqu'une immunoréactivité est retrouvée des mammifères jusqu'aux poissons, avec conservation du site PKC (N. Danziger, J. Cordier, H. Chneiweiss).

Parallèlement, les anticorps obtenus ont permis une analyse immunocytochimique sur des cellules en culture indiquant une distribution discrète de la protéine selon un réseau suggérant une interaction avec le cytosquelette. Des expériences de co-marquage, et les effets de différentes drogues sur le degré de polymérisation de l'actine, des filaments intermédiaires, ou des microtubules, suggèrent une interaction de PEA-15 avec les tubulines. De façon intéressante, l'état de phosphorylation de PEA15 pourrait varier parallèlement à l'état de polymérisation des microtubules (M. Yokoyama, H. Chneiweiss).

4. MÉCANISMES INTERVENANT DANS LA RÉGULATION DE LA LIBÉRATION DE DOPAMINE À PARTIR DES TERMINAISONS ET DES DENDRITES DES NEURONES DOPAMINERGIQUES NIGRO-STRIATAUX

4.1. ÉQUIPE DE ANDRÉ CHÉRAMY

4.1.1. Rôles respectifs du glutamate et de l'acétylcholine sur la libération de GABA dans le striatum chez le rat

Les neurones GABAergiques du striatum étant pourvus de récepteurs glutamatergiques et cholinergiques nous avons examiné les effets des agonistes de ces récepteurs sur la libération de ^3H -GABA. La méthode de superfusion de micro-disques de tissu préalablement incubés en présence de ^3H -GABA a été utilisée. Ces micro-disques peuvent être sélectivement prélevés sur des coupes de striatum dans des zones enrichies en matrice ou en striosomes.

La libération de ^3H -GABA est augmentée par l'acétylcholine, la nicotine ou le carbachol (un agoniste nicotinique et muscarinique), cet effet est dose-dépendant, calcium-dépendant, réduit par la tétrodoxtine, bloqué par l'atropine et/ou la pempidine. Curieusement l'oxotrémorine (un agoniste muscarinique) exerce un effet légèrement inhibiteur. L'effet stimulateur du carbachol est plus important dans la matrice que dans les striosomes. En présence de tétrodoxtine, il est réduit à un niveau analogue dans ces deux zones (celui observé dans les striosomes en absence de tétrodoxtine).

L'AMPA augmente la libération de ^3H -GABA, cet effet est dose-dépendant, calcium-dépendant, réduit par la tétrodoxtine, spécifiquement bloqué par le DNQX. Aucune différence n'a pu être mise en évidence en ce qui concerne l'effet de l'AMPA sur la libération de ^3H -GABA dans les striosomes ou la matrice, en présence ou en absence de tétrodoxtine. Les effets de l'AMPA ne sont pas modifiés par l'atropine et la pempidine.

Dans les conditions normales, c'est à dire en présence de magnésium, le NMDA ne modifie pas la libération de ^3H -GABA dans la matrice ou dans les striosomes. Par contre, un effet stimulateur du NMDA sur la libération de ^3H -GABA peut être observé dans ces deux compartiments striataux en l'absence de magnésium ou lorsque les neurones GABAergiques sont dépolarisés par le potassium ou par l'AMPA. Dans ce dernier cas seulement, l'effet stimulateur du NMDA est beaucoup plus important dans la matrice que dans les striosomes. Toutes les réponses NMDA observées sont dose-dépendantes, calcium-dépendantes, réduites par la tétradoxine, bloquées par le MK801. Le blocage voltage-dépendant des récepteurs NMDA par le magnésium ne peut pas être levé par l'acétylcholine ou le carbachol, contrairement à ce qui est observé dans le cas de la libération de dopamine. Par contre, la stimulation de la libération de ^3H -GABA par le NMDA est réduite lors de l'interruption de la transmission cholinergique dans les deux compartiments striataux.

Ces expériences suggèrent que les interneurons cholinergiques et les fibres cortico-striatales glutamatergiques participent au contrôle de la libération de GABA dans le striatum. Comme le montrent les effets évoqués par le carbachol ainsi que par le NMDA en présence d'AMPA, d'importantes différences existent dans la régulation de la libération de GABA entre les zones striatales enrichies en matrice ou en striosomes (F. Artaud, A. Chéramy, T. Galli, et E. Gheorvassaki).

4.1.2. Rôles respectifs du glutamate et de l'acétylcholine sur la libération de dopamine dans le striatum chez le rat

Une étude semblable à celle décrite ci-dessus a été réalisée sur des synaptosomes de striatum de rat superfusés en continu avec de la ^3H -tyrosine afin d'examiner les interactions cholinergiques et glutamatergiques dans le contrôle de la libération de ^3H -dopamine (^3H -DA) nouvellement synthétisée.

La libération spontanée de ^3H -DA est augmentée par l'acétylcholine, la nicotine ou l'oxotrémorine, cet effet est dose-dépendant, bloqué par l'atropine et/ou la mécamylamine.

Comme nous l'avons montré précédemment, l'AMPA augmente la libération de ^3H -DA, cet effet est dose-dépendant, calcium-dépendant et spécifiquement bloqué par le DNOX.

En présence de magnésium, le NMDA est incapable de modifier la libération de ^3H -DA. Par contre, un effet stimulateur du NMDA peut être observé en absence de magnésium ou lorsque les terminaisons dopaminergiques sont dépolarisées par le potassium, l'AMPA, l'acétylcholine, la nicotine ou l'oxotrémorine. Les réponses NMDA observées sont dose-dépendantes, calcium-dépendantes, bloquées par le MK801 ou l'APV. L'amplitude de la libération

de $^3\text{H-DA}$ évoquée par le NMDA est proportionnelle à la concentration d'acétylcholine, de nicotine ou d'oxotrémorine simultanément appliquée.

Les expériences effectuées révèlent aussi qu'en présence de magnésium, les effets stimulateurs du glutamate résultent d'une co-activation des récepteurs AMPA et NMDA, comme le montre leur antagonisme partiel par le MK801, leur potentialisation par la glycine et leur amplitude maximale comparable à celle de la co-application d'AMPA et de NMDA (A. Chéramy, J.M. Desce et G. Godeheu).

4.2. ÉQUIPE DE MARIE-LOU KEMEL ET CHRISTIAN GAUCHY

4.2.1 *Distribution hétérogène des neurones striato-nigraux dans la matrice du striatum.*

Utilisant un traceur du flux axonal rétrograde (HRP-WGA), nous avons montré chez le chat que les neurones striato-nigraux sont en partie groupés en îlots au sein de la matrice. Une étude plus précise réalisée au niveau cellulaire a révélé que seulement 50 % des neurones à l'intérieur d'un îlot sont marqués à la suite d'une injection effectuée au niveau de la substance noire pars reticulata (SNR). Les neurones non marqués de ces îlots pourraient innervier d'autres régions de la SNR ou le globus pallidus ou correspondre à des interneurons striataux. La première hypothèse a été envisagée en effectuant plusieurs injections de HRP-WGA dans la SNR afin de visualiser sur le même animal l'ensemble des neurones striato-nigraux.

Deux populations de neurones striato-nigraux ont pu être observées : ceux groupés en îlots et ceux distribués en tapis en dehors des îlots. 1) Les neurones distribués en tapis ne sont visualisés qu'à la suite de multiples injections dans la SNR, ils pourraient donc présenter plusieurs collatérales innervant différentes régions de la SNR (le transport de HRP-WGA par une seule collatérale lors d'une injection unique ne serait pas suffisant pour visualiser le corps cellulaire dans le striatum). 2) Le nombre d'îlots ne varie pas à la suite de multiples injections ou d'une injection de HRP-WGA réalisées dans la partie centrale de la SNR, en revanche, le nombre de cellules marquées à l'intérieur de chaque îlot est totalement dépendant du nombre d'injections effectuées dans la SNR. Ces résultats suggèrent l'existence d'une convergence d'innervation vers la partie centrale de la SNR de certains neurones striataux localisés sur toute l'étendue rostro-caudale du striatum en plus des somatotopies rostro-caudale et dorso-ventrale précédemment décrites.

4.2.2. *Influence des afférences nigrales excitatrices et inhibitrices sur la libération de dopamine à partir des dendrites proximaux et distaux de la substance noire du chat*

Les influences des afférences excitatrices (glutamatergiques) provenant du noyau subthalamique et inhibitrices striato-nigrales (riches en dynorphine) dans le contrôle direct ou indirect de la libération dendritique de dopamine (DA) ont été analysées chez le chat au niveau de la pars compacta (SNC, dendrites proximaux) et de la pars reticulata (SNR, dendrites distaux) de la substance noire. Cette étude a été effectuée *in vitro*, en mesurant la libération de ^3H -DA synthétisée en continu à partir de ^3H -tyrosine. Précédemment, nous avons montré que l'application de NMDA ($50\mu\text{M}$) en l'absence de magnésium induit une augmentation de la libération dendritique de ^3H -DA, l'amplitude des réponses étant identique dans la SNC et la SNR. Afin d'augmenter le seuil de détection de la libération du neurotransmetteur, certaines expériences ont été effectuées en présence d'un inhibiteur de la recapture de DA, la nomifensine ($5\mu\text{M}$). Dans ces conditions, la libération spontanée de ^3H -DA est fortement augmentée dans la SNC (x2) et la SNR (x3), tandis que celle évoquée par le NMDA est diminuée dans la SNC. En présence de tétrodotoxine (TTX, $1\mu\text{M}$), la réponse induite par le NMDA persiste dans les deux régions de la substance noire, mais semble être légèrement réduite en absence de nomifensine. Enfin, le U50488 ($1\mu\text{M}$), un agoniste des récepteurs opiacés de type kappa, ne modifie pas la libération dendritique de ^3H -DA évoquée par le NMDA en absence de nomifensine. Ces résultats montrent que la stimulation des récepteurs glutamatergiques de type NMDA localisés sur les dendrites proximaux et distaux facilite la libération dendritique de DA. Par contre celle-ci ne semble pas être régulée par les afférences striato-nigrales dynorphiniques.

4.3.3. *Mise en jeu des récepteurs dopaminergiques dans la régulation de la libération de dopamine évoquée par le NMDA dans les deux compartiments striataux chez le rat*

Précédemment, nous avons montré que le NMDA en absence de magnésium, stimule avec une plus forte amplitude la libération de ^3H -DA (synthétisée en continu à partir de ^3H -tyrosine) dans des zones enrichies en matrice que dans celles enrichies en striosomes dans des coupes de striatum de rat. En dehors des effets excitateurs résultant en partie de la stimulation des récepteurs NMDA localisés sur les terminaisons dopaminergiques, le NMDA agit également sur des récepteurs présents sur les neurones épineux de taille moyenne riches en GABA et certains neuropeptides (tachykinines, dynorphine et enképhaline). Il exerce ainsi indirectement un contrôle présynaptique inhibiteur sur la libération de ^3H -DA. De fait, le GABA et la dynorphine libérés à partir des dendrites (régulation tétrodotoxine-insensible de ces neurones) interviennent dans ces régulations inhibitrices dans les deux compartiments.

De plus, dans les striosomes, des régulations inhibitrices supplémentaires sensibles à la tétródotoxine faisant intervenir le GABA et vraisemblablement l'enképhaline ont pu être démontrées. Enfin, ces régulations inhibitrices médiées par le GABA et les peptides opiacés ne sont additives que dans la matrice suggérant que dans ce compartiment ces médiateurs proviennent de deux populations neuronales distinctes en accord avec des données précédemment obtenues chez le chat.

Les neurones GABAergiques striataux riches en substance P et dynorphine et ceux contenant de la neurokinine B et de l'enképhaline possèdent respectivement des récepteurs D1 et D2. Afin de déterminer si la DA intervient indirectement par l'intermédiaire de circuits locaux dans la régulation de sa libération en agissant sur ces récepteurs, l'effet du NMDA a été analysé en présence des antagonistes DA de type D1 ou D2, le SCH 23390 et le sulpiride respectivement.

Le SCH 23390 (0.1 μ M) et le sulpiride (1 ou 10 μ M) potentialisent l'effet du NMDA sur la libération de DA dans les deux compartiments striataux par des mécanismes tétródotoxine-sensibles. L'effet provoqué par le sulpiride est totalement antagonisé par le quinpirole (20 μ M ; agoniste des récepteurs DA D2) dans la matrice mais que partiellement dans les striosomes. En dehors de l'intervention des autorécepteurs D2, ces résultats indiquent que la DA libérée sous l'effet du NMDA contrôle sa propre régulation par des circuits locaux inhibiteurs en agissant sur des récepteurs D1 et D2 dans les deux compartiments striataux.

5. SYSTÈMES DOPAMINERGIQUES MÉSOCORTICAUX ET MÉSOLIMBIQUES

5.1. ÉTUDES BIOCHIMIQUES ET COMPORTEMENTALES (Responsable de l'équipe : Jean-Pol Tassin)

5.1.1. *Études des interactions noradrénaline/dopamine dans le cortex préfrontal du rat*

Des études antérieures, tant biochimiques que comportementales, nous avaient indiqué la présence d'une interaction entre l'effet de la stimulation des récepteurs dopaminergiques de type D1 et celle des récepteurs α 1-adrénergiques du cortex préfrontal du rat. L'utilisation de cultures primaires de neurones embryonnaires de rat a permis d'aborder les mécanismes biochimiques intracellulaires qui interviennent dans la sensibilité des récepteurs D1. Un traitement prolongé (20 minutes) des neurones avec de la dopamine (DA : $5 \cdot 10^{-5}$ M) entraîne une désensibilisation de la réponse de type D1. La resensi-

bilisation de cette réponse après élimination de la DA est accélérée par la stimulation des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques par de la méthoxamine. Cet effet est reproduit par le phorbol 12-myristate 13-acétate (PMA) et bloqué par l'inactivation de la protéine kinase C obtenue par la staurosporine. Sur des neurones dont les protéine kinases C ont été désensibilisées par un traitement prolongé par le PMA, la stimulation des récepteurs $\alpha 1$ n'accélère plus la resensibilisation des récepteurs D1. Ces résultats montrent le rôle de l'activation d'une protéine kinase C dans l'effet permissif de la stimulation des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques.

Une étude identique, réalisée sur des neurones de striatum en culture, montre que la resensibilisation des récepteurs D1 striataux n'est pas modifiée par la stimulation des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques. En revanche, des résultats préliminaires indiquent que la stimulation de récepteurs glutamatergiques pourrait être impliquée dans la régulation des récepteurs D1 au sein de cette structure. Ce dernier résultat est à rapprocher de la présence d'une hétérorégulation des récepteurs D1 striataux par les fibres glutamatergiques mise en évidence précédemment. (F. Trovero, P. Marin).

5.1.2. *Présence d'un sous-type de récepteur DA particulier dans le cortex préfrontal du rat*

Nous avons cherché à caractériser plus précisément le récepteur DA à haute affinité pour le sulpiride que nous avons mis en évidence dans le cortex préfrontal. L'analyse informatique des courbes de déplacement que nous avons obtenues nous a indiqué que ce site représentait jusqu'à 48 % des sites marqués par l'iodosulpride dans le cortex préfrontal, les sites D4 et D2 représentant respectivement 28 % et 9 %. En présence de 45 nM de clozapine, le site à haute affinité pour le sulpiride n'est pas déplacé, ce qui indique clairement que ce site est différent du récepteur D4 décrit par Van Tol et al. Enfin, le fait que les dérivés des benzamides RIV 2093 et LUR 2366 déplacent ce site avec de bonnes affinités (2,5 nM et 1 nM respectivement) suggère que le récepteur que nous avons mis en évidence dans le cortex préfrontal est identique à celui décrit précédemment dans le striatum par Sokoloff et al. Ce récepteur n'est pas encore répertorié car il n'a pas été cloné. (J. Mantz, D. Hervé, F. Trovero, J.P. Tassin).

5.1.3. *Essai de caractérisation des cellules corticales portant les récepteurs D1, D2 et $\alpha 1$ -adrénergiques*

Afin de pouvoir mieux comprendre l'influence des neurones dopaminergiques méso-corticaux sur l'activité des efférences cortico-sous-corticales, nous avons essayé de déterminer quels étaient les neurones corticaux portant les récepteurs DA. Pour ce faire, nous avons injecté une neurotoxine, la volkensine, bilatéralement dans le striatum. Cette neurotoxine emprunte le flux

rétrograde et détruit donc les neurones corticaux envoyant des projections dans le striatum. Après vérification histologique de la disparition quasi-totale des cellules pyramidales du cortex préfrontal, nous n'avons constaté qu'une baisse de 17 % des récepteurs D1 et des effets non significatifs sur les récepteurs α_1 -adrénergiques et les sites à neurotensine. De façon inattendue, la densité des récepteurs de « type D2 » (cf. 5.1.2) était presque doublée. Ces résultats préliminaires indiquent que la majorité des récepteurs analysés est portée par des cellules intra-corticales ou n'envoyant pas de projection vers le striatum (S. Pirot, J.P. Tassin).

5.1.4. Conséquences comportementales à long terme d'un blocage aigu des récepteurs D1 corticaux.

Nous avons montré précédemment que le blocage des récepteurs D1 corticaux par l'injection de SCH 23390 in situ augmentait l'hyperactivité locomotrice obtenue par une injection d'amphétamine dans une structure sous-corticale, le noyau accumbens. Nous montrons maintenant que 48 heures après l'administration corticale de SCH 23390, les animaux sont devenus hypo-réactifs à l'injection d'amphétamine dans le noyau accumbens. Ce phénomène semble dû à une baisse de la réactivité des neurones DA méso-limbiques puisque la sensibilité des récepteurs post-synaptiques D1 du noyau accumbens (mesurée par l'activité adénylate cyclase sensible à la DA ou l'administration d'un agoniste D1, le SK & F 38393) est augmentée 48 heures après l'injection de SCH 23390 dans le cortex préfrontal. Cet effet retardé du blocage des récepteurs D1 corticaux sur la transmission DA sous-corticale pourrait s'expliquer par une action d'hétérorégulation des fibres cortico-sous-corticales sur les récepteurs D1 sous-corticaux (P. Vézina, J.P. Tassin).

5.1.5. Etude de la protéine Golf du striatum

Nous avons montré précédemment que les neurones striataux possédant les récepteurs D1 contiennent des quantités élevées de la sous-unité α de Golf (Golf α) et des quantités faibles sinon nulles de la sous-unité de Gs (Gs α). Cela nous avait permis de suggérer fortement que Golf assure le couplage des récepteurs D1 avec l'adénylcyclase dans les neurones striataux. La présence de Golf α a été détectée dans le striatum chez tous les animaux testés (rat, souris, cobaye, lapin, chat, singe). Cela montre que l'expression de Golf dans le striatum n'est pas une simple particularité du rat.

A l'aide d'une sonde d'ADN complémentaire, quatre transcrits de Golf α de longueurs différentes ont pu être observés dans le striatum du rat. L'étude d'une banque d'ADN complémentaires générés à partir d'ARN de striatum, montre cependant que malgré leur diversité ces transcrits n'engendrent qu'une seule protéine et ne diffèrent en fait que par leurs régions non codantes. Des régions 5' non codantes de différentes longueurs sont le résultat

de l'épissage alternatif d'un exon alors qu'au moins 3 sites différents de polyadénylation expliqueraient la variabilité de la région 3' non codante. Le rôle de ces parties non codantes, par exemple dans la traduction ou la stabilité des transcripts ainsi que leurs apparitions au cours du développement du striatum restent à déterminer. (D. Hervé, M. Lévi-Strauss).

5.1.6. *Étude de l'activité des neurones DA méso-corticaux pendant les phases de sommeil paradoxal*

Des travaux électrophysiologiques ont montré que les neurones noradrénergiques (NA) et sérotoninergiques interrompaient leur activité pendant les phases de sommeil paradoxal. L'enregistrement des neurones DA de l'aire tegmentale ventrale ne montre pas de variations d'activité liées aux changements d'état. En collaboration avec le groupe du Dr S. Nicolaïdis (M. Orosco, Z. de S^l Hilaire, C. Rouch), nous avons étudié par microdialyse les variations de libération de NA et DA dans le cortex préfrontal du rat au cours du sommeil. Nos premiers résultats montrent des baisses parallèles de 30 à 40 % des libérations de NA et DA au cours du sommeil paradoxal. Ces données suggèrent que les neurones DA méso-corticaux, contrairement aux neurones DA méso-limbiques et méso-striataux, interrompent leur activité au cours du sommeil paradoxal (G. Blanc, J.P. Tassin).

5.2. ÉTUDES ÉLECTROPHYSIOLOGIQUES ET ANATOMIQUES (Responsable de l'équipe : Anne-Marie Thierry)

5.2.1. *Identification du neuromédiateur de la voie noyau médiodorsal du thalamus-cortex préfrontal*

Le cortex préfrontal (CPF) est classiquement défini comme la région corticale en relation réciproque avec le noyau médiodorsal du thalamus (MD). Dans une étude précédente, nous avons mis en évidence que la stimulation électrique du MD induit une réponse excitatrice sur les neurones du CPF. Cet effet peut être dû non seulement à l'activation des neurones du MD qui innervent le CPF mais également à l'activation des collatérales récurrentes des fibres corticales qui projettent sur le thalamus. Afin de caractériser plus spécifiquement les réponses induites par l'activation de la voie MD-CPF et déterminer le neuromédiateur de cette voie, une double approche neuroanatomique et électrophysiologique a été utilisée chez le rat anesthésié avec un mélange air-fluothane.

Certaines voies thalamo-corticales contiennent un acide aminé excitateur comme neuromédiateur. Afin de vérifier cette hypothèse dans le cas de la voie MD-CPF, la méthode de marquage par transport rétrograde de D-³H aspartate a été utilisée. Après injection de D-³H aspartate dans le CPF

médian, de nombreux corps cellulaires marqués sont observés au niveau du MD, suggérant que le neuromédiateur de la voie MD-CPF est un acide aminé excitateur. Par ailleurs, l'injection locale de glutamate au niveau du MD, qui stimule l'activité des corps cellulaires sans affecter les fibres qui innervent cette structure, induit une activation des cellules enregistrées au niveau du CPF, confirmant que la voie MD-CPF est excitatrice.

Une analyse pharmacologique a été ensuite entreprise, afin de déterminer le type de récepteur impliqué dans les réponses excitatrices induites par la stimulation du MD. Dans un premier temps, les réponses excitatrices évoquées par l'activation de la voie MD-CPF ont pu être différenciées de celles induites par l'activation des collatérales récurrentes des efférences corticales, en déterminant le temps de conduction de ces deux voies à l'aide de la méthode d'activation antidromique. Le temps de conduction de la projection MD-CPF étant compris entre 1,4 et 11 ms ($m = 4,8 \pm 0,3$ ms) et celui de la projection CPF-MD entre 4 à 24 ms ($m = 9,5 \pm 0,3$ ms), les réponses excitatrices ayant une latence inférieure à 4 ms sont très vraisemblablement dues à l'activation de la voie MD-CPF. Ces réponses à courte latence sont principalement enregistrées au niveau de la couche III du CPF, couche où sont localisées les afférences du MD, alors que les réponses excitatrices à latence plus longue sont observées au niveau des différentes couches du CPF. Les effets de l'application iontophorétique d'antagonistes des deux principaux sous-types de récepteurs du glutamate (récepteurs AMPA et NMDA) ont été analysés sur les réponses excitatrices à courte latence induites par la stimulation du MD. Ces réponses sont bloquées dans 88 % des cas par l'application de CNQX, un antagoniste des récepteurs AMPA et seulement dans 5 % des cas par l'APV, un antagoniste des récepteurs NMDA.

Ces données montrent que le neuromédiateur de la voie MD-CPF est vraisemblablement le glutamate et que les réponses excitatrices induites par l'activation de cette voie sont principalement médiées par des récepteurs AMPA (S. Pirot, T. Jay).

5.2.2. *Étude anatomo-fonctionnelle du système noyau accumbens-substance noire-thalamus*

Le noyau accumbens est l'une des composantes majeures du striatum ventral et correspond à l'une des principales cibles striatales du cortex préfrontal (CPF). Le noyau accumbens n'innervent pas de façon directe le CPF mais utilise les systèmes efférents des ganglions de la base. Ce système comprend le pallidum ventral et sa projection sur le noyau mediodorsal du thalamus qui lui-même innervent le cortex préfrontal. Récemment, une projection du noyau accumbens sur la région dorsale de la substance noire médiane a également été décrite et il a été proposé que, via cette efférence sur la pars reticulata de la substance noire, le noyau accumbens pourrait jouer un rôle

d'interface entre le système limbique et le système moteur extrapyramidal. Notre étude a consisté à identifier les cibles thalamiques des neurones de la substance noire qui reçoivent une influence du noyau accumbens à l'aide d'une approche neuroanatomique et électrophysiologique.

La méthode neuroanatomique utilisant le transport antérograde et rétrograde de WGA-HRP a permis de mettre en évidence que la région dorso-médiane de la substance noire reçoit une importante innervation des neurones du noyau accumbens localisés principalement dans le « core » et projette sur la région médio-ventrale du noyau médiodorsal du thalamus (MD) ainsi que sur la partie antéro-médiane du noyau ventromédian du thalamus (VM).

L'influence du noyau accumbens sur l'activité des neurones de la région dorso-médiane de la substance noire qui projettent au MD ou au VM a été analysée chez le rat anesthésié avec de la kétamine. Les cellules de la pars reticulata de la substance noire projetant au MD ou au VM ont été identifiées sur la base de leur activation antidromique évoquée à partir de ces noyaux thalamiques. La stimulation (1HZ) du noyau accumbens induit une inhibition de l'activité spontanée de la majorité des neurones de la pars reticulata projetant au MD ou au VM. Les réponses inhibitrices observées sur les neurones nigro-MD et nigro-VM ont respectivement une durée moyenne de $23,7 \pm 1,6$ ms et de $20,4 \pm 1,6$ ms et une latence moyenne de $17,9 \pm 0,7$ ms et de $18,1 \pm 1,1$ ms. Cet effet inhibiteur est vraisemblablement direct, en effet la latence moyenne des réponses inhibitrices est en accord avec le temps de conduction de la voie noyau accumbens-substance noire ($16,5 \pm 0,3$ ms).

En conclusion, ces données montrent que non seulement le pallidum ventral mais également la pars reticulata de la substance noire participent au système reliant le noyau accumbens au MD. D'autre part, cette étude a permis de mettre en évidence une relation indirecte via la substance noire entre le noyau accumbens et le VM. Le MD ainsi que la région antéro-médiane du VM innervent le cortex préfrontal, suggérant que le noyau accumbens, par ses projections sur les neurones nigro-thalamiques, a la possibilité de moduler l'activité du CPF. Cette étude a été réalisée en collaboration avec J.M. Deniau (Université Paris VI).

PUBLICATIONS

MANTZ J., CHERAMY A., THIERRY A.M., GLOWINSKI J., & DESMONTS J.M., *Anesthetic properties of Riluzole (54274 RP), a new inhibitor of glutamate neurotransmission.* (Anesthesiology's, 76, 844-848, 1992).

TROVERO F., HERVE D., BLANC G., GLOWINSKI G. & TASSIN J.P., *In vivo partial inactivation of dopamine D1-receptors induces hypersensitivity of cortical*

dopamine-sensitive adenylate cyclase : permissive role of $\alpha 1$ -adrenergic receptors. (J. Neurochem., 59, n° 1, 331-337, 1992).

PIROT S., GODBOUT R., MANTZ J., TASSIN J.P., GLOWINSKI J. & THIERRY A.M., *Inhibitory effects of ventral tegmental area stimulation on the activity of prefrontal cortical neurons : evidence for the involvement of both dopaminergic and GABAergic components.* (Neuroscience, 49, n° 4, 857-865, 1992).

THERY C., STANLEY E.R. & MALLAT M., *Interleukin 1 and tumor necrosis factor- α stimulate the production of colony-stimulating factor 1 by murine astrocytes.* (J. Neurochem., 59, n° 3, 1183-1186, 1992).

GIAUME C., CORDIER J. & GLOWINSKI J., *Endothelins inhibit junctional permeability in cultured mouse astrocytes.* (Eur. J. Neurosci., 4, 877-881, 1992).

CHASSAING G., LAVIELLE S., BRUNISSEN A., CARRUETTE A., GARRET C., PETITET F., SAFFROY M., BEAUJOUAN J.C., TORRENS Y. & GLOWINSKI J., *(PRO9)SP and (pGLU6, PRO9)SP(6-11) interact with two different receptors in the guinea-pig ileum as demonstrated with new SP antagonists.* (Neuropeptides, 23, 73-79, 1992).

KEMEL M.L., DESBAN M., GLOWINSKI J. & GAUCHY C., *Functional heterogeneity of the matrix compartment in the cat caudate nucleus as demonstrated by the cholinergic presynaptic regulation of dopamine release.* (Neuroscience, 50, n° 3, 597-610, 1992).

GALLI T., DESCE J.M., ARTAUD F., KEMEL M.L., CHERAMY A. & GLOWINSKI J., *Modulation of GABA release by α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate and N-methyl-D-aspartate receptors in matrix enriched areas of the rat striatum.* (Neuroscience, 50, n° 4, 769-780, 1992).

TENCE M., CORDIER J., GLOWINSKI J. & PREMONT J., *Endothelin-evoked release of arachidonic acid from mouse astrocytes in primary culture.* (Eur. J. Neurosci., 4, 993-999, 1992).

DOYLE V., LE GOUVELLO S., DOBRANSKY T., CHNEIWEISS H., BERETTA L. & SOBEL A., *Expression of transfected stathmin cDNA reveals novel phosphorylated forms associated with developmental and functional cell regulation.* (J. Biochem., 287, 549-554, 1992).

CHERAMY A., BARBEITO L., GODEHEU G. & GLOWINSKI J., *Riluzole inhibits the release of glutamate in the caudate nucleus of the cat in vivo.* (Neurosci. Lett., 147, 209-212, 1992).

TREMBLAY L., KEMEL M.L., DESBAN M., GAUCHY C. & GLOWINSKI J., *Distinct presynaptic control of dopamine release in striosomal- and matrix-enriched areas of the rat striatum by selective agonists of NK1, NK2 and NK3 tachykinin receptors.* (Proc. Natl. Acad. Sci., 89, 11214-11218, 1992).

JAY J., THIERRY A.M., WIKLUND L. & GLOWINSKI J., *Excitatory amino*

acid pathway from the hippocampus to the prefrontal cortex. Contribution of AMPA receptors in hippocampo-prefrontal cortex transmission. (Eur. J. Neurosci., 4, 1285-1295, 1992).

BEAUJOUAN J.C., HEUILLET E., PETTITET F., SAFFROY M., TORRENS Y. & GLOWINSKI J., *Higher potency of RP 67580 in the mouse and the rat compared with other nonpeptide and peptide tachykinin NK1 antagonists.* (Br. J. Pharmacol., 108, 793-800, 1993).

THERY C. & MALLAT M., *Influence of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha on the growth of microglial cells in primary cultures of mouse cerebral cortex : involvement of colony-stimulating factor 1.* (Neurosci. Lett., 150, 195-199, 1993).

MAUS M., VERNIER P., VALDENNAIRE O., HOMBURGER J., BOCKAERT J., GLOWINSKI J. & MALLET J., *D2-Dopaminergic agonist quinpirole and 8-bromo-cAMP have opposite effects on Goa GTP-binding protein mRNA without changing D2 dopamine receptor mRNA levels in striatal neurones in primary culture.* (J. Receptor Research, 13 (1-4), 313-328, 1993).

ARAUJO H., DANZIGER N., CORDIER J., GLOWINSKI J. & CHNEIWEISS H., *Characterization of PEA-15, a major substrate for protein kinase C in astrocytes.* The J. Biological Chemistry, 268 n° 8, 5911-5920 (1993).

Différents chercheurs ont présenté leurs travaux dans les congrès suivants :

GALLI T., ARTAUD F., CHERAMY A., GLOWINSKI J., *Glutamatergic modulation of GABA release in striosomes and matrix-enriched areas of the rat striatum.* XVIIth CINP Congress, Nice, 28/06-02/07/82.

PETTITET F., BEAUJOUAN J.C., SAFFROY M., TORRENS Y., LAVIELLE S., CHASSAING G., GLOWINSKI J., *Evidence for a new type of tachykinin receptors in the guinea-pig ileum.* ESN, 9th meeting, Dublin, 16-21/08/92.

GIAUME C., CORDIER J., GLOWINSKI J., *Intercellular communication between cultured astrocytes is inhibited by endothelins.* « Cellular Networks », Lithuanie, 29/08-02/09/92.

DESBAN M., TROVERO F., KEMEL M.L., GAUCHY C., KREBS M.O., GLOWINSKI J., *Spatial organization of the striosome and matrix compartments in the rat neostriatum.* 15th Annual Meeting ENA, München, 13-17/09/92.

GALLI T., ARTAUD F., KEMEL M.L., CHERAMY A., GLOWINSKI J., *Modulation of GABA release by AMPA and NMDA receptors in striosomes and matrix-enriched areas of the rat striatum.* 15th Annual Meeting ENA, München, 13-17/09/92.

JAY J., THIERRY A.M., WIKLUND L., GLOWINSKI J., *Evidence for a new excitatory amino acid pathway from the hippocampus to the prefrontal cortex in the rat. Involvement of AMPA receptors in the transmission.* Synapses and Receptors, A molecular perspective, Fidia Research Foundation, Cambridge, 8-10/09/92.

GLOWINSKI J., GAUCHY C., KREBS M.O., TREMBLAY L., GALLI T., KEMEL M.L., *Inhibitory and facilitatory local circuits involved in the control of dopamine release in striatal compartments of the rat.* IV International Basal Ganglia Society Meeting, Giens, 06-09/10/92.

GAUCHY C., KEMEL M.L., DESBAN M., GLOWINSKI J. (Poster), *Functional heterogeneity of the matrix compartment in the cat caudate nucleus : presynaptic control of dopamine release by ACh.* IV International Basal Ganglia Society Meeting, Giens, 06-09/10/92.

TASSIN J.P., *Hétérorégulation des récepteurs aux catéchalamines.* Conférence Jacques Cartier, Montréal, Canada, 08/10/92.

GODBOUT R., PIROT S., MANTZ J., GLOWINSKI J., THIERRY A.M., *Involve-ment of a GABAergic component in the inhibitory effect induced by ventral tegmental area stimulation on the prefrontal cortex.* 1992 Annual Meeting Society for Neuroscience, Anaheim, Calif.(USA) 25-30/10/92.

TASSIN J.P., VEZINA P., JAY T., GLOWINSKI J., HERVE D., *Destruction of mesolimbic dopamine neurons by intra-VTA injections of 6-OHDA does not block the locomotor activating effects of nicotine.* 1992 Annual Meeting Society for Neuroscience, Anaheim, Calif.(USA) 25-30/10/92.

GLOWINSKI J., KEMEL M.L., DESBAN M., GAUCHY C., LAVIELLE S., CHASSAING G., BEAUJOUAN J.C., TREMBLAY L., *Distinct presynaptic control of dopamine release in striosomal- and matrix-enriched areas of the rat striatum by selective agonists of NK1, NK2 and NK3 tachykinin receptors.* Int. Symposium on Substance P and Related Peptides, Shizuoka, Japon, 03-06/11/92.

THIERRY A.M., GLOWINSKI J., GOLDMAN-RAKIC P., CHRISTEN Y., Co-organisateurs du Colloque de la Fondation IPSEN : Fonctions Motrices et cognitives du cortex préfrontal, Paris, 23/11/92.

THIERRY A.M., *Influence of afferent systems on the activity of the rat prefrontal cortex : electrophysiological and pharmacological characterization.* Motor and cognitive functions of the prefrontal cortex, Paris, 23/11/92.

DENIAU J.M., THIERRY A.M. (Poster), *The substantia nigra pars reticulata as an interface between the nucleus accumbens and the mediodorsal nucleus of the thalamus.* Motor and cognitive functions of the prefrontal cortex, Paris, 23/11/92.

GIAUME C., *Noradrenergic control of gap junction permeability in cultured striatal astrocytes.* Int. Symposium on Noradrenergic mechanisms in Parkinson's disease, Castres, 03-04/12/92.

THIERRY A.M., *Influence of efferent systems on the neuronal activity in the rat prefrontal cortex.* Congrès franco-mexicain de Neurobiologie, Mexico, Mexique, 06-13/02/93.

TASSIN J.P., *Hypothèses neurobiologiques sur le mode d'action des antidépresseurs.* Congrès de Psychiatrie Française, Pointe-à-Pitre, 25-28/04/93.

MALLAT M., CHAMAK B. *Interaction between brain macrophages and neurons*. Table ronde Neurodegenerative diseases, Annecy, France, 13-14/05/93.

LISTE DES DIPLÔMÉS - 1992-1993

GALLI Thierry :

N-Acetyl-aspartyl-glutamate et ganglions de la base : -Localisation régionale ; - Effets sur la libération de dopamine et de GABA : comparaison avec les agonistes glutamatergiques.

Thèse de Doctorat de l'Université de Paris VI, soutenue le 13 octobre 1992.

PETITET François :

Caractéristiques biochimiques et pharmacologiques du récepteur de la substance P.

Thèse de Doctorat de l'Université de Paris V, soutenue le 13 novembre 1992.

MARIN Philippe :

Rôle du glutamate dans les interactions neurone-glie.

Thèse de Doctorat de l'Université de Paris VI, soutenue le 27 novembre 1992.

KREBS Marie-Odile :

Hétérogénéité de la régulation glutamatergique de la libération de dopamine dans les compartiments striosomal et matriciel du striatum de rat.

Thèse de Doctorat de l'Université de Paris VI, soutenue le 8 décembre 1992.

DESCE Jean Marie :

Étude de la régulation présynaptique directe de la synthèse et de la libération de dopamine à partir de synaptosomes de striatum de rat.

Thèse de Doctorat de l'Université de Paris 6, soutenue le 27 avril 1993.

DANZIGER Nicolas (sous la direction de H. Chneiweiss) :

Approche immunologique de la protéine PEA-15, phosphoprotéine sélectivement enrichie dans les astrocytes du système nerveux central.

DEA de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, Option Neurobiologie, Univ. P. M. Curie, Paris VI, septembre 1992.

SABERAN-DJONEIDI Delara (sous la direction de M. Lévi-Strauss) :

Caractérisation d'une nouvelle famille de protéines du système nerveux central.

DEA de Génétique Humaine, Univ. Paris VII, Septembre 1992.

DOBBERTIN Alexandre (sous la direction de M. Mallat) :

Influence des neurones centraux sur la croissance et la différenciation d'un précurseur macrophagique.

DEA de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, Option Neurobiologie, Univ. P.M. Curie, Paris VI, septembre 1992.

MENEGOZ Mathias (sous la direction de J.A. Girault) :

Caractérisation et purification de PP180, une protéine neuronale phosphorylée sur des tyrosines.

DEA de Pharmacochimie moléculaire, pharmacologie expérimentale et métabolisme, Univ. R. Descartes, Paris V, Septembre 1992.

VENANCE Laurent (sous la direction de C. Giaume) :

Propriétés de couplage par l'intermédiaire des jonctions communicantes entre progéniteurs gliaux O-2A et entre oligodendrocytes en culture.

DEA de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, Option Neurobiologie, Univ. P.M. Curie, Paris VI, septembre 1992.