

Neuropharmacologie

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

Le cours de cette année n'a pas eu lieu.

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE NEUROPHARMACOLOGIE
(INSERM U.114)

1. RÉGULATION DES SYSTÈMES DE TRANSDUCTION ASSOCIÉS À CERTAINS RÉCEPTEURS MEMBRANAIRES

1.1. ANALYSE DES MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS LA SURVIE NEURONALE
(Responsable de l'équipe : Joël Prémont)

1.1.1. *Effets du zinc sur la survie neuronale*

Le zinc est présent dans l'ensemble du système nerveux central, les concentrations les plus élevées étant rencontrées dans le cortex cérébral et l'hippocampe. Dans ces structures, le zinc est co-localisé avec le glutamate dans les vésicules synaptiques d'une sous-population de terminaisons glutamatergiques. Il est libéré avec le glutamate selon un mécanisme dépendant du calcium externe. Des données récentes indiquent que le zinc libéré avec le glutamate lors d'un épisode ischémique serait responsable de la mort neuronale. En effet, une corrélation étroite existe entre la localisation synaptique du zinc et les sites de destruction neuronaux intervenant au niveau de ces sous-populations de terminaisons glutamatergiques.

Nous nous sommes fixés pour objectif d'étudier les voies et les cinétiques d'entrée du zinc dans les neurones corticaux, sa distribution subcellulaire et le type de mort neuronale qu'il provoque. A cette fin, des sondes fluorescentes liant spécifiquement le zinc et ayant une localisation cytosolique (BTC-5N) ou mem-

branaire (TSQ) ont été utilisées. Nous avons constaté que le zinc extracellulaire ($ZnCl_2$) pénètre dans les neurones par des voies différentes des canaux AMPA, NMDA et des canaux calciques voltage-dépendants. Cependant, l'AMPA favorise l'influx de faibles concentrations (μM) de zinc. L'influx de zinc n'a pu être détecté qu'à l'aide du TSQ dont la localisation subcellulaire, du fait de sa nature (quinone), est strictement membranaire. La forme des organites intracellulaires fluorescents en présence de zinc et leur capacité à se fragmenter en présence d'illimaquinone (substance décrite pour induire la vésiculation de l'appareil de Golgi) suggèrent une localisation au moins partielle du zinc sur cet organite. Nous n'avons jamais pu mettre en évidence d'augmentation de la concentration de zinc libre ionisé dans le cytosol à l'aide du BTC-5N ou d'autres sondes moins spécifiques mais partageant la même localisation cytosolique. Enfin, nous avons constaté que le zinc pénétrait en quelques secondes dans les neurones. Cependant, en raison de sa liaison probablement élevée aux membranes, l'extrusion de zinc (effectuée en l'absence de zinc externe) s'est révélée particulièrement lente puisqu'elle est pratiquement indétectable après une heure.

L'application de zinc sur des neurones de cortex cérébral pendant 30 minutes provoque 24 heures plus tard une mort neuronale d'autant plus importante que la concentration de zinc est élevée (10-1000 μM). Une mort neuronale par nécrose est observée avec toutes les concentrations de zinc testées alors qu'une mort par apoptose apparaît uniquement pour des concentrations de zinc inférieures à 100 μM . Des antagonistes des récepteurs NMDA (APV et MK801) protègent partiellement de l'action neurotoxique du zinc. Celui-ci pourrait donc exercer ses effets en favorisant une libération de glutamate qui, selon un processus autocrine, conduirait à l'activation des récepteurs NMDA. De fait, nous avons pu mettre en évidence une augmentation de la concentration de glutamate extracellulaire à la suite d'une exposition des neurones corticaux au zinc. De plus, comme le glutamate, le zinc diminue les taux intracellulaires d'ATP (Philippe Marin).

1.1.2. Poursuite de l'étude des effets de l'eau oxygénée sur la survie des neurones corticaux

Nous avons préalablement montré que les neurones striataux et corticaux étaient beaucoup plus sensibles aux effets toxiques de l'eau oxygénée que les astrocytes. Cette fragilité pourrait être liée à la présence d'une activité hydrogène peroxydase globale plus faible dans les neurones et en particulier à un déficit en catalase. Les effets neuroprotecteurs des astrocytes paraissent devoir être attribués à leur forte capacité à éliminer l'eau oxygénée grâce à leur activité catalase. La recapture de glutamate par ces cellules pourrait également être impliquée dans l'amélioration de la survie neuronale qu'elles confèrent. En effet, nous avons découvert que la toxicité de l'eau oxygénée est fortement atténuée par la présence de deux inhibiteurs des récepteurs NMDA, l'APV et le MK801 durant la période qui suit le retrait de l'oxydant. Un tel effet neuroprotecteur retardé des antagonistes NMDA rappelle des observations effectuées lors d'une exposition des

neurones au glutamate. De plus, comme les agonistes NMDA, l'eau oxygénée induit une libération retardée de glutamate. L'implication d'une activation secondaire des récepteurs NMDA dans l'effet toxique de cet oxydant est également confortée par le fait que l'absence de magnésium accroît son effet et que les taux intracellulaires d'ATP sont diminués d'une manière similaire à ce qui est observé lors d'une exposition des neurones au NMDA. Cependant, de nombreux problèmes restent non résolus. En particulier, la toxicité de l'eau oxygénée ne nécessite pas de calcium ou de sodium extracellulaire et est insensible aux agonistes ou antagonistes des sites glycine du récepteur NMDA. Ces dernières observations nous incitent à rechercher un système de transduction associé au récepteur NMDA mais indépendant de la régulation de ses perméabilités ioniques (Franck Mailly).

1.1.3. *Effet neuroprotecteur du pyruvate sur la neurotoxicité induite par les agonistes NMDA*

Nous avons démontré que le pyruvate et les α -cétoacides exercent un puissant effet neuroprotecteur vis-à-vis de l'eau oxygénée. Cette famille de substances a en effet la capacité de réagir selon un mécanisme non enzymatique avec le peroxyde d'hydrogène pour produire du CO₂ et un acide carboxylique (C_{n-1}). Nous venons de montrer que la neurotoxicité induite par le NMDA est aggravée par l'absence de glucose mais diminuée en présence de pyruvate, de lactate ou d' α -cétoglutarate. Les effets bénéfiques du lactate et du pyruvate résultent probablement d'une augmentation de la synthèse d'ATP (altérée par l'exposition des neurones au NMDA), et d'une diminution de la libération retardée de glutamate qui pour l'essentiel est responsable de la toxicité du NMDA. Enfin, l' α -cétoglutarate protège de la neurotoxicité évoquée par le NMDA en exerçant un effet antagoniste de nature non compétitive sur ce récepteur glutamatergique (Marion Maus-Moatti).

1.1.4. *Neurotoxicité et recrutement des monocytes/macrophages dans le SNC*

Précédemment, nous avons montré dans un modèle de lésion du striatum chez le rat adulte, que l'induction d'une mort neuronale importante est associée à la production de chimiokines et de cytokines par les cellules gliales réactives. Ainsi, l'établissement d'un gradient protéique de ces facteurs chimioattractants constituerait la base du mécanisme d'infiltration du parenchyme cérébral par des monocytes/macrophages, un phénomène intervenant dans notre modèle expérimental, mais aussi dans certaines pathologies neurodégénératives.

Au cours du développement, l'accumulation de macrophages dans le tissu nerveux est associé au processus physiologique de mort neuronale par un mécanisme non encore démontré. Pour vérifier l'hypothèse de l'intervention d'un gradient de chimioattraction, nous avons recherché la présence d'une activité produite par les cellules corticales embryonnaires, exerçant une activité chimio-

attractante sur des monocytes/macrophages. Une telle activité ayant été trouvée, nous avons pu optimiser les conditions de sa production en variant les paramètres de conditionnement des cellules embryonnaires. Ces milieux conditionnés sont analysés par le test de chimioattraction en chambre de Boyden en utilisant comme cellule cible : des macrophages cérébraux de culture, des macrophages collectés après culture de moelle osseuse de rat, ou des clones d'une lignée macrophagique R2. Les premières caractérisations biochimiques du milieu conditionné des cellules mixtes embryonnaires indiquent qu'une partie au moins de l'activité n'est pas de nature lipidique, est précipitable par l'éthanol, et résiste à un traitement acide ou au chauffage à 95 °C pendant 15 min. D'autre part, l'activité semble résister à l'action de la protéinase K et est sensible à la trypsin. L'ensemble de ces résultats suggère que l'activité est de nature peptidique. Par conséquent, l'infiltration des monocytes/macrophages au cours du développement ne serait pas médiée par des facteurs protéiques de type chimiokine ainsi que nous l'avons décrit dans le SNC adulte après lésion (M. Gelman et C-F Calvo).

1.2. ÉTUDE DES INTERACTIONS ASTROCYTAIRES PAR L'INTERMÉDIAIRE DES JONCTIONS COMMUNICANTES

(Responsable de l'équipe : Christian Giaume)

1.2.1. *Étude de la diffusion de traceurs intercellulaires entre des astrocytes enregistrés dans des tranches de striatum*

Le niveau de communication par les jonctions communicantes a été étudié en enregistrant en configuration « cellule entière » des cellules gliales à l'aide d'une pipette de patch-clamp contenant des traceurs intercellulaires de faible poids moléculaire : jaune Lucifer et neurobiotine. Ces cellules ont été distinguées des neurones striataux par leur potentiel de membrane plus négatif, leur résistance d'entrée plus faible et l'absence de potentiel d'action en réponse à une dépolarisation. L'utilisation de neurobiotine a également permis de caractériser la morphologie de la cellule enregistrée : taille du corps cellulaire, nombre et longueur de ses prolongements ainsi que leur orientation.

Deux types de cellules gliales ont pu être distingués : 1) Des cellules possédant des prolongements parallèles et présentant des courants de « queue » qui s'inactivent lentement à la fin des sauts de potentiel, propriétés caractéristiques des oligodendrocytes et de certains précurseurs gliaux. 2) Des cellules possédant des prolongements de longueur variable (5-140 μ m) distribués dans toutes les directions et n'ayant pas de courants de queue. Parmi ces cellules, deux sous-populations ont pu être distinguées en fonction de leur réponse membranaire à des sauts de potentiel : des cellules dites « complexes » présentant des courants passifs et des courants voltage-dépendants (potassique de type, I_A , I_D , I_{IR}), des cellules « passives » caractérisées par une relation courant/voltage linéaire. Ces deux sous-populations correspondraient à des précurseurs gliaux ou des cellules du lignage astrocytaire.

L'étude de la diffusion de traceurs intercellulaires à partir de la cellule enregistrée vers ses voisines a révélé l'existence d'un couplage diffusionnel dans 61 % et 84 % des expériences effectuées avec du jaune Lucifer et de la neurobotine respectivement. Avec les deux types de marquage, le nombre de cellules couplées est significativement diminué en présence d'halothane (2 mM), un inhibiteur des canaux jonctionnels. L'halothane ne modifie pas les propriétés électrophysiologiques (potentiel de repos, résistance d'entrée, amplitude des courants passifs) des cellules présentant un courant de « queue » mais augmente (128 %) la résistance d'entrée et diminue (59 %) l'amplitude des courants passifs mesurés dans les cellules apparentées au lignage astrocytaire.

Ces données indiquent que les cellules gliales du striatum sont couplées par des jonctions communicantes fonctionnelles et que les propriétés passives des cellules apparentées au lignage astrocytaire résultent en partie de l'existence d'un couplage électrique (Brigitte Hamon).

1.2.2. *Contrôle neuronal de la communication jonctionnelle dans les astrocytes*

Le rôle des neurones sur le couplage diffusionnel entre astrocytes a été étudié à l'aide de plusieurs modèles de cultures pures d'astrocytes et de co-cultures astrocyte-neurones : 1) des cellules ont étéensemencées et cultivées dans un milieu enrichi en sérum afin d'obtenir des « co-cultures ». Dans un lot de ces cultures le milieu a été changé tous les jours pendant cinq jours afin de se débarrasser des neurones et obtenir des cultures enrichies en astrocytes ; 2) des cultures « mixtes » ont été préparées en ajoutant des neurones fraîchement dissociés sur des astrocytes confluents (cultures mixtes N/A) ou en repiquant des astrocytes sur des cultures de neurones (cultures mixtes A/N). Dans ces deux cas, des cultures pures d'astrocytes primaires ou secondaires ont été utilisées comme « contrôle interne ».

Les données obtenues indiquent que la présence de neurones induit une augmentation (40-50 %) du couplage diffusionnel entre les astrocytes. Ces observations ont été réalisées par l'enregistrement d'un astrocyte avec une pipette de patch-clamp contenant du jaune Lucifer (co-cultures) et par la technique du « scrape-loading » (cultures mixtes). Cette augmentation n'est détectée qu'après 6-7 jours de co-culture des neurones sur les astrocytes (cultures mixtes N/A) ou si le repiquage des astrocytes est réalisé sur des neurones âgés de plus de 7 jours (cultures mixtes A/N). L'effet des neurones sur le couplage astrocytaire dépend aussi du nombre de cellules ajoutées sur le tapis d'astrocytes, la densité d'ensemencement devant atteindre plus de 500 000 neurones par boîte d'astrocytes confluents.

Cet accroissement du couplage astrocytaire évoqué par les neurones a été confirmé par l'étude des propriétés de vagues calciques interastrocytaires induites par stimulation mécanique car leur distance de propagation dépend du taux de couplage entre les astrocytes. En présence de neurones, le nombre d'astrocytes

qui répondent par une augmentation de la concentration de calcium interne lors de la stimulation d'un astrocyte est augmenté (20 %) par rapport à ce qui peut être observé dans des cultures d'astrocytes dépourvues de neurones. Enfin, en l'absence de magnésium, l'exposition prolongée de NMDA (0.5 mM, 1 heure) induit une destruction sélective des neurones dans des cultures mixtes N/A. Celle-ci s'accompagne d'une diminution du couplage astrocytaire qui devient identique à celui observé dans des cultures pures d'astrocytes.

En conclusion, les neurones exercent un contrôle positif sur le couplage diffusionnel entre les astrocytes. Cette interaction neurone-astrocyte dépend du nombre et de l'état de différenciation des neurones et disparaît lorsque les neurones sont sélectivement détruits (Nathalie Rouach).

1.3. RÉCEPTEURS DES TACHYKININES ET SYSTÈMES DE SIGNALISATION

(Responsables de l'équipe : J.C. Beaujouan, Y. Torrens et M. Tencé)

1.3.1. *Caractérisation des sites sensibles au septide à l'aide d'un nouveau ligand La [³H]propionyl[Met(O₂)¹¹]substance P(7-11) ([³H]ALIE-124) dans les cellules CHO exprimant le récepteur NK₁ humain et dans les glandes sous-maxillaires de rat*

Ces études ont été poursuivies en étroite collaboration avec S. Lavielle, G. Chassaing et C. Sagan du Laboratoire de Chimie Organique Biologique URA CNRS 493 P. et M. Curie, Paris V.

Dans nos études précédentes, effectuées sur des tissus périphériques (l'iléon de cobaye et la vessie de rat principalement), nous avons identifié l'existence d'un sous-type de récepteur NK1 des tachykinines particulièrement sensible au septide, un analogue d'un fragment C-terminal de la substance P (SP(6-11)). Des études structure-activité nous ont permis de sélectionner une molécule présentant une affinité spécifique pour les sites septide-sensibles qui a été marquée au tritium ([³H]ALIE-124), afin de rechercher des sites de liaison de type « septide » sur des préparations membranaires et cellulaires. En effet, comme les peptides de la famille du septide, l'ALIE-124 stimule l'hydrolyse des phosphoinositides à une concentration nanomolaire, mais ne déplace la [¹²⁵I]BHSP ou la [³H][Pro⁹]SP de leurs sites de liaison (sites NK1 classiques) qu'à des concentrations micromolaires.

La synthèse du peptide ALIE-124 tritié a été obtenue à partir de [Met(O₂)¹¹]substance P(7-11) et de N-succinimidyl-[2,3-³H]propionate (A.S : 95 Ci/mmol). Les études de liaison effectuées sur les cellules CHO transfectées avec le mRNA du récepteur NK1 humain des tachykinines (cellules entières ou membrane) ont permis de révéler l'existence d'une liaison température-dépendante, saturable et réversible, de haute affinité ($K_d = 6.6$ nM) mais de faible capacité ($B_{max} : 750$ fmoles/mg prot.) puisque celle-ci ne représente que 15 % de celle de la [³H][Pro⁹]SP, le ligand du site « classique » du récepteur NK1.

La comparaison des propriétés pharmacologiques des sites [^3H][Pro 9]SP et [^3H]ALIE-124 a permis de montrer que : 1) les agonistes et antagonistes NK1 ont une très bonne affinité pour les deux sites avec une préférence pour les sites [^3H]ALIE-124 alors que les agonistes sélectifs NK $_2$ et NK $_3$ n'ont que peu ou pas d'affinité ; 2) Le septide et l'ALIE-124 possèdent une affinité bien plus élevée pour le site « septide » ([^3H]ALIE-124) que le site NK $_1$ ([^3H][Pro 9]SP) ; 3) Les tachykinines endogènes telles la NKA et la NKB, qui sont quasiment dépourvues d'affinité pour les sites NK $_1$ classiques, présentent des affinités nanomolaires pour le site « septide ». Une excellente corrélation existe entre les valeurs de K_i des différents agonistes étudiés pour les sites spécifiques de liaison [^3H]ALIE-124 et leur valeur d' EC_{50} pour stimuler la production d'inositol phosphates. Par ailleurs, précédemment nous avons montré l'existence d'une bonne corrélation entre les valeurs de K_i de ces molécules pour les sites spécifiques de liaison [^3H][Pro 9]SP et celles de leur EC_{50} pour stimuler la formation de cAMP. La choléra toxine, agent qui découple les protéines G $_s$ des récepteurs, ne modifie pas les valeurs de B_{max} des deux types de sites de liaison identifiés sur ces cellules. Ceci n'est pas en faveur de l'existence de deux conformations actives du récepteur NK $_1$, l'une couplée à des protéines G $_{q/11}$ ([^3H]ALIE-124) et l'autre à des protéines G $_s$ ([^3H][Pro 9]SP).

Des sites de liaison à haute affinité de [^3H]ALIE-124 ont également été mis en évidence sur des membranes de glandes sous-maxillaires de rat. Le rapport des densités des sites [^3H]ALIE-124 et [^3H][Pro 9]SP diffère de un et est supérieur à celui trouvé au niveau des cellules CHO enrichies en récepteurs NK1.

Deux hypothèses peuvent expliquer ces résultats : 1) Le site septide correspondrait à un sous-type de récepteur NK1 c'est-à-dire à une protéine légèrement distincte codée par une forme courte du mRNA du récepteur NK1 qui d'ailleurs a été mise en évidence dans certains tissus périphériques ; 2) selon les tissus, les récepteurs NK1 pourraient exister en proportions variables sous deux conformations moléculaires, l'une reconnaissant préférentiellement le septide (et les molécules apparentées) alors que les agonistes NK1 classiques présenteraient une très bonne affinité pour les deux formes du récepteur (Monique Saffroy, Yvette Torrens et Jean-Claude Beaujouan).

1.3.2. Mécanismes d'action de l'acide lysophosphatidique dans les astrocytes de striatum

L'acide lysophosphatidique (LPA) est un petit phospholipide mitogène décrit comme un nouveau messenger transcellulaire, agissant de façon autocrine/paracrine sur des récepteurs membranaires couplés à des protéines G. Essentiellement synthétisé par les plaquettes sanguines au moment de leur activation, ce phospholipide serait libéré dans le SNC à l'occasion d'un événement traumatique. Selon des données récentes, les neurones, les cellules endothéliales et les astrocytes sont des cibles du LPA. Dans les astrocytes en particulier, le LPA est

capable d'inhiber la capture du glutamate et du glucose, deux fonctions fondamentales pour la viabilité des neurones.

Nous avons poursuivi l'étude du mécanisme d'action du LPA dans les astrocytes de striatum en culture primaire et comparé certains des effets du LPA à ceux de la sphingosine-1-phosphate (S-1-P), un phospholipide naturel qui possède une structure analogue à celle du LPA. La S-1-P présente le même profil d'action que le LPA dans les systèmes périphériques mais son mécanisme d'action n'a pas encore été étudié dans le SNC.

Les astrocytes de striatum sont des cibles pour le LPA et la S-1-P. En effet, ces deux phospholipides activent plusieurs cascades de signalisation. Ils stimulent de façon très marquée l'hydrolyse des phosphoinositides ($EC_{50} = 0.7 \mu M$) et induisent une augmentation importante du calcium intracellulaire résultant d'une libération à partir des stocks intracellulaires (en collaboration avec Joël Prémont). Le LPA et la S-1-P inhibent de façon très marquée la formation d'AMP cyclique ($IC_{50} = 0.3 \mu M$) et stimulent l'activité des MAP kinases ERK-1 et ERK-2 (en collaboration avec Madeleine Toutant et Jean-Antoine Girault). Toutes ces voies de signalisation dépendent partiellement ou totalement d'une protéine G de type Gi/Go. Le LPA stimule également, mais avec une moindre efficacité ($EC_{50} = 5 \mu M$), la libération d'acide arachidonique. Cet effet, qui résulte probablement de l'activation d'une phospholipase A2, ne met pas en jeu une protéine Gi/Go. Enfin, le LPA et la S-1-P activent une phospholipase D qui hydrolyse la phosphatidylcholine en choline et en acide phosphatidique, précurseur du diacylglycerol, l'activateur des protéine kinases C.

Bien qu'activant les mêmes cascades de signalisation, le LPA et la S-1-P ont pourtant des effets très différents sur les astrocytes. Ainsi, nous avons montré que la S-1-P stimule la synthèse d'ADN alors que le LPA, est totalement inefficace, contrairement à ce qui a été observé dans les systèmes périphériques. Le LPA induit de profondes modifications morphologiques alors que la S-1-P n'a apparemment pas d'effet (ou des effets différents, non détectables dans nos conditions expérimentales). Enfin, le LPA induit une inhibition du métabolisme mitochondrial (réduction de l'activité des deshydrogénases) alors que la S-1-P est sans effet.

Associés à ceux de la littérature, nos résultats suggèrent que le LPA joue un rôle clé dans les interactions entre les astrocytes et les neurones. Plus précisément, le LPA, en changeant la forme des astrocytes, modifierait leur interaction avec les neurones. En inhibant la capture du glutamate, le LPA entraînerait une augmentation de la concentration extracellulaire du neurotransmetteur. Enfin, en altérant le métabolisme astrocytaire, le LPA pourrait être responsable d'une diminution de la source d'énergie des neurones. Tous ces effets pourraient contribuer à augmenter la vulnérabilité des neurones dans les conditions pathologiques (Alice Pebay, Yvette Torrens, Jocelyne Cordier, Martine Tencé).

2. ÉTUDE DES PROTÉINES KINASES ET PHOSPHATASES NEURONALES

2.1. MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE LA SIGNALISATION NEURONALE

(Responsable de l'équipe : Jean-Antoine Girault)

2.1.1. Mécanismes de signalisation en aval du récepteur D1 de la dopamine

Nous nous intéressons à la protéine G hétérotrimérique qui couple le récepteur D1 de la dopamine à l'adénylyle cyclase dans le striatum. Nous avons montré il y a plusieurs années, que les neurones striato-nigraux contiennent des quantités importantes de la protéine G α olf mais pas de G α s à un niveau détectable. La concentration de G α olf semble jouer un rôle limitant dans l'activation de la cyclase par les récepteurs D1 et être régulée par leur degré d'utilisation. En effet, elle est augmentée après lésion des neurones dopaminergiques et chez les souris dépourvues de récepteurs D1. Les travaux en cours ont pour but de produire des souris porteuses d'une invalidation conditionnelle du gène de G α olf afin de comprendre le rôle exact de cette protéine dans la neurotransmission dans le striatum.

D'autre part, nous avons poursuivi l'étude d'une protéine inhibitrice de la protéine phosphatase 1 (PP-1), la DARPP-32, en collaboration avec le laboratoire de Paul Greengard (Université Rockefeller, New York). La DARPP-32 est enrichie dans les neurones striataux, où elle est régulée par la dopamine. Les résultats récents montrent un rôle de cette protéine dans la régulation par la dopamine du canal Na⁺ voltage-dépendant (collaboration avec Serge Schiffmann, Université Libre de Bruxelles). D'autre part, une collaboration entre plusieurs laboratoires américains et le nôtre a montré que de nombreuses réponses à la dopamine sont abolies ou atténuées chez les souris mutantes dépourvues de DARPP-32 (produites par Allen Fienberg). En particulier, la régulation de la libération de GABA par la dopamine est altérée (voir les travaux du groupe d'André Chéramy). L'ensemble des résultats montre que la DARPP-32 régule l'efficacité de la transmission dopaminergique (D. Hervé, J.-A. Girault).

2.1.2. Protéines tyrosines kinases activées par les neurotransmetteurs dans le système nerveux

Nous nous intéressons aux voies de signalisation intracellulaires activées par les neurotransmetteurs et faisant intervenir des tyrosines kinases non récepteurs. Deux tyrosines kinases étroitement apparentées sont l'objet d'une attention particulière, la kinase des plaques d'adhérence (FAK, focal adhesion kinase), et PYK2/CAKb. Dans les tranches d'hippocampe la phosphorylation sur tyrosine de FAK et son autophosphorylation sont augmentées en réponse à différents neurotransmetteurs et à des messagers lipidiques tels que l'acide lysophosphatidique, l'acide arachidonique, et l'anandamide, un ligand endogène des récepteurs canabinoïdes CB1. Par contre, PYK2/CAKb est sélectivement activée par la dépo-

larisation. Les travaux en cours cherchent à identifier le mécanisme de ces régulations, leurs cibles et leur localisation cellulaire. D'autre part, nous avons montré l'existence de plusieurs variants d'épissage de FAK dans le système nerveux. Deux exons entourant la tyrosine 397 autophosphorylée sont particulièrement intéressants puisque leur présence augmente considérablement l'autophosphorylation de FAK, étape clé de sa mise en jeu. Nous caractérisons actuellement les propriétés de ces variants d'épissage et le mécanisme d'activation de FAK. D'autres études ont pour but de mettre en évidence les conséquences de l'activation de ces voies de signalisation *in vivo* chez la souris. Pour cela des souris transgéniques exprimant de façon constitutive ou inductible (système tTA, réprimé par les tétracyclines) certaines protéines kinases ont été produites et sont en cours d'analyse (Alicia Costa, Pascal Derkinderen, Michèle Gelman, Marc Le Bert, Jeanne-Marie Studler, Madeleine Toutant).

2.1.3. *La paranodine, une glycoprotéine neuronale enrichie dans la région paranodale des nœuds de Ranvier*

Cette protéine, identifiée dans l'équipe, est très enrichie dans la région paranodale des nœuds de Ranvier du système nerveux central et périphérique. Sa grande région extracellulaire présente des similitudes avec les neurexines et la discoïdine. Son court domaine intracellulaire comporte une région homologue à la glycophorine C, protéine d'ancrage du cytosquelette érythrocytaire à la membrane par l'intermédiaire d'une protéine appelée « bande 4.1 », et une extrémité riche en proline. La localisation particulière de la paranodine, son abondance et ses caractéristiques structurales suggèrent qu'il s'agit d'un composant important des paranodes, pouvant jouer un rôle dans leur structure et les phénomènes de signalisation qui prennent place à leur niveau. Des travaux récents ont montré que la paranodine interagit *in vitro* avec différentes protéines à domaine 4.1, en particulier la 4.1 érythrocytaire, l'eitrine, la radixine, la moesine et la schwannomine (collaboration avec Laurence Gouttebrose, laboratoire de Gilles Thomas). D'autre part le rôle de la paranodine dans la formation et la fonction des régions paranodales est étudiée dans des co-cultures neurones-oligodendrocytes en collaboration avec Bruno Stankoff, Catherine Lubetzki et Boris Zalc. (Pascal Ezan, Marc Le Bert, Wilma Martinez).

2.2. RÔLE DES PHOSPHORYLATIONS ASTROCYTAIRES DANS LES INTERACTIONS NEURO-GLIALES

(Responsable de l'équipe : Hervé Chneiweiss)

Les différents récepteurs pour les neurotransmetteurs, les facteurs de croissance et les cytokines, présents à la surface des astrocytes, agissent sur la cellule via des cascades de réactions intracellulaires. 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 carac-

tériser des phosphoprotéines astrocytaires, en particulier PEA-15 substrat majeur de la protéine kinase C et de la kinase dépendante du calcium et de la calmoduline de type 2 (CaMKII). Ceci nous a incité à : 1) rechercher la fonction de PEA-15 et 2) analyser les effets de phosphorylations induites par un stress cellulaire.

2.2.1. *Fonction(s) de PEA-15*

La séquence de PEA-15 contient dans sa partie N-terminale (acides aminés 1 à 80), un domaine, Death Effector Domain (DED), homologue à celui de deux protéines (FADD/MORT1 et FLICE/MACH/Pro-Caspase-8) impliquées dans la transduction intracellulaire des effets du ligand de Fas et du Tumor Necrosis Factor alpha (TNF alpha), et en particulier de l'induction de la mort cellulaire programmée (apoptose). Les essais d'interactions *in vitro* entre PEA-15, FADD et/ou FLICE seules ou en fusion avec la GST, ont permis de démontrer l'existence possible d'une liaison de PEA-15 et FADD, et de PEA-15 et FLICE, en plus des interactions connues FADD/FADD, et FADD/FLICE. L'implication directe du domaine DED est en cours d'étude : ceci s'effectue par une analyse *in vitro* des interactions des différents domaines DED connus avec celui de PEA-15 en utilisant des domaines DED associés à la GST mais aussi à l'aide de cellules transfectées et en utilisant le système du double hybride chez la levure (Nathalie Choudey, Brigitte Canton, Etienne Formstecher).

La stratégie de double hybride est également utilisée pour rechercher les partenaires spécifiques de PEA-15. Dans ce but, une banque astrocytaire de cDNA insérés dans le vecteur pGADGE a été réalisée. Son criblage est en cours en parallèle avec celui d'une banque de cDNA de cerveau humain adulte (Etienne Formstecher).

L'étude du rôle de PEA-15 dans l'astrocyte a été également entreprise à l'aide d'une souris mutante dont le gène de PEA-15 a été délété par recombinaison homologue (recombinaison réalisée dans le laboratoire de Phil Leder, Harvard Medical School). En utilisant des cultures astrocytaires obtenues à partir d'embryons de ces souris mutantes, nous avons montré que l'application pendant 24 heures de TNF sur ces cellules provoque rapidement dans environ 60 % des cellules étudiées des signes d'apoptose. Le TNF est sans effet sur les astrocytes des souris sauvages parentes des mutantes. Inversement, la re-expression (après transfection) de PEA-15 dans les astrocytes de la souris mutante, protège ces cellules des effets délétères du TNF. PEA-15 semble donc être un inhibiteur de l'apoptose induite par le TNF dans les astrocytes. Cet effet inhibiteur résulte probablement d'un effet dominant négatif sur l'interaction de FADD avec FLICE (Jocelyne Cordier, Mireille Fauquet).

2.2.2. *Effets de différents types de stress cellulaires sur les phosphorylations de protéines (dont PEA-15) astrocytaires*

Deux cascades de kinases activées lors d'une agression cellulaire ont été décrites, l'une aboutit à l'activation de la kinase phosphorylant le facteur de

transcription Jun, JunK/SAPK1, l'autre à l'activation de la kinase p38/SAPK2. Les astrocytes du striatum en culture primaire exposés à des chocs thermique ou osmotique ou à des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF alpha, répondent par une activation prédominante de la p38/SAPK2. Celle-ci est prolongée et réversible.

Parmi les protéines dont le degré de phosphorylation est modifié et en raison de l'intensité des variations observées, PEA-15 et la MARCKS, un substrat ubiquitaire de PKC, ont particulièrement retenu notre attention. L'utilisation d'inhibiteurs sélectifs a permis de confirmer que ces variations sont liées à l'activation de p38/SAPK2. Des inhibiteurs de PKC bloquent également les effets du stress sur les phosphorylations de PEA-15 et de MARCKS, sans modifier l'activité de p38. La PKC apparaît donc comme un des effecteurs de la cascade située en aval de p38 (Darina Zvalova, Jocelyne Cordier).

3. CIRCUITS LOCAUX IMPLIQUÉS DANS LES RÉGULATIONS DES LIBÉRATIONS DE GABA, DOPAMINE ET ACÉTYLCHOLINE DANS LE STRIATUM

3.1. INTERACTION DE RÉCEPTEURS IMPLIQUÉS DANS LA RÉGULATION DE LA LIBÉRATION DE DOPAMINE ET DE GABA (Responsable de l'équipe : André Chéramy)

3.1.1. *Mise en évidence du rôle physiologique de l'acide arachidonique endogène dans la régulation présynaptique de la libération de dopamine à partir de microdisques ou de synaptosomes de striatum de rat ou de souris*

Plusieurs neuromédiateurs, présents dans le striatum, contrôlent la libération de dopamine (DA) en activant des récepteurs présynaptiques localisés sur les terminaisons nerveuses des neurones dopaminergiques nigrostriataux. Précédemment, nous avons montré la présence de récepteurs présynaptiques glutamatergiques (de type NMDA et AMPA) et cholinergiques (de type muscarinique et nicotinique) sur ces terminaisons ainsi que l'existence d'une coopération entre ces récepteurs. Cependant, ces récepteurs sont également présents sur d'autres éléments neuronaux (et pour certains d'entre eux gliaux) et sont impliqués dans un contrôle indirect de la libération de dopamine. Leur stimulation peut en effet conduire à l'activation de circuits locaux ou à la formation de messagers diffusibles, tels que le monoxyde d'azote ou l'acide arachidonique (AA), qui interviennent dans le contrôle de la libération de dopamine

Ces dernières années, nous nous sommes intéressés au rôle de l'AA dans le contrôle de la libération de dopamine, en étudiant dans un premier temps les effets de l'AA exogène, puis en tentant par la suite de mettre en évidence

l'implication de l'AA formé au sein du striatum. En effet, selon des données du laboratoire, l'AA est libéré à partir des neurones striataux en culture lors de l'application de glutamate ou de NMDA et des réponses synergiques de grande amplitude interviennent lors d'une co-application de ces agonistes avec l'acétylcholine ou le carbachol (Tencé *et al.*, 1995). D'autre part, en agissant sur les récepteurs nicotiques et muscariniques, l'acétylcholine ou le carbachol, réduisent le bloc Mg^{++} des récepteurs NMDA impliqués dans le contrôle présynaptique de la libération de [3H]-DA (Chéramy *et al.*, 1996). Afin de déterminer si l'AA endogène formé lors de la co-application de carbachol et de NMDA contribue ou non à la stimulation de la libération de DA par ces agonistes, nos expériences ont été effectuées en présence de divers inhibiteurs de phospholipase A_2 (PLA $_2$). Ces études ont été poursuivies et complétées. Les principaux résultats peuvent être résumés :

1) L'AA stimule de façon concentration-dépendante et calcium-dépendante la libération de [3H]-DA (exogène ou néo-synthétisée) à partir de synaptosomes de striatum de rat ou de souris (L'Hirondel *et al.*, 1995, 1998).

2) La potentialisation par le carbachol de la libération de [3H]-DA évoquée par le NMDA a été étudiée chez le rat et chez la souris, en présence et en absence de Mg^{++} , à partir de microdisques ou de synaptosomes.

a) En général, les réponses sont un peu plus importantes chez la souris que chez le rat, surtout en l'absence de Mg^{++} . b) De même, la potentialisation par le carbachol de la réponse évoquée par le NMDA est plus marquée sur les microdisques que sur les synaptosomes. Dans ce dernier cas, en présence de Mg^{++} , la potentialisation ne consiste qu'en une réduction ou élimination du bloc magnésium et, en l'absence de Mg^{++} aucune synergie n'intervient, les réponses évoquées par le NMDA et le carbachol étant simplement additives. c) Au contraire, sur les microdisques, des réponses synergiques très prononcées peuvent être observées surtout en l'absence de magnésium.

3) Lorsque des microdisques striataux de souris sont utilisés, la stimulation de la libération de [3H]-DA, induite par co-application de NMDA (1 mM) et de carbachol (1 mM) est fortement réduite (-50 % environ) en présence d'un inhibiteur des PLA $_2$ cytosoliques ou membranaires, les expériences étant effectuées en présence ou en absence de Mg^{++} . Cet effet inhibiteur est observé avec la mépacrine (de 0,1 μM et 1 μM), le 4-bromophénacylbromide (0,1 μM et 0,3 μM) et le DEDA (acide 7,7-diméthyl-eicosadiénoïque, 20 μM). Inversement, les inhibiteurs de PLA $_2$ sécrétées (acide aristolochique, 50 μM ; scalaradial, 0,3 μM) ou de diacylglycérol lipase (RG80267, 1 μM) sont inactifs.

4) La mépacrine (0,1 μM) n'affecte pas la libération de [3H]-DA évoquée par le KCl 25 mM ou la nicotine (1 mM), mais réduit l'augmentation induite par le NMDA (1 mM), le carbachol (1 mM) ou l'oxotrémorine (1 mM). Ceci confirme la spécificité des effets de la mépacrine et suggère que la potentialisation par le carbachol de la libération de [3H]-DA évoquée par le NMDA résulte de la

stimulation de récepteurs muscariniques. Ceci est en accord avec les données obtenues sur la libération d'AA à partir de cultures neuronales du striatum de souris (Tencé *et al.*, 1995).

5) Quelles que soient les modalités d'étude de la libération de dopamine : [³H]-DA continuellement synthétisée à partir de [³H]-tyrosine ou [³H]-DA exogène pré-captée, la mépacrine (0,1 uM) réduit de façon similaire les réponses induites par la co-application de NMDA (1 mM) et de carbachol (1 mM).

6) En l'absence ou en présence de Mg⁺⁺, la tétrodoxtine (1 uM) ne modifie pas l'effet inhibiteur de la mépacrine (0,1 uM) sur la stimulation de la libération de [³H]-DA, induite par co-application de NMDA (1 mM) et de carbachol (1 mM).

7) Lorsque les expériences sont effectuées sur des synaptosomes striataux de souris, en l'absence ou en présence de Mg⁺⁺, la mépacrine (0,1 uM) ou le 4-bromophénacylbromide (0,1 uM) réduisent également l'augmentation de la libération de [³H]-DA évoquée par la co-application de NMDA (1 mM) et de carbachol (1 mM). Par contre, démontrant la spécificité de son action, la mépacrine ne modifie pas significativement la réponse évoquée par une concentration dépolarisante de potassium.

En conclusion, dans le striatum, l'acide arachidonique endogène contribue en partie à la libération de DA induite par la co-stimulation des récepteurs NMDA et cholinergiques. Des PLA2 intracellulaires cytosoliques et/ou membranaires interviennent dans la formation de l'AA alors que la PLC/diacylglycérol lipase n'est pas impliquée. Vraisemblablement, l'AA provient en grande partie des neurones GABAergiques striataux (majoritaires dans les cultures primaires de striatum) et agit donc comme un messager diffusible. d) Ainsi que l'indiquent les expériences effectuées sur les synaptosomes, l'AA formé au sein des terminaisons dopaminergiques semble également être impliqué dans la libération de dopamine évoquée par l'action conjointe du NMDA et du carbachol mais cette contribution est plus limitée. Dans ce cas l'AA agirait comme un messager intracellulaire (Françoise Artaud, Gérard Godeheu, Marie L'Hirondel).

3.2. RÉGULATION DE LA LIBÉRATION DE L'ACÉTILCHOLINE DANS LES COMPARTIMENTS STRIATAUX

(Responsables de l'équipe : Marie-Lou Kemel et Christian Gauchy)

In vivo, les interneurones cholinergiques présentent une activité spontanée en l'absence de toute activité sensori-motrice et cette activité ne semble pas être accrue lors d'un mouvement. En revanche, chez le singe entraîné à la réalisation de certaines tâches, une réactivité de ces neurones intervient lors de stimulations sensorielles (visuelle ou auditive) associées à une récompense, ce phénomène nécessitant la présence de l'innervation dopaminergique nigro-striatale. A l'inverse des neurones efférents du striatum strictement localisés dans un compartiment, les corps cellulaires des interneurones cholinergiques sont principalement

distribués dans un territoire matriciel proche des striosomes mais leurs longs neurites innervent les deux compartiments. Ces interneurons cholinergiques pourraient contribuer au transfert des informations entre les striosomes et la matrice, compartiments qui reçoivent respectivement des messages limbiques et sensorimoteurs. Ils sont innervés par les afférences d'origine thalamique et corticale glutamatergiques (ou riches en aspartate), les afférences nigrales dopaminergiques et par différentes populations de neurones intrinsèques du striatum. Enfin, les interneurons cholinergiques expriment les ARN messagers de certains récepteurs tels que les récepteurs dopaminergiques de type D2 (peu de D1), tachykinergiques de type NK1, opiacés de type delta et cholinergiques de type M2.

Par des expériences réalisées à l'aide de microtechniques de superfusion *in vitro*, nous avons montré précédemment qu'une stimulation prononcée des récepteurs NMDA (application du NMDA 50 μ M ou 1 mM en présence de D-sérine) effectuée en l'absence de magnésium provoque une libération importante de dopamine et que celle-ci exerce un contrôle inhibiteur sur la libération évoquée d' $[^3\text{H}]$ -ACh. Cet effet met principalement en jeu des récepteurs dopaminergiques de type D2 localisés sur les interneurons cholinergiques. Le GABA et les tachykinines endogènes sont également libérés lors de différentes modalités de stimulation des récepteurs NMDA : le GABA favorise la libération de l' $[^3\text{H}]$ -ACh dans les deux compartiments striataux alors que la substance P (dans les striosomes) et la neurokinine A (dans les striosomes et la matrice) provoquent des effets opposés. Ces régulations sont indirectes et dépendent des effets présynaptiques (directs ou indirects) de ces médiateurs sur la libération de dopamine.

3.2.1. Influence des différents niveaux de stimulation des récepteurs NMDA sur la libération endogène du GABA et des tachykinines impliqués dans la régulation de la libération de l'acétylcholine

Tous les neurones épineux de taille moyenne efférents du striatum sont GABAergiques. La substance P et la neurokinine A sont co-localisées avec le GABA dans 50 % environ de ces neurones, ceux qui innervent la substance noire et le globus pallidus interne. Selon des données obtenues à la périphérie, les co-transmetteurs peptidergiques ne sont libérés avec le médiateur principal que lors d'une stimulation prononcée de l'activité des neurones (haute fréquence). Nous avons voulu vérifier ce concept dans le striatum en mesurant les contributions respectives du GABA et des tachykinines (substance P et neurokinine A) dans la régulation de la libération évoquée d' $[^3\text{H}]$ -ACh dans les striosomes et la matrice en utilisant différentes modalités de stimulation des récepteurs NMDA. Le NMDA a été appliqué localement (en l'absence de magnésium) à une faible (50 μ M) ou forte (1 mM) concentration en présence ou absence du co-agoniste, la D-sérine (10 μ M) et, dans tous les cas, nous avons déterminé les effets d'un antagoniste des récepteurs GABA A (bicuculline) ou des récepteurs NK1 (SR140333) ou NK2 (SR48968) des tachykinines.

La présence de bicuculline (5 μ M) provoque une réduction de la libération évoquée de l' [3 H]-ACh dans toutes les conditions de stimulation des récepteurs NMDA (NMDA 50 μ M ou 1 mM en absence ou présence de D-sérine). Observées dans les deux compartiments, ces réponses sont bloquées par le sulpiride (1 μ M) indiquant une intervention de la DA dans ces régulations.

Quelles que soient les concentrations utilisées (de 10 nM à 1 μ M), le SR 140333 ou le SR 48968 ne modifient pas les réponses induites par le NMDA (50 μ M ou 1 mM) lorsque les expériences sont effectuées en absence du co-agoniste la D-serine. En revanche une facilitation de la libération évoquée d' [3 H]-ACh peut être observée dans les striosomes avec les antagonistes NK1 et NK2 lorsque les expériences sont effectuées en présence de D-serine. Dans ces conditions (D-serine), mais uniquement lorsque le NMDA est utilisé à 1 mM, seul l'antagoniste NK2 (SR48968 ; 10 nM à 0.1 nM) induit une réponse similaire dans la matrice. Ces désinhibitions de la libération de l' [3 H]-ACh induites par les antagonistes tachykinergiques sont bloquées par le sulpiride, indiquant à nouveau, l'intervention de la DA dans ces régulations.

Ces données indiquent que le GABA est libéré et intervient dans un contrôle inhibiteur de la régulation de dopamine dans toutes les conditions de stimulation des récepteurs NMDA. Par contre, les co-transmetteurs de type tachykinine (substance P et neurokinine A) qui exercent des régulations opposées à celle du GABA, ne sont libérés que lors de stimulations prononcées des récepteurs NMDA nécessitant des concentrations saturantes du co-agoniste, la D-serine. Ces données indiquent également que le contrôle inhibiteur de la DA sur la libération évoquée d' [3 H]-ACh dans les deux compartiments striataux ne peut être observé que lorsque la D-serine est appliquée avec le NMDA, celui-ci étant utilisé à 50 μ M ou 1 mM. Par contre, la suppression du contrôle présynaptique inhibiteur exercé par le GABA favorise une libération de dopamine qui est suffisante pour réguler la libération évoquée d' [3 H]-ACh dans toutes les conditions de stimulation des récepteurs NMDA. En effet, ces régulations ne sont plus observées en présence de sulpiride, l'antagoniste des récepteurs D2.

3.2.2. *Rôle de l'acide arachidonique dans la libération de l'acétylcholine évoquée par le NMDA*

Dans le striatum, le glutamate (en agissant principalement sur les récepteurs de type NMDA) et l'ACh (par l'intermédiaire des récepteurs muscariniques de type m1) stimulent la formation de l'acide arachidonique dans les nombreux neurones GABAergiques efférents du striatum (majorité des neurones striataux) et ces deux médiateurs exercent des effets synergiques de grande amplitude sur la formation d'acide arachidonique (Tencé *et al.* 1995). L'acide arachidonique exerce de multiples effets et des données obtenues dans le laboratoire indiquent qu'il favorise la libération de GABA et de dopamine en inhibant la recapture des ces médiateurs mais surtout en stimulant leur libération (équipe de A. Chéramy, voir L'Hirondel *et al.*, 1995).

Nous avons recherché si l'acide arachidonique intervient dans les circuits locaux impliqués dans la régulation de la libération d' $[^3\text{H}]$ -ACh évoquée par une faible stimulation des récepteurs NMDA (50 μM). Dans ces conditions la DA et les tachykinines ne sont pas impliquées dans la régulation de la libération évoquée de l' $[^3\text{H}]$ -ACh. Les expériences ont donc été effectuées en présence d'un inhibiteur de la phospholipase A (la mépacrine) ou en ajoutant de la sérum albumine bovine (BSA) dans le milieu de superfusion. Celle-ci possède en effet une grande affinité pour l'acide arachidonique et permet de l'éliminer rapidement de l'espace intercellulaire.

Dans les deux compartiments striataux, l'effet facilitateur du NMDA (50 μM) sur la libération de l' $[^3\text{H}]$ -ACh est considérablement réduit en présence de mépacrine (0,2 μM) ou de BSA et ces réponses ne sont plus observées en présence de bicuculline qui seule provoque des effets identiques. D'autre part, les réductions de la libération évoquée d' $[^3\text{H}]$ -ACh induites par la mépacrine ou la BSA ne sont plus observées en présence de sulpiride suggérant qu'elles sont dopamine-dépendantes et qu'elle résulte d'une facilitation de la libération évoquée de dopamine ainsi que cela a pu être vérifié dans des expériences effectuées avec de la BSA.

En conclusion, lorsque la production d'acide arachidonique est bloquée ou que celui-ci est éliminé rapidement du milieu extracellulaire, le GABA n'est plus libéré à partir des collatérales ou des dendrites des neurones GABAergiques. Ceci favorise la libération évoquée de dopamine et par conséquent le contrôle inhibiteur de la dopamine sur la libération évoquée $[^3\text{H}]$ -ACh. Dans nos conditions expérimentales (faible stimulation des récepteurs NMDA), l'acide arachidonique qui est vraisemblablement formé dans les neurones GABAergiques facilite de façon préférentielle la libération de GABA. Ce messager diffusible contribue ainsi à la régulation des circuits locaux impliqués dans le contrôle de la libération évoquée d'acétylcholine dans les deux compartiments striataux (Fabienne Blanchet, Sylvie Perez).

4) SYSTÈMES DOPAMINERGIQUES MÉSOCORTICAUX ET MÉSOLIMBIQUES

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

4.1.1. *Étude de l'interaction Noradrénaline/Dopamine et de ses conséquences sur le rôle fonctionnel de la libération de dopamine sous-corticale*

L'activation locomotrice induite par la D-amphétamine est généralement attribuée à une augmentation de la libération de dopamine (DA) dans le noyau accumbens. Néanmoins, cette hyperactivité locomotrice peut être bloquée par le

prazosin, un antagoniste $\alpha 1$ -adrénergique, injecté de façon systémique ou appliqué localement dans le cortex préfrontal (Blanc *et al.*, 1994). Ceci suggère l'existence d'interactions noradrénaline-dopamine dans les effets de la D-amphétamine.

Dans une première série d'expériences, nous avons montré à l'aide de la méthode de microdialyse, chez des rats libres de leurs mouvements, que le prazosin ne diminue pas de façon significative l'augmentation des taux extracellulaires de DA dans le noyau accumbens induite par l'amphétamine bien qu'il bloque l'effet locomoteur de cet agent psychotrope (indépendance entre l'augmentation des taux de DA dans le noyau accumbens et l'hyperactivité locomotrice). Pour expliquer ces données, nous avons envisagé qu'une faible partie de la DA libérée par l'amphétamine exerce un rôle fonctionnel et que les changements de ce « pool » libérable fonctionnel sont masqués par ceux de la DA originaire d'un « pool » de stockage qui peut être affecté par l'amphétamine en fonction des concentrations utilisées.

Effectivement, en injection bilatérale dans le noyau accumbens, la D-amphétamine ne provoque une hyperactivité locomotrice que lorsque l'augmentation des taux extracellulaires de DA est 50 fois plus élevée que celle évoquée par une injection systémique de D-amphétamine provoquant le même effet comportemental.

En utilisant une méthode consistant à appliquer et injecter respectivement et de façon séquentielle (i) la D-amphétamine localement dans le noyau accumbens puis (ii) la D-amphétamine de façon systémique, nous avons pu montrer que l'activation locomotrice était corrélée avec l'augmentation de la libération de DA évoquée par l'injection systémique. Qui plus est, le prazosin, injecté en systémique, ou localement dans le cortex préfrontal, bloque à la fois l'hyperactivité locomotrice et l'augmentation de la libération de DA évoquées par l'injection périphérique de D-amphétamine. Dans ces conditions, le prazosin n'affecte pas l'augmentation des taux extracellulaires de DA induite par l'application locale de D-amphétamine, application utilisée pour inhiber la recapture et ainsi détecter de faibles changements de la libération évoquée du médiateur.

Compte tenu de la diffusion locale de D-amphétamine que nous avons mesurée, nous proposons qu'il existe une libération fonctionnelle de DA dans le noyau accumbens qui ne représenterait qu'une faible partie (inférieure à 15 %) des taux extracellulaires de DA pouvant être libérés. L'application locale de D-amphétamine dans le noyau accumbens augmenterait considérablement la libération de DA non fonctionnelle et l'activation comportementale ne serait détectée que lorsque des concentrations suffisantes d'amphétamine atteindraient les zones synaptiques, sites privilégiés impliqués dans la libération fonctionnelle du médiateur. Cette libération fonctionnelle dépend vraisemblablement de l'activité électrique des cellules DA de l'aire tegmentale ventrale. Celle-ci est elle-même dépendante de l'activité des neurones glutamatergiques originaires du cortex préfrontal, activité qui pourrait être contrôlée par la transmission $\alpha 1$ -adrénergique corticale (Darracq *et al.*, 1998).

4.1.2. Rôle des efférences glutamatergiques corticales dans la libération fonctionnelle de DA dans le noyau accumbens

Outre leur action directe sur les corps cellulaires DA de l'aire tegmentale ventrale, les neurones glutamatergiques corticaux envoient des projections directes dans le noyau accumbens. Nous avons donc recherché si la libération de glutamate dans le noyau accumbens pouvait s'associer à l'effet de la DA pour déclencher une hyperactivité locomotrice lors d'une injection d'amphétamine. Des travaux récents viennent en effet de montrer que l'injection *in vivo* d'amphétamine évoque également une libération d'acide glutamique dans le noyau accumbens (Dalia *et al.*, 1997).

Nous avons donc essayé de bloquer l'hyperactivité locomotrice induite par une injection systémique d'amphétamine en introduisant par contre-dialyse des antagonistes des trois groupes de récepteurs glutamatergiques (AMPA, NMDA et métabotropiques) dans le noyau accumbens.

Nos résultats indiquent que :

- (i) le blocage des récepteurs NMDA avec un antagoniste compétitif des récepteurs NMDA (APV) ne modifie ni l'augmentation de la libération de DA dans le noyau accumbens ni l'hyperactivité locomotrice induite par l'amphétamine. Ceci semble exclure l'intervention de récepteurs NMDA dans ce processus ;
- (ii) le blocage des récepteurs AMPA par le CNQX diminue de 90 % l'augmentation des taux extracellulaires de DA dans le noyau accumbens sans modifier l'hyperactivité locomotrice induite par l'amphétamine. Ceci indique que par l'intermédiaire des récepteurs AMPA, le glutamate peut exercer un effet facilitateur sur la libération de DA ;
- (iii) le blocage des récepteurs glutamatergiques métabotropiques par le MCPG bloque à la fois l'augmentation des taux extracellulaires de DA et l'hyperactivité locomotrice induites par l'amphétamine. Ceci montre que certains récepteurs métabotropiques jouent un rôle privilégié dans ces effets de l'amphétamine.

Enfin, afin d'estimer l'effet de ces antagonistes glutamatergiques sur la libération non fonctionnelle de DA, ces derniers ont été injectés par contre-dialyse dans le noyau accumbens de rats qui recevaient simultanément de l'amphétamine par contre-dialyse. Nos résultats montrent que l'APV n'a pas d'effet sur la libération de DA non fonctionnelle alors que le CNQX et le MCPG la bloquent.

Il est donc possible que la libération fonctionnelle de DA dans le noyau accumbens soit à la fois sous la dépendance de l'activité électrique des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale et de la stimulation des récepteurs glutamatergiques métabotropiques du noyau accumbens. Ces deux paramètres seraient eux-mêmes sous le contrôle des efférences glutamatergiques du cortex préfrontal (Laurent Darracq et Gérard Blanc).

4.1.3. *Rôle des interactions noradrénaline/dopamine sur l'activité électrique spontanée des neurones glutamatergiques du cortex préfrontal*

La stimulation électrique des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale induit une inhibition de l'activité spontanée des cellules pyramidales du cortex préfrontal. Cette inhibition est bloquée par un antagoniste des récepteurs dopaminergiques de type D2, le sulpiride (Thierry *et al.*, 1986). Cependant, d'autres neuroleptiques qui bloquent également les récepteurs D2, se sont avérés incapables de bloquer cette inhibition. L'analyse des propriétés de ces derniers a montré qu'en plus de leur effet antagoniste des récepteurs D2, ces neuroleptiques possèdent tous une forte affinité pour les récepteurs α 1-adrénergiques. Compte tenu des interrelations que nous avons mises en évidence entre les récepteurs D1 dopaminergiques et les récepteurs α 1-adrénergiques, nous avons recherché, dans le cortex préfrontal, les interactions qui pouvaient exister entre ces trois types de récepteurs D1, D2 et α 1-adrénergiques.

L'utilisation d'antagonistes spécifiques pour chacun des récepteurs D1, D2 et α 1-adrénergiques (respectivement le SCH 23390, le sulpiride et le prazosin) a permis de montrer que le blocage des récepteurs α 1-adrénergiques (comme celui du récepteur D2, mais contrairement à celui du récepteur D1) bloque l'inhibition de l'activité spontanée des neurones corticaux induite par la stimulation de l'aire tegmentale ventrale. Néanmoins, de façon paradoxale, les blocages simultanés des récepteurs α 1-adrénergique et D1 (prazosin + SCH 23390) ou α 1-adrénergique et D2 (prazosin + sulpiride) réversent cette inhibition.

Ces résultats nous ont conduits à proposer une double interaction, dans le cortex préfrontal, entre ces trois récepteurs : la stimulation du récepteur α 1-adrénergique bloquerait l'effet de la stimulation du récepteur dopaminergique de type D1 et les effets de la stimulation des récepteurs D2 pourraient être antagonisés par la stimulation des récepteurs D1 (Gioanni *et al.*, 1998).

4.1.4. *Étude de la sensibilisation comportementale évoquée par l'amphétamine ou la morphine*

La sensibilisation comportementale correspond à l'augmentation progressive de l'effet hyperlocomoteur observé chez le rat lorsque l'on répète l'injection de doses identiques de produits toxicomanogènes tels que l'amphétamine ou la morphine. L'amphétamine et la morphine augmentent la libération de DA dans le noyau accumbens selon deux mécanismes différents : la morphine augmente l'activité électrique des cellules dopaminergiques et inhibe celle des neurones noradrénergiques alors que nous avons montré que la transmission α 1 noradrenergique (accrue par l'amphétamine) joue un rôle permissif sur la libération fonctionnelle de DA évoquée par l'amphétamine. En accord avec ces données, nous avons montré que le prazosin bloque la sensibilisation comportementale évoquée par l'amphétamine sans affecter celle induite par la morphine.

La recherche des sites cérébraux responsables de la sensibilisation évoquée par l'amphétamine indique que l'injection, par des canules implantées à demeure, de prazosin dans l'aire tegmentale ventrale ou de SCH 23390 dans le cortex préfrontal, diminue ou annule cette sensibilisation, alors que l'injection de prazosin dans le cortex préfrontal semble favoriser cette dernière.

Ces résultats nous conduisent à proposer que des modifications des interactions entre les systèmes noradrénergiques et dopaminergiques du cortex préfrontal sont impliquées dans la sensibilisation induite par l'amphétamine (Candice Drouin, Gérard Blanc).

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

4.2.1. *Étude anatomo-fonctionnelle des relations entre le cortex préfrontal et les ganglions de la base*

Le cortex cérébral et les ganglions de la base sont reliés par des circuits multisynaptiques striato-pallido — et striato-nigro-thalamiques organisés en boucles parallèles. Précédemment, nous avons montré que ce principe d'organisation s'applique également aux circuits issus des aires prélimbique et orbitaire médiane (PL/MO) du cortex préfrontal. En effet, les aires PL/MO envoient une projection excitatrice sur le « core » du noyau accumbens (NAcc). Le NAcc envoie une afférence directe inhibitrice sur la zone dorsomédiane de la substance noire pars reticulata (SNR) qui innerve deux régions thalamiques en relation avec le cortex préfrontal (le noyau dorsomédian et la région médiane du noyau ventromédian) (Deniau *et al.* 1994 ; Montaron *et al.* 1996). Le NAcc est également relié à la SNR par un circuit indirect impliquant successivement le pallidum ventral (VP) et le noyau subthalamique (STN) (Maurice *et al.* 1997 ; Maurice *et al.*, in press). Le STN qui reçoit une afférence excitatrice directe du cortex préfrontal est aussi considéré comme une structure d'entrée des ganglions de la base.

La stimulation des aires PL/MO induit des réponses complexes au niveau du STN et de la SNR. Nous avons déterminé les rôles respectifs des différents circuits qui relient les aires PL/MO au STN et à la SNR dans ces réponses complexes en bloquant de façon réversible la transmission synaptique (administration par microdialyse d'antagonistes de la transmission synaptique) dans les différentes structures impliquées dans ces circuits. (En collaboration avec J. M. Deniau, Institut des Neurosciences, Université Paris VI).

— *Réponses évoquées dans le noyau subthalamique par la stimulation des aires PL/MO : Implication des différents circuits*

La stimulation des aires PL/MO évoque le plus généralement deux pics d'excitation, l'un à courte et l'autre à longue latence, souvent séparés par

une brève période d'inhibition : 1) Les réponses excitatrices précoces qui résultent de l'activation des projections directes des aires PL/MO sur le STN sont observées dans la région médiane du STN. Leurs latences sont compatibles avec le temps de conduction de la voie cortico-STN déterminée par la méthode d'activation antidromique. 2) Les réponses excitatrices à longue latence résultent de la mise en jeu du circuit indirect cortico-NAcc-VP-STN car elles sont très largement diminuées après blocage de la transmission cortico-striatale par application dans le NAcc. de CNQX, un antagoniste des récepteurs glutamatergiques. Le blocage de la transmission GABAergique NAcc-VP par application dans le VP de bicuculline, un antagoniste des récepteurs GABA, provoque un effet similaire. Ainsi, les réponses excitatrices à longue latence résultent d'un processus de désinhibition : l'activation phasique de la voie striato-pallidale en inhibant les neurones pallido-STN lève le contrôle inhibiteur tonique exercé par le VP sur les neurones du STN. 3) Enfin, le blocage de la transmission glutamatergique STN-VP par application de CNQX dans le VP, supprime l'inhibition qui suit la réponse excitatrice précoce et augmente la réponse excitatrice à longue latence. Confirmant que le STN et le VP sont étroitement interconnectés, ces données indiquent que l'activation par les afférences corticales directes des neurones du STN qui projettent sur le VP induit une activation des neurones GABAergiques pallido-subthalamiques, entraînant ainsi une inhibition en « feedback » du STN. (Nicolas Maurice).

— *Réponses évoquées dans la substance noire pars reticulata par la stimulation des aires PL/MO : Implication des différents circuits*

La stimulation des aires PL/MO induit un effet complexe sur l'activité des neurones de la région dorsomédiane de la SNR : une réponse excitatrice à courte latence suivie d'une inhibition puis à nouveau, dans certains cas, d'une augmentation de l'activité des cellules. Ces réponses résultent respectivement de l'activation de la voie cortico-subthalamo-nigrale puis des voies cortico-striato-nigrales directe et indirecte. En effet : 1) les réponses excitatrices à courte latence ne sont plus observées après blocage de la transmission glutamatergique cortico-subthalamique (application de CNQX dans le STN), 2) l'inhibition ainsi que l'augmentation d'activité des neurones de la SNR qui succèdent à ces réponses excitatrices initiales ne sont plus observées après blocage de la transmission cortico-striatale (application de CNQX dans le NAcc) alors que les réponses excitatrices à courte latence ne sont pas affectées, 3) enfin, l'inhibition persiste alors que l'augmentation d'activité qui lui succède n'est plus observée après blocage de la transmission GABAergique de la voie NAcc-VP (application de bicuculline dans le VP). Par ailleurs, notre étude a permis de mettre en évidence que le circuit « feedback » inhibiteur STN-VP-STN est impliqué dans le contrôle de l'activité des neurones de la SNR. En effet, une augmentation de l'effet exciteur tardif est observé dans la SNR après interruption de ce circuit par application de CNQX dans le VP (Nicolas Maurice).

Nous avons aussi déterminé les structures cibles des neurones de la SNR qui reçoivent une influence des aires PL/MO. Après injection iontophorétique de neurobiotine, dans un site où les neurones de la SNR présentent une réponse caractéristique à la stimulation des aires PL/MO, des fibres et des boutons terminaux marquées antérogradement sont observés dans le thalamus (noyau médiodorsal et région médiane du noyau ventromédian) confirmant les données obtenues dans nos études précédentes à l'aide d'un marqueur rétrograde. Un marquage est également observé dans la substance réticulée mésencéphalique, le noyau pédunculopontin et dans certains cas au niveau de la couche intermédiaire blanche du colliculus supérieur (Julien Blanchard).

4.2.2. *Étude de la voie hippocampe-cortex préfrontal*

Précédemment, nous avons mis en évidence l'existence d'une projection directe de l'hippocampe sur les aires PL/MO et montré que la stimulation de l'hippocampe évoque une réponse excitatrice suivie d'une inhibition prolongée de l'activité spontanée des cellules corticales. La technique d'enregistrement intracellulaire *in vivo*, couplée à l'injection intracellulaire de neurobiotine a été développée dans le laboratoire afin de déterminer les événements synaptiques ainsi que les caractéristiques électrophysiologiques et morphologiques des neurones des aires PL/MO qui répondent à la stimulation de l'hippocampe. Nos premières données indiquent que la stimulation de l'hippocampe induit des EPSP, souvent sous liminaires et parfois composites, suivis de longs IPSP (300 ms) dans les neurones pyramidaux (identifiés par des critères morphologiques) de la couche V-VI des aires PL/MO. En réponse à un choc dépolarisant, ces neurones émettent une décharge régulière ou présentent une bouffée de deux ou trois potentiels d'actions suivie d'une période d'adaptation puis d'une décharge régulière (Yves Gianni).

PUBLICATIONS ORIGINALES

L. VENANCE, S. SAGAN & C. GIAUME, (*R*)-Methanandamide inhibits endothelin-1-induced calcium responses by depleting internal calcium stores in cultured astrocytes. (Pflügers Arch., Eur. J. Physiol., 434, 147-149, 1997).

Y. TORRENS, M. SAFFROY, J. GLOWINSKI & J. C. BEAUJOUAN, Substance P(6-11) and natural tachykinins interact with septide-sensitive tachykinin receptors coupled to a phospholipase C in the rat urinary bladder. (Neuropeptides 31 n° 3 243-251, 1997).

A. DOBBERTIN, P. SCHMID, M. GELMAN, J. GLOWINSKI & M. MALLAT, Neurons promote macrophage proliferation by producing transforming growth factor- β 2. (J. Neurosci., 17 n° 14, 5305-5315, 1997).

S. SAGAN, J. C. BEAUJOUAN, Y. TORRENS, M. SAFFROY, G. CHASSAING, J. GLOWINSKI & S. LAVIELLE, *High affinity binding of [3H]Propionyl-[Met(O2)11]Substance P(7-11), a tritiated septide-like peptide, in chinese hamster ovary cells expressing human neurokinin-1 receptors and in rat submandibular glands.* (Mol. Pharmacol., 52 n° 1, 1120-1127, 1997).

N. MAURICE, J. M. DENIAU, A. MENETREY, J. GLOWINSKI & A. M. THIERRY, *Position of the ventral pallidum in the rat prefrontal cortex-basal ganglia circuit.* (Neurosci., 80 n° 2, 523-534, 1997).

S. CAZAUBON, N. CHAVEROT, I. A. ROMERO, J. A. GIRAULT, P. ADAMSON, A. DONNY STROSBERG & P. O. COURAUD, *Growth factor activity in endothelin-1 in primary astrocytes mediated by adhesion-dependent and -independent pathways.* (J. Neurosci., 17 n° 16, 6203-6212, 1997).

A. ARABSHAHI, C. GIAUME & K. A. PEUSNER, *Lack of biocytin transfer at gap junctions in the chicken vestibular nuclei.* (Int. J. Devel. Neurosci., 15 n° 3, 343-352, 1997).

K. A. PEUSNER & C. GIAUME, *Ontogeny of electrophysiological properties and dendritic pattern in second-order chick vestibular neurons.* (J. Comp. Neurol., 384, 621-633, 1997).

F. BLANCHET, M. L. KEMEL, C. GAUCHY, M. DESBAN, S. PEREZ & J. GLOWINSKI, *N-Methyl-d-aspartate-evoked release of (3H)acetylcholine in striatal compartments of the rat : regulatory roles of dopamine and GABA.* (Neurosci., 81 n° 1, 113-127, 1997).

M. MENEGOZ, P. GASPAR, M. LE BERT, T. GALVEZ, F. BURGAYA, C. PALFREY, P. EZAN, F. ARNOS & J. A. GIRAULT, *Paranodin, a glycoprotein enriched in the paranodal regions of neurons.* (Neuron, 19 n° 2, 319-331, 1997).

C. GIAUME, A. TABERNERO & J. M. MEDINA, *Metabolic trafficking through astrocytic gap junctions.* (Glia, 21 n° 1, 114-123, 1997).

C. C. G. NAUS, J. F. BECHBERGER, Y. SHANG, L. VENANCE, H. YAMASAKI, S. C. JUNEJA, G. M. KIDDER & C. GIAUME, *Altered gap junctional communication, intercellular signalling and growth in cultured astrocytes deficient in connexin43.* (J. Neurosc. Res., 49 n° 5, 528-540, 1997).

B. HAMON, J. GLOWINSKI & C. GIAUME, *Nicotine inhibits slowly inactivating K⁺ currents in rat cultured striatal neurons.* (Pflügers Arch., 434 n° 5, 642-645, 1997).

S. DESAGHER, J. GLOWINSKI & J. PREMONT, *Pyruvate protects neurons against hydrogen peroxide-induced toxicity.* (J. Neurosci., 17 n° 23, 9060-9067, 1997).

F. BURGAYA, M. TOUTANT, J. M. STUDLER, A. COSTA, M. LE BERT, M. GELMAN & J. A. GIRAULT, *Alternatively spliced focal adhesion kinase in rat brain with increased autophosphorylation activity.* (J. Biol. Chem., 272 n° 45, 28720-28725, 1997).

G. GAMKRELIDZE, C. GIAUME & K. D. PEUSNER, *The differential expression of low-threshold sustained potassium current contributes to the distinct firing patterns in embryonic central vestibular neurons*. (J. Neurosci., 18 (4) 1449-1464, 1998).

D. SABERAN-DJONEIDI, R. PICART, D. ESCALIER, M. GELMAN, A. BARRET, C. TOUGARD, J. GLOWINSKI & M. LEVI-STRAUSS, *A 21-kDA polypeptide belonging to a new family of proteins is expressed in the golgi apparatus of neural and germ cells*. (J. Biol. Chem., 273 (7) 3909-3914, 1998).

L. DARRACQ, G. BLANC, J. GLOWINSKI & J. P. TASSIN, *Importance of the noradrenaline/dopamine coupling in the locomotor activating effects of low doses of D-amphetamine*. (J. Neuroscience, 18 (7), 2729-2739, 1998).

Y. TORRENS, J. C. BEAUJOUAN, M. SAFFROY, J. GLOWINSKI & M. TENCE, *Functional coupling of the NK1 tachykinin receptor to phospholipase D in chinese hamster ovary cells and astrocytoma cells*. (J. Neurochem., 70 (5) 2091-2098, 1998).

P. DERKINDEREN, J. SICILIANO, M. TOUTANT & J. A. GIRAULT, *Differential regulation of FAK+ and PYK2/CakB, two related tyrosine kinases, in rat hippocampal slices: effects of LPA, carbachol, depolarization and hyperosmolarity*. (EJN, 10 (5) 1667-1675, 1998).

F. DESDOUITS, J. C. SICILIANO, A. C. NAIRN, P. GREENGARD & J. A. GIRAULT, *Dephosphorylation of Ser-137 in DARPP-32 by protein phosphatases 2A and 2C: different roles in vitro and in striatonigral neurons*. (Biochem J., 330, 211-216, 1998).

F. BLANCHET, C. GAUCHY, S. PEREZ, P. SOUBRIE, J. GLOWINSKI & M. L. KEMEL, *Distinct modifications by neurokinin1 (SR140333) and neurokinin2 (SR48968) tachykinin receptor antagonists of the NMDA-evoked release of acetylcholine in striosomes and matrix of the rat striatum*. (Neuroscience, 85 (4), 1025-1036, 1998).

M. L'HIRONDEL, A. CHERAMY, G. GODEHEU, F. ARTAUD, A. SAIARDI, E. BORRELLI & J. GLOWINSKI, *Lack of autoreceptor-mediated inhibitory control of dopamine release in striatal synaptosomes of D2 receptor-deficient mice*. (Brain Research, 792, 253-262, 1998).

S. N. SCHIFFMANN, F. DESDOUITS, R. MENU, P. GREENGARD, J. D. VINCENT, J. VANDERHAEGHEN & J. A. GIRAULT, *Modulation of the voltage-gated sodium current in rat striatal neurons by DARPP-32, an inhibitor of protein phosphatase* (Eur. J. Neurosci., 10 (4), 1312-1320, 1998).

L. YLISASTIGUI, J. VIZZAVONA, E. DRAKOPOULOU, P. PAINDAVOINE, C. F. CALVO, M. PARMENTIER, J. C. GLUCKMAN, C. VITA & A. BENJOUAD, *Synthetic full-length and truncated RANTES inhibit HIV-1 infection of primary macrophages*. (AID, 12 (9), 977-984, 1998).

REVUES GÉNÉRALES

P. DERKINDEREN & J. A. GIRAULT, *Protein tyrosine phosphorylation*. (In : « Neuromethods : post-translational modifications : techniques and protocols », Boulton, Behen & Hemmings eds., The Humana Press inc., Totowa NS, 30 pp. 251-274, 1997).

M. TOUTANT, P. DERKINDEREN & J. A. GIRAULT, *Activité nerveuse, neurotransmetteurs et phosphorylation de protéines sur tyrosine : un rôle pour FAK et PYK2/CAKb dans le cerveau ?* (Med. Sci., n° 1 vol. 13, pp. 104-106, 1997).

J. A. GIRAULT, *Les bases moléculaires de la mémoire et de l'apprentissage testées par l'invalidation localisée d'un gène dans le cerveau*. (Med. Sci., n° 5 vol. 13, pp. 698-701, 1997).

D. HERVE & J. P. TASSIN, *Dépendance : modification de l'expression génique*. (In : « Dépendance et conduites de Consommation », Questions en Santé publique, eds. Padieu, F. Beaugé, M. Choquet, R. Molimard, P. Parquet, L. Stinus Les Éditions INSERM, chap. 11, pp. 157-172, 1997).

J. P. TASSIN, *Norepinephrine/dopamine interactions in the prefrontal cortex and the VTA : relevance to mental disease*. (In : Advances in Pharmacology — Catecholamines : bridging basic science with clinical medicine, eds. D. Goldstein, G. Eisenhofer, R. McCarty, Vol. 42, Adv. Pharmacol., pp. 712-716, 1998).

A. M. THIERRY, S. PIROT, Y. GIOANNI & J. GLOWINSKI, *Dopamine function in the prefrontal cortex*. (In : Advances in Pharmacology — Catecholamines : bridging basic science with clinical medicine, eds. D. Goldstein, G. Eisenhofer, R. McCarty, Vol. 42, Adv. Pharmacol., pp. 717-720, 1998).

J. P. TASSIN, L. DARRACQ, G. BLANC & F. TROVERO, *Integrating the monoamine systems*. (In : Antidepressant therapy at the dawn of the 3rd millennium, ed. M. Briley & S. Montgomery, Martin Dunitz, pp. 1-18, 1998).

J. P. TASSIN, *Drogues, dépendance et dopamine*. (La Recherche, n° 306, pp. 48-53 1998).

A. CHERAMY, M. L'HIRONDEL, G. GODEHEU, F. ARTAUD & J. GLOWINSKI, *Direct and indirect presynaptic control of dopamine release by excitatory amino acids*. (Amino Acids, 14, 63-68, 1998).

H. CHNEIWEISS, *Protéines phosphatases : l'autre plateau de la balance*. (Médecine Sciences, 14 n° 3, pp. 259-261, 1998).

Différents chercheurs du laboratoire ont présenté leurs travaux dans les congrès suivants :

P. DERKINDEREN, M. TOUTANT, J. SICILIANO, F. BURGAYA, M. LE BERT, J. A. GIRAULT, *Differential regulation of FAK+ and PYK2 in rat hippocampal slices*. FEBS Special meeting, 97, Amsterdam, Pays Bas, 29/06-03/07/97.

M. TENCE, Y. TORRENS, J. C. BEAUJOUAN, M. SAFFROY, J. GLOWINSKI, *Substance P stimulates phospholipase D in CHO cells expressing the rat NK1 tachykinin receptor*. FEBS Special meeting, 97, Amsterdam, Pays Bas, 29/06-03/07/97.

G. BLANC, L. DARRACQ, C. DROUIN, J. GLOWINSKI, J. P. TASSIN, *Blockade by prazosin, an alpha1-adrenergic antagonist, of D-amphetamine-induced behavioural sensitization*. XXXIII IUPS 1997, St Petersburg, Russie, 30/06-05/07/97.

I. MARICS, L. BARRIO, C. GIAUME, T. JARRY-GUICHARD, R. VETEIKIS, D. GROS, *Functionality of the zebrafish connexin Zfcx43.4*. International Gap Junction meeting, 07/97, Miami, USA.

P. MARIN, J. GLOWINSKI, A. C. NAIRN, C. GIAUME, *Glutamate inhibits protein synthesis through phosphorylation of elongation factor-2 in neurons*. Translation, UK 97, Meeting Canterbury, Kent, 27-28/07/97.

C. GAUCHY, F. BLANCHET, J. GLOWINSKI, M. L. KEMEL, P. SOUBRIE, *Modifications by the NK1, NK2 and NK3 tachykinin antagonists (SR140333, SR142801, respectively) of the NMDA-evoked release of (3H)acetylcholine in striatal compartments of the rat*. ISN/ASN 97 meeting, Boston, Mass, USA, 20-26/07/97.

J. GLOWINSKI, *Some new insights about glutamatergic transmission in the striatum*. Jubilé L. Tauc, Paris, 25-26/09/97.

J. A. GIRAULT, M. MENEGOS, M. LE BERT, T. GALVEZ, F. BURGAYA, F. ARNOS, C. PALFREY, P. EZAN, P. GASPAS, *Paranodin a neuronal glycoprotein enriched in paranodes and binding protein 4.1*. Society for Neuroscience, New Orleans, USA, 25-30/10/97.

N. MAURICE, J. M. DENIAU, A. MENETREY, J. GLOWINSKI, A. M. THIERRY, *Position of the subthalamic nucleus in the rat prefrontal cortex-basal ganglia circuit*. Society for Neuroscience, New Orleans, USA, 25-30/10/97.

M. L. KEMEL, F. BLANCHET, S. PEREZ, C. GAUCHY, J. GLOWINSKI, *Opposite regulations by released GABA and neurokinin A of the inhibitory dopaminergic control of the NMDA-compartments of the rat*. Society for Neuroscience, New Orleans, USA, 25-30/10/97.

A. M. THIERRY, J. M. DENIAU, N. MAURICE, A. MENETREY, J. GLOWINSKI, *Anatomical and functional relationships between the prefrontal cortex and the basal ganglia in the rat*. 18th EWCBR, Arc 2000, 07-14/03/98.

J. GLOWINSKI, *Relations astrocyto-neurales dans le striatum : Rôle de l'acide arachidonique*. Société Française de Pharmacologie, Nancy, 23-25 mars 1998.

S. DESAGHER, J. GLOWINSKI, J. PREMONT, *Atrocytes protect neurons from hydrogen peroxide toxicity*. 5th Europ. Meeting on glial cells, Athènes, 06-10/05/98.

B. HAMON, J. GLOWINSKI, C. GIAUME, *Gap junction-mediated intercellular diffusion of neurobiotin in glial cells recorded from acute slices of rat striatum*. 5th Europ. Meeting on glial cells, Athènes, 06-10/05/98.

C. GIAUME, *Inhibition by the endogenous cannabinoid anandamide of gap junctional communication and calcium waves propagation in striatal astrocytes : a receptor-mediated process*. Gap junctions 98, Rio, Brésil, 06-11/06/98

LISTE DES DIPLÔMÉS — 1997-1998.

DESAGHER Solange :

Interactions astrocyto-neurales dans les mécanismes de neuro-protection contre le stress oxydatif.

Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI, soutenue le 22 septembre 1997.

DOBBERTIN Alexandre :

Mécanismes de régulation de la prolifération des macrophages dans le SNC. Rôles de cytokines produites par les neurones et les cellules gliales.

Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI, soutenue le 27 novembre 1997.

MAILLY Franck (sous la direction de J. Prémont) :

Étude de la neurotoxicité de l'eau oxygénée.

DEA de Pharmacologie moléculaire et cellulaire, option Neurobiologie, Univ. P. et M. Curie, sept. 1997.

GALVEZ Thierry (sous la direction de J.A. Girault) :

Interaction du domaine intracellulaire de la paranodine avec les protéines à domaine 4.1.

DEA de Pharmacologie moléculaire et cellulaire, option Neurobiologie, Univ. P. et M. Curie, sept. 1997.

FORMSTECHEUR Étienne (sous la direction de H. Chneiweiss) :

Recherche des partenaires de PEA-15.

DEA de Pharmacologie moléculaire et cellulaire, option Neurobiologie, Univ. P. et M. Curie, sept. 1997.

LEPOUSE Claire (sous la direction de A. M. Thierry) :

Étude neuropharmacologique de l'innervation cholinergique du cortex préfrontal chez le rat.

DEA de Neurosciences, Université P. & M. Curie Paris VI, sept. 1997.

DROUIN Candice (sous la direction de J. P. Tassin) :

Rôle des neurones noradrénergiques dans les effets comportementaux de l'amphétamine et de la morphine.

DEA de Neurosciences, Université P. & M. Curie Paris VI, sept. 1997.