

Neuropharmacologie

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

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

Séminaires-Symposium :

« LE CORTEX PRÉFRONTAL :
PROPRIÉTÉS ANATOMO-FONCTIONNELLES ET ASPECTS CLINIQUES »

Jacques GLOWINSKI

Présentation

Bruno DUBOIS (INSERM EPI 07, Pitié Salpêtrière, Paris)

L'intégrateur frontal

Organisation anatomique du cortex préfrontal

Henk GROENEWEGEN (Dept Anatomie, Vrije Univ. Amsterdam)

The prefrontal cortex and the integration of sensory and limbic information

Catherine LEMOINE (UMR 5541, Univ. Victor Segalen, Bordeaux)

Innervation dopaminergique et expression des récepteurs de la dopamine dans le cortex préfrontal du rat et des primates

Neurones du cortex préfrontal : propriétés fonctionnelles et modulations par la transmission dopaminergique

Francis CREPEL (IDN-CNRS, Univ. Paris 6)

Modulation de la plasticité synaptique des neurones préfrontaux par la dopamine, les récepteurs métabotropiques du glutamate et les cannabinoïdes

Yves GIOANNI (INSERM U.114, Collège de France, Paris)

Caractéristiques électrophysiologiques des neurones du cortex préfrontal in vivo et influence synaptique de l'hippocampe

Thérèse JAY (CNRS URA 1491, Orsay)

Plasticité synaptique de la voie hippocampe-cortex préfrontal et modulation par la transmission dopaminergique

Cortex préfrontal : motivation et processus de pharmacodépendance

Anne-Marie THIERRY (INSERM U.114, Collège de France, Paris)

Relations fonctionnelles entre le cortex préfrontal, le striatum ventral et les systèmes dopaminergiques

Jean-Pol TASSIN (INSERM U.114, Collège de France, Paris)

Cortex préfrontal et processus de sensibilisation

Martine CADOR (CNRS UMR 5541, Univ. Bordeaux 2, Bordeaux)

Cortex préfrontal et addiction

Cortex préfrontal et fonctions cognitives

Pascale GISQUET-VERRIER (CNRS UMR 8260, Orsay)

Fonctions cognitives du cortex préfrontal chez le rat

Alain BERTHOZ (LPPA, CNRS UMR 9950, Collège de France, Paris)

Rôle du cortex préfrontal dans le contrôle des saccades oculaires : étude en IRM fonctionnel

Cortex préfrontal : Aspects cliniques

Richard LEVY (INSERM U.289, Pitié Salpêtrière, Paris)

Le cortex préfrontal : du singe à l'homme

Serge BAKCHINE (Serv. Neurologie, Hôp. Maison Blanche, Reims)

Des fonctions linguistiques moins connues du cortex préfrontal : compréhension syntaxique et programmation articulatoire

Chris FRITH (Wellcome Dept Cognitive Neurology, Univ. London, UK)

The functions of prefrontal cortex : evidence from neuroimaging

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE NEUROPHARMACOLOGIE
(INSERM U.114)

1. PROPRIÉTÉS DES CIRCUITS INTÉGRÉS SOUMIS AUX RÉGULATIONS
DES SYSTÈMES ASCENDANTS DOPAMINERGIQUES

1.1. RELATIONS ANATOMO-FONCTIONNELLES ENTRE LE CORTEX CÉRÉBRAL
ET LES GANGLIONS DE LA BASE
(Responsable de l'équipe : Anne-Marie Thierry)

1.1.1. *Organisation fonctionnelle des relations entre le cortex cérébral
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. Ainsi, des régions fonctionnellement distinctes du cortex cérébral innervent des territoires distincts du striatum. Cette ségrégation est préservée dans les projections du striatum sur les structures de sortie des ganglions de la base qui en retour innervent les régions corticales d'origine via les noyaux thalamiques. Le striatum innerve les structures de sortie par une voie directe et une voie indirecte qui impliquent le pallidum et le noyau sous-thalamique (STN). Le STN reçoit également des afférences corticales directes et peut donc être considéré, au même titre que le striatum, comme une structure d'entrée des ganglions de la base. Si les afférences corticales qui innervent le striatum sont issues de l'ensemble du cortex cérébral, celles qui se projettent dans le STN proviennent uniquement des cortex préfrontal et moteur.

Différentes données ont permis d'établir que la ségrégation du traitement des informations issues de régions corticales est préservée au niveau de la voie directe qui relie le striatum aux structures de sortie des ganglions de la base. Toutefois, l'existence d'une telle ségrégation restait largement controversée pour les voies trans-subthalamiques. Nous avons donc analysé les réponses synaptiques des neurones du SNT évoquées par la stimulation électrique des cortex préfrontal, moteur, orofacial ou auditif à l'aide d'enregistrements unitaires extracellulaires chez le rat anesthésié. Les stimulations des cortex préfrontal et moteur induisent dans les deux cas deux réponses excitatrices, l'une à courte latence et l'autre à longue latence qui résultent respectivement de l'activation de la voie cortico-STN directe et du circuit cortico-striato-pallido-STN via un processus de désinhibition. Les cellules répondant à la stimulation des cortex préfrontal et moteur sont situées respectivement dans les régions médiane et plus latérales du STN. Une réponse excitatrice de longue latence est enregistrée dans les neurones de la partie ventrale du STN et sur toute son extension médio-latérale lors de la stimulation du cortex auditif qui à l'inverse des deux autres aires corticales n'innerve pas directement le STN. Parmi les cellules répondant respectivement

aux stimulations des cortex préfrontal ($n = 77$), moteur ($n = 277$) et auditif ($n = 87$), 19 cellules répondent à la fois aux stimulations des cortex préfrontal et moteur, 10 à celles des cortex préfrontal et auditif et, enfin, 48 à celles des cortex moteur et auditif. De ce fait, la ségrégation des informations corticales n'est que partiellement préservée au niveau du STN et une certaine convergence des informations issues de régions corticales fonctionnellement distinctes intervient dans le circuit indirect striato-pallido-STN (Bogdan Kolomijets, en collaboration avec J.M. Deniau, Institut des Neurosciences, Université Paris VI).

1.1.2. *Influence synaptique de l'hippocampe sur le cortex préfrontal*

Nous avons mis en évidence l'existence d'une projection directe glutamatergique issue des régions CA1/subiculum de l'hippocampe sur les aires PL/MO du cortex préfrontal chez le rat. De fait, la stimulation de l'hippocampe évoque une réponse excitatrice suivie d'une inhibition prolongée de l'activité des cellules corticales. Par des enregistrements intracellulaires *in vivo*, couplés à l'injection intracellulaire de neurobiotine, nous avons pu montrer que les différentes classes de cellules pyramidales (caractérisées par leur modalité de décharge évoquée par l'application intracellulaire d'un courant dépolarisant) des aires PL/MO présentent une réponse synaptique complexe lors de la stimulation de l'hippocampe. Ces réponses sont constituées d'un EPSP suivi d'un IPSP de longue durée comprenant deux composantes.

La caractérisation de ces réponses a été poursuivie. Nous avons ainsi observé que la résistance membranaire des cellules corticales diminue lors de l'EPSP et du premier IPSP suggérant la mise en jeu dans ces réponses de synapses localisées sur le soma ou sur des dendrites proximaux. Des synapses localisées dans les régions dendritiques distales interviennent dans le second IPSP car la résistance membranaire n'est pas modifiée. L'EPSP est monosynaptique car sa latence qui est compatible avec le temps de conduction de la voie hippocampe-cortex préfrontal ne varie pas avec l'intensité de stimulation de l'hippocampe. Les potentiels d'inversion des deux IPSP suggèrent l'intervention de récepteurs GABA_A et GABA_B et la mise en jeu directe ou indirecte (par activation de collatérales récurrentes des cellules pyramidales) des interneurons corticaux. Les effets de la stimulation en double choc de l'hippocampe sur les différentes composantes de la réponse synaptique corticale ont également été étudiés. Une augmentation de l'amplitude de l'EPSP a été observée dans environ la moitié des cas pour des intervalles inter-chocs compris entre 80 et 300 ms, l'amplitude de l'EPSP étant diminuée dans les autres cas. Ainsi, dans ces conditions expérimentales, il est possible d'induire une facilitation ou une dépression à court terme de la transmission synaptique excitatrice de la voie hippocampe-cortex préfrontal. Par contre, l'amplitude des composantes inhibitrices n'est pas ou peu modifiée lors de la stimulation en double choc de l'hippocampe (Yves Gioanni, Éric Dégénétais).

1.2. CIRCUITS LOCAUX DES COMPARTIMENTS STRIATAUX : RÉGULATION DE LA LIBÉRATION DE L'ACÉTYLCHOLINE ÉVOQUÉE PAR LA STIMULATION DES RÉCEPTEURS NMDA DANS LES STRIOSOMES ET LA MATRICE DU STRIATUM DU RAT (Responsable de l'équipe : Marie-Lou Kemel)

Nous avons poursuivi nos études *in vitro* sur le rôle des tachykinines dans le contrôle de la libération évoquée de l' [³H]-acétylcholine (ACh, préalablement marquée à l'aide de [³H]-choline) à partir des interneurons cholinergiques du striatum du rat.

Précédemment, nous avons montré que les tachykinines ne sont libérées à partir des collatérales des neurones efférents GABAergiques que lors d'une forte stimulation des récepteurs NMDA effectuée en l'absence de magnésium et que ces peptides (la substance P (SP) et la neurokinine A (NKA), notamment) exercent une action inhibitrice indirecte sur la libération de l'ACh dans les deux compartiments striataux (les striosomes et la matrice). Cette inhibition résulte d'une facilitation de la libération évoquée de dopamine qui exerce un puissant contrôle inhibiteur sur l'activité des interneurons cholinergiques via la stimulation de récepteurs D2. Nous avons aussi observé uniquement dans la matrice qu'une régulation opposée des tachykinines (SP, NKA et neurokinine B (NKB)) sur la libération de l'ACh (facilitation) intervient en absence du contrôle dopaminergique inhibiteur. Ces expériences avaient été effectuées en utilisant des antagonistes sélectifs des récepteurs des tachykinines de type NK1 (SR140333), NK2 (SR48968) ou NK3 (SR142801) afin de mettre en évidence le rôle des tachykinines endogènes dans ces régulations. Deux conditions expérimentales de stimulation des récepteurs NMDA excluant la régulation dopaminergique inhibitrice avaient été choisies : 1mM NMDA ou 1 mM NMDA et 10 mM de D-serine en présence d'alpha-méthyl-paratyrosine, l'inhibiteur de la synthèse de dopamine.

1.2.1. *Rôle des tachykinines dans la régulation de la libération de l'acétylcholine évoquée par le NMDA en l'absence de régulation dopaminergique inhibitrice des neurones cholinergiques*

Dans le striatum, seuls les interneurons cholinergiques et ceux riches en somatostatine possèdent des récepteurs NK1. Ainsi, l'effet facilitateur de la SP sur la libération évoquée de l'ACh qui intervient uniquement dans la matrice et en l'absence du contrôle dopaminergique inhibiteur pourrait être direct alors que les réponses médiées par la NKA et la NKB impliquant respectivement des récepteurs NK2 et NK3 seraient indirectes. Cela a été confirmé par des données complémentaires.

En effet, dans les conditions expérimentales décrites ci-dessus, c'est-à-dire en l'absence du contrôle dopaminergique inhibiteur, les co-applications des antagonistes NK1 (SR140333, 0.1 µM) et NK2 (SR48968, 0.1 µM) ou NK1 (SR140333, 0.1 µM) et NK3 (SR142801, 0.1 µM) provoquent des réductions de la libération de l'ACh évoquée par une forte stimulation des récepteurs NMDA bien plus

importantes que celles observées en présence de l'un ou l'autre des antagonistes. Cela suggère que les réponses médiées par les récepteurs NK1 et NK2 ou NK1 et NK3 impliquent des mécanismes différents. Par contre, une réponse identique à celle induite par chacun des antagonistes intervient lors de la co-application des antagonistes NK2 (SR48968) et NK3 (SR142801) suggérant l'intervention d'un mécanisme commun.

Les interneurons riches en somatostatine sont les seuls à posséder l'enzyme de synthèse de l'oxyde nitrique (NO), la NADPH diaphorase. Selon des études *in vivo* effectuées par d'autres auteurs, le NO est responsable de l'effet facilitateur de la NKA sur la libération de l'ACh. Confirmant ces données, en l'absence du contrôle inhibiteur dopaminergique, l'application locale de N^G-monométhyl-L-arginine (L-NMMA, inhibiteur de la synthèse du NO) provoque une réduction concentration-dépendante (0.1 μ M à 5 μ M) de la libération évoquée de l'ACh. Cela confirme que le NO intervient dans la régulation de la libération de l'ACh évoquée par la stimulation des récepteurs NMDA. En présence de L-NMMA (0.1 μ M, 1 μ M), l'effet inhibiteur du SR140333 sur la libération de l'ACh est préservé alors que les réponses induites par le SR48968 ou le SR142801 sont supprimées. Ainsi, l'effet facilitateur de la SP sur la libération évoquée de l'ACh est direct et indépendant de la présence du NO. Par contre, les effets facilitateurs de la NKA et de la NKB semblent être indirects et nécessiter la présence du NO qui pourrait être le maillon commun nécessaire aux régulations mises en jeu par ces deux peptides (M.L. Kemel, S. Pérez, F. Artaud, G. Godeheu).

1.2.2. Analyse des sous-types de récepteurs NK1 impliqués dans les régulations de la libération de l'acétylcholine évoquée par le NMDA dans les compartiments du striatum

Dans le laboratoire, l'équipe de J.C. Beaujouan a mis en évidence dans le cerveau du rat l'existence de deux sous-populations de sites NK1 distincts des récepteurs NK1 classiques dans des études de liaison effectuées avec le dérivé iodé radioactif de la NKA. L'un de ces sous-types correspond aux sites « septide-sensible » que nous avons décrit précédemment dans des tissus périphériques et l'autre se distingue de ce dernier par sa faible affinité pour certains agonistes (SP (6-11) et ALIE-124) et antagonistes (RP67580 et GR82334) des récepteurs NK1. L'intervention éventuelle de ces sous-types de récepteurs NK1 dans les régulations de la libération de l'ACh évoquée par le NMDA a donc été recherchée dans les striosomes et la matrice. Rappelons que la stimulation des récepteurs NK1 par la SP endogène provoque d'une part dans les striosomes, une inhibition indirecte de la libération de l'ACh médiée par la dopamine, et d'autre part uniquement dans la matrice, une facilitation de la libération de l'ACh en l'absence du contrôle inhibiteur dopaminergique sur les neurones cholinergiques. L'analyse des sous-types de récepteurs NK1 mis en jeu dans ces régulations a été effectuée à l'aide d'antagonistes des récepteurs NK1, le SR140333, le GR205171, le RP67580 et le GR82334.

Dans les striosomes, les effets facilitateurs du NMDA sur la libération de l'ACh sont très augmentés en présence de SR140333, de RP67580, de GR205171 ou de GR82334 (0.1 μ M et 0.1 nM) et ces augmentations ne sont plus observées en l'absence du contrôle dopaminergique confirmant ainsi que les effets inhibiteurs de la SP endogène sont indirects et médiés par une facilitation de la transmission dopaminergique inhibitrice. Des récepteurs NK1 classiques ou des récepteurs NK1 de type « septide » pourraient être impliqués dans cette réponse puisque tous les antagonistes NK1 sont efficaces. Dans la matrice, en présence du contrôle dopaminergique, ces antagonistes des récepteurs NK1 ne provoquent pas de modification notable de la libération de l'ACh. Par contre, en absence du contrôle inhibiteur dopaminergique, les effets facilitateurs du NMDA sur la libération de l'ACh sont réduits en présence du SR140333 ou du GR205171 (0.1 μ M) mais pas en présence du RP67580 ou du GR82334 (0.1 μ M et 10 nM). Cette différence dans l'efficacité des antagonistes suggère l'implication de sous-types de récepteurs NK1 peu sensibles à certains antagonistes et notamment au RP67580 ou au GR82334 (M.L. Kemel, S. Pérez, G. Godeheu, F. Artaud).

1.3. RÔLE DES SYSTÈMES DOPAMINERGIQUES ASCENDANTS ISSUS DE L'AIRE
TEGMENTALE VENTRALE DANS LES PROCESSUS DE PHARMACODÉPENDANCE :
EFFET PERMISSIF DES NEURONES NORADRÉNERGIQUES ASCENDANTS
(Responsable de l'équipe : Jean-Pol Tassin)

1.3.1. *Intervention des efférences glutamatergiques et des récepteurs
 α 1-adrénergiques corticaux dans le contrôle de la libération fonctionnelle
de dopamine au niveau du striatum*

En utilisant la méthode de microdialyse chez des rats libres de leurs mouvements, nous avons montré que l'augmentation de la concentration extracellulaire de dopamine dans le noyau accumbens induite par la D-amphétamine correspond à une libération fonctionnelle, associée à la présence d'une hyperactivité locomotrice mais également, et pour une large part, à une libération non fonctionnelle. Des injections bilatérales de prazosin (antagoniste α 1 adrénergique) dans le cortex préfrontal ou une perfusion bilatérale d'un antagoniste des récepteurs métabotropiques du glutamate (MCPG) dans le noyau accumbens bloquent la libération de dopamine fonctionnelle et l'hyperactivité locomotrice induites par la D-amphétamine. Des mécanismes semblables semblent intervenir dans le striatum car l'injection systémique de D-amphétamine (1mg/kg, i.p.) induit une libération fonctionnelle de dopamine dans cette structure qui peut être bloquée par le prazosin (0,5 mg/kg, i.p.) et par une perfusion locale de l'antagoniste métabotrope (MCPG, 10 mM) alors que les antagonistes des récepteurs ionotropiques du glutamate (APV, 500 μ M, CNQX, 300 μ M) sont sans effet. Inversement, l'activation des neurones noradrénergiques du locus coeruleus par l'efaroxan, un antagoniste α 2-adrénergique qui bloque les autorécepteurs, facilite la libération de dopamine évoquée par la D-amphétamine, cet effet étant de faible ou de forte

amplitude selon que l'antagoniste (0,63 mg/kg, i.p.) est injecté à la périphérie ou bilatéralement dans le locus coeruleus (Laurent Darracq, Gérard Blanc et Jean-Pol Tassin).

1.3.2. L'expression de la potentialisation à long terme hippocampe-cortex préfrontal nécessite le système dopaminergique méso-cortical

Le cortex préfrontal reçoit des afférences dopaminergiques originaires de l'aire tegmentale ventrale et des afférences excitatrices de l'hippocampe. Ces deux types d'afférences contactent les épines dendritiques des cellules pyramidales des couches V et VI. Nous avons montré que la potentialisation à long terme hippocampe-cortex cérébral est accrue par une stimulation de l'aire tegmentale ventrale qui induit une libération de dopamine dans le cortex préfrontal. Inversement, la lésion électrolytique de ces neurones dopaminergiques ascendants réduit l'amplitude de cette potentialisation à long terme, cette diminution étant particulièrement prononcée lorsque les taux de dopamine corticaux sont réduits de plus de 50 %. De plus, les animaux présentant une forte réduction de la potentialisation à long terme sont ceux dont l'hyperactivité locomotrice induite par la lésion de l'aire tegmentale ventrale est la plus intense. Ainsi, confirmant le rôle régulateur de la dopamine dans les processus cognitifs, la dopamine corticale exerce un effet permissif sur la potentialisation à long terme hippocampe-cortex préfrontal (J.P. Tassin en collaboration avec H. Gurden, T.M. Jay).

1.3.3. Étude de l'effet du prazosin sur l'auto-administration de morphine par voie intraveineuse chez le rat

Nous avons montré chez le rat qu'à la suite de la stabilisation du comportement d'auto-administration de la morphine, l'administration de clomipramine ralentit la reprise de la substance addictive au cours des séances suivantes et que la fluoxétine n'a pas le même effet. Cette différence d'action de ces deux antidépresseurs pourrait résulter de l'effet additionnel antagoniste de la clomipramine vis-à-vis des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques. Confirmant cette hypothèse, le prazosin, un antagoniste $\alpha 1$ -adrénergique, bloque l'hyperactivité locomotrice induite non seulement par l'amphétamine mais aussi par la morphine. Ces données suggèrent que les neurones noradrénergiques ascendants exercent un rôle permissif dans les effets dopaminergique-dépendants de la morphine et sont en accord avec nos autres observations indiquant que la stimulation des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques corticaux facilite la libération fonctionnelle de dopamine dans les structures sous-corticales. Le prazosin diminue également le comportement d'auto-administration de la morphine car l'appétence des rats pour la morphine est réduite (30 %) de façon réversible non seulement lorsque ce comportement d'auto-administration est en cours d'établissement mais également lorsqu'il est déjà complètement acquis (Étude effectuée en collaboration avec Denis Brochet

et Fabrice Trovero, Laboratoires Psy-Pharm dans le cadre d'un contrat MILDT et INSERM, appel d'offres sur la toxicomanie).

1.3.4. *Analyse des effets comportementaux communs aux opiacés et aux psycho-stimulants chez des souris dépourvues de récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques*

Pour de nombreux auteurs, les processus de dépendance (homme) et l'hyperactivité locomotrice (rongeurs) induits par les psycho-stimulants (amphétamine ou cocaïne) ou les opiacés (héroïne ou morphine) résultent d'une augmentation de la libération fonctionnelle de dopamine dans le noyau accumbens. Toutefois, comme nous l'avons déjà souligné, la libération fonctionnelle de dopamine évoquée par ces différents agents pharmacologiques nécessite une stimulation concomitante des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques localisés dans le cortex préfrontal. Ces données ont pu être confirmées à l'aide de souris dépourvues de récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques (fournies par S. Cotecchia, Université de Lausanne) car l'hyperactivité locomotrice évoquée par des injections de D-amphétamine (2 mg/kg), de cocaïne (15 mg/kg ; -91 %) ou de morphine (7,5 mg/kg) est fortement réduite (70 à 90 %) chez les souris mutées par rapport à celle des animaux contrôles. Des observations analogues ont été effectuées pour chacun de ces produits dans des études dose-réponse et de plus, les activités locomotrices des souris sauvages ayant reçu des injections de prazosin (1 mg/kg, i.p.) sont identiques à celles des animaux mutés. Par ailleurs, ces souris mutées ne présentent pas de phénotype particulier mais leur pression artérielle est moins sensible à l'injection de phényléphrine, un agoniste $\alpha 1$ -adrénergique. De plus, les activités exploratoire et locomotrice induites par une injection de sérum physiologique ainsi que l'hyperactivité locomotrice évoquée par la scopolamine, un antagoniste muscarinique (1 mg/kg, i.p.), sont identiques chez les animaux mutés et les témoins. Ces résultats confirment l'intervention des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques dans les phénomènes de dépendance et suggèrent que les systèmes noradrénergiques, qui sont très réactifs aux situations environnementales, contribuent de façon importante aux variabilités de sensibilité individuelle vis-à-vis des produits toxicomanogènes (Candice Drouin, Laurent Darracq, Gérard Blanc, Jean-Pol Tassin).

2. COMMUNICATION JONCTIONNELLE DANS LES RÉSEAUX ASTROCYTAIRES ET NEURONAUX

(Responsable de l'équipe : Christian Giaume)

2.1. RÉGULATION PAR LES NEURONES DES COMMUNICATIONS JONCTIONNELLES ASTROCYTAIRES

Par leurs jonctions communicantes (gap junctions) les astrocytes présentent une organisation de type syncytiale. Précédemment, en utilisant des cultures astrocytaires, nous avons montré que cette communication jonctionnelle est régulée par des neurotransmetteurs, hormones ou des peptides mais également par

des substances exogènes telles que les alcools ou les anesthésiques. Plus récemment, à l'aide de différents modèles de cocultures, nous avons également mis en évidence que les neurones facilitent la communication jonctionnelle astrocytaire. Produit dans les neurones lors de la stimulation de certains récepteurs et diffusant à travers les membranes plasmiques, l'acide arachidonique, qui inhibe la perméabilité des jonctions « gap » astrocytaires, intervient dans cette interaction neuro-astrocytaire. Cela a été démontré à l'aide de cocultures neuro-astrocytaires (obtenues à partir du striatum de l'embryon de rat) en stimulant simultanément les récepteurs du glutamate de type NMDA spécifiquement exprimés dans les neurones et les récepteurs muscariniques par une co-application de NMDA et de carbachol (agoniste muscarinique), traitement qui conduit par des processus synergiques à une formation importante d'acide arachidonique. Dans ces conditions, la perméabilité des jonctions communicantes astrocytaires est fortement inhibée et cette inhibition est supprimée en présence d'inhibiteurs de la phospholipase A2 ou lors de l'élimination de l'acide arachidonique formé par adsorption sur la sérum albumine. Cette régulation qui ne s'observe que sur des co-cultures neuro-astrocytaires mais pas sur des cultures pures d'astrocytes indique que les jonctions communicantes constituent une des cibles des interactions neurone-glie et que les neurones régulent les échanges entre les astrocytes (Nathalie Rouach, Martine Tencé).

2.2. CARACTÉRISATION DES COMMUNICATIONS JONCTIONNELLES ASTROCYTAIRES DE LA RÉGION CA1 DE L'HIPPOCAMPE DE RAT

Les endothélines sont des peptides endogènes connus pour leur action vasoconstrictrice. En utilisant des cultures primaires astrocytaires (striatum de rat) nous avons montré que ces peptides synthétisés dans les astrocytes et les neurones inhibent fortement la perméabilité jonctionnelle dans des cultures primaires d'astrocytes. Afin de démontrer que cette inhibition peut également intervenir *in vivo*, nous avons utilisé des tranches d'hippocampe de rat et effectué des enregistrements en patch-clamp sur les astrocytes identifiés selon des critères électrophysiologiques et morphologiques, la pipette d'enregistrement contenant de la biocytine qui diffuse et permet de colorer les cellules. La région CA1 de l'hippocampe constitue un excellent modèle d'étude du « couplage » astrocytaire car la diffusion intercellulaire de biocytine est détectée dans plus d'une centaine de cellules ayant des caractéristiques morphologiques astrocytaires. Ce réseau astrocytaire qui constitue un réseau syncytial étendu et homogène directement au contact des neurones et des vaisseaux sanguins ne semble pas être restreint à une sous-région de l'hippocampe. Ce couplage diffusif est considérablement réduit lors de l'application des deux isoformes de l'endothéline (endothéline-1 et -3). Nous avons aussi montré dans des études complémentaires que l'endothéline-1 provoque une déphosphorylation de la connexine 43, une sous-unité protéique majoritaire des canaux jonctionnels astrocytaires, ce qui est en accord avec des données d'autres auteurs indiquant que la forme déphosphorylée de la

connexine-43 ne permet pas la formation de canaux jonctionnels fonctionnels (Fredrik Blomstrand, Anne-Marie Godeheu).

2.3. ÉTUDE DES JONCTIONS COMMUNICANTES NEURONALES DU STRIATUM DE RAT

Le striatum constitue un modèle de choix pour l'étude des jonctions communicantes neuronales et de leur contribution dans des situations physio-pathologiques. En effet, les neurones (gabaergiques) efférents épineux de taille moyenne (NETM) qui représentent la population neuronale majoritaire du striatum, sont couplés par des jonctions « gap ». Ces communications jonctionnelles ont donc été étudiées sur des tranches de cerveaux de jeunes rats à l'aide de la technique de patch-clamp combinée avec l'étude de la diffusion intercellulaire de biocytine. L'incidence de couplage entre NETM est élevée au cours des deux premières semaines de développement et diminue par la suite (70 % à P5 et 25 % à P25). Ce couplage disparaît lors de l'application de carbenoxolone et d'halothane, deux agents découplant des canaux jonctionnels. La composition moléculaire de ces canaux jonctionnels des neurones striataux a été ensuite analysée par la technique de RT-PCR sur cellule unique combinée à des enregistrements électrophysiologiques. Cette étude a déjà permis de montrer que les ARN messagers des connexines 36 et 32 pouvaient être détectés dans 15 % et 19 %, respectivement des neurones enregistrés (n = 26). Cette analyse indispensable de la composition moléculaire des canaux jonctionnels des NETM sera poursuivie en recherchant si ces neurones possèdent également d'autres connexines, telles que les connexines 26, 40, 43 et 45 qui ont été identifiées dans le cerveau (Laurent Venance).

2.4. EFFETS MULTIPLES DE L'ACIDE LYSOPHOSPHATIDIQUE ET DE LA SPHINGOSINE-1-PHOSPHATE SUR LES ASTROCYTES DU STRIATUM

Les astrocytes sont des cibles de l'acide lysophosphatidique (LPA) et de la sphingosine-1-phosphate (S1P), deux messagers lipidiques d'origine plaquettaire libérés au niveau de sites inflammatoires lors de lésions vasculaires. En effet, précédemment nous avons montré que les astrocytes striataux contiennent les ARN messagers de certains des récepteurs de ces deux médiateurs (Edg-1 et Edg-3 mais pas Edg-5), qu'ils répondent au LPA et à la S1P par l'activation de plusieurs cascades de signalisation intracellulaire et enfin qu'ils prolifèrent lorsqu'ils sont stimulés par la S1P mais pas par le LPA. D'autres données concernant les modalités d'action de ces messagers lipidiques sur les astrocytes striataux ont été obtenues. Ainsi la capture du glutamate n'est pas affectée par ces lipides. Par contre, la perméabilité des jonctions communicantes de type « gap » est fortement inhibée par la S1P et dans une moindre mesure par le LPA (Martine Tencé, Alice Pébay, Jocelyne Cordier, en collaboration avec Madeleine Toutant, Joël Prémont, Charles-Felix Calvo, Christian Giaume et Nathalie Rouach).

3. RELATIONS ASTROCTYTO-NEURONALES : PROCESSUS DE NEUROTOXICITÉ ET RÉPONSE ASTROCYTAIRE AUX SITUATIONS D'AGRESSION

3.1. RÉGULATION DES SYSTÈMES DE TRANSDUCTION ASSOCIÉS À CERTAINS RÉCEPTEURS MEMBRANAIRES. PROCESSUS DE NEUROTOXICITÉ (Responsable de l'équipe : Joël Prémont)

Les travaux de l'équipe se sont poursuivis dans trois directions : analyse des effets neurotoxiques de l'eau oxygénée et du zinc et de l'action de ces agents sur la synthèse protéique, analyse des facteurs pouvant intervenir dans les processus de chimioattraction des macrophages et enfin identification de certains sous types de récepteurs NK1 des tachykinines.

3.1.1. *Effet inhibiteur de l'eau oxygénée sur la synthèse protéique neuronale*

Ces dernières années, en utilisant des cultures neuronales du cortex cérébral ou du striatum du souris, nous avons montré que les trois principaux agents neurotoxiques, le glutamate, le zinc et l'eau oxygénée provoquent la mort neuronale par un mécanisme mettant en jeu une libération de glutamate endogène et l'activation retardée de récepteurs NMDA. Nous avons aussi observé que le glutamate et le zinc inhibent la synthèse protéique par des mécanismes distincts : ralentissement par un processus calcium-dépendant de l'étape d'élongation du processus de traduction (glutamate) et diminution de l'étape d'initiation via la phosphorylation de la sous-unité alpha du facteur d'initiation eIF-2 (zinc). L'effet de l'eau oxygénée sur la synthèse protéique a donc été étudié dans les neurones du cortex cérébral du cerveau d'embryons de souris.

Rappelons que l'exposition de neurones de cortex cérébral de souris en culture primaire à l'eau oxygénée (100 μ M) pendant 30 minutes provoque 24 heures plus tard une mort neuronale par apoptose. L'utilisation d'une sonde calcique fluorescente, le FLUO-3, a permis de montrer que l'eau oxygénée (traitement de 15 à 60 min) induit dans les premières minutes une mobilisation du calcium stocké dans le réticulum endoplasmique, cette mobilisation n'étant plus visible lorsque la cellule est prétraitée avec de la thapsigargine, un inhibiteur de la calcium ATPase du réticulum endoplasmique. Pour un traitement compris de 15 à 60 minutes, l'eau oxygénée (100 μ M) induit un influx de calcium qui augmente progressivement et cet effet est associé à une diminution simultanée de la synthèse protéique, celle-ci devenant presque nulle à la fin du traitement. Dans ces conditions, pendant les 15 premières minutes, le facteur d'élongation eEF-2 est phosphorylé et semble être responsable de l'inhibition partielle de la synthèse protéique. Par contre, de 15 à 60 minutes après le début du traitement avec l'eau oxygénée, le facteur d'initiation eIF-2alpha est également phosphorylé ce qui suggère que les étapes (initiation et élongation) sont impliquées dans les effets observés. Cette inhibition importante de synthèse protéique ne résulte pas de

l'effet neurotoxique de l'eau oxygénée puisqu'elle n'est pas sensible à l'action neuroprotectrice des antagonistes NMDA (Mehrdad Alirézaei).

3.1.2. *Effet inhibiteur du zinc sur la synthèse protéique astrocytaire*

Le zinc inhibe la synthèse protéique dans les astrocytes corticaux selon des modalités cinétiques comparables à celles observées dans les neurones, cette réponse étant déjà visible à la concentration de 10 μM et pendant les dix premières minutes. L'effet du zinc est accru en présence de pyrithione, un ionophore spécifique du zinc, suggérant une action du zinc sur une cible intracellulaire. À l'inverse de ce qui est observé dans les neurones, le retrait du zinc du milieu d'incubation n'est pas suivi d'une reprise de la synthèse protéique pendant les deux heures qui suivent. L'une des premières conséquences fonctionnelles de cette inhibition résulte de l'inhibition de synthèse des protéines présentant une vitesse de renouvellement élevée. C'est ainsi que nous avons pu montrer que la connexine 43 (principale protéine constitutive des jonctions communicantes astrocytaires dont la demi-vie est de deux heures environ) disparaît progressivement pendant les vingt-quatre heures qui suivent le prétraitement des astrocytes par le zinc, cette disparition étant comparable à celle induite par un inhibiteur de la synthèse protéique, le cycloheximide (Mehrdad Alirézaei).

3.1.3. *Effet du zinc sur l'induction de la NO synthase par les cytokines dans les astrocytes*

Choi et ses collaborateurs avaient montré que l'expression de NO synthase était accrue lorsque les astrocytes étaient exposés aux cytokines interféron γ et interleukine 1. Ces auteurs avaient suggéré que le NO ainsi produit en grande quantité diffusait dans les neurones exposés au glutamate et se combinait aux anions superoxydes pour former des peroxynitrites particulièrement cytotoxiques. De même, selon d'autres auteurs, l'induction par les cytokines de NO synthase dans des cellules pancréatiques est favorisée par le plomb ou le mercure qui présentent des propriétés chimiques voisines de celles du zinc. Nous avons montré qu'en présence d'interféron γ et d'interleukine 1, l'application de zinc (pendant deux à trois heures) favorise également l'expression de NO synthase dans les astrocytes. L'intervention de ce mécanisme *in vivo* pourrait expliquer la plus grande sensibilité lors d'une ischémie des neurones hippocampiques innervés par des fibres riches en glutamate et zinc. En effet la co-libération prononcée de zinc et de glutamate intervenant dans une telle situation physiopathologique pourrait déclencher un phénomène inflammatoire, puis une libération de cytokines qui à son tour favoriserait une induction de NO synthase astrocytaire conduisant ainsi à une toxicité accrue du glutamate sur les neurones survivants. Cette hypothèse est actuellement vérifiée à l'aide de co-cultures neurone-astrocytes successivement exposées au zinc puis aux cytokines et soumises enfin à une exposition transitoire de glutamate (Mehrdad Alirézaei).

3.1.4. *Recrutement de macrophages dans le SNC au cours du développement*

L'infiltration de précurseurs monocytaires dans le SNC au cours du développement est à l'origine de l'établissement de la population microgliale. Ce phénomène semble impliquer un mécanisme de chimioattraction des macrophages. En effet, à l'aide d'un test de migration des macrophages cérébraux *in vitro*, nous avons montré que des cellules nerveuses embryonnaires de rat relarguent une activité chimioattractante vis-à-vis des macrophages. Cette activité chimioattractante est liée en grande partie à un peptide opiacé de type delta. En effet, un dosage radioimmunologique a permis d'identifier une activité de type Met-enképhaline dans le milieu conditionné de cellules embryonnaires (E17) (en collaboration avec F. Cesselin, INSERM U288). Ce résultat complète nos données précédentes indiquant que des agonistes delta opiacés exercent une activité chimioattractante vis-à-vis des macrophages, que cet effet est bloqué par la naloxone et un antagoniste opiacé de type delta et que les macrophages possèdent des récepteurs opioïdes. Ainsi que le suggèrent des études effectuées sur des milieux conditionnés préparés avec des cellules embryonnaires d'âge différent (E15-21), cette activité chimioattractante qui est présente dans des neurones de différentes structures cérébrales diminue au cours du développement (C.-F. Calvo, M. Gelman).

3.1.5. *Identification de sous-types de récepteurs NK1 dans certaines préparations cellulaires et dans diverses structures cérébrales du rat*

Précédemment, nous avons décrit les caractéristiques cinétiques et pharmacologiques d'un sous-type de sites NK1 (les sites « septide-sensibles ») présents comme les sites NK1 classiques sur les membranes de glandes sous-maxillaires du rat. Ces études avaient été effectuées avec deux radioligands, le [³H]ALIE-124 et la [¹²⁵I]-neurokinine A ([¹²⁵I]-NKA) qui présentent une très faible affinité pour les sites de liaison NK1 classiques et une bonne affinité pour les sites de liaison de type « septide ». Ces sites ont donc été recherchés à l'aide de la [¹²⁵I]-NKA dans diverses préparations contenant des sites NK1 classiques mais dépourvues de récepteurs NK2 et NK3 telles que membranes de cellules CHO transfectées avec le récepteur NK1 de rat, la lignée d'astrocytome humain U 373 MG et les astrocytes corticaux de jeunes souris.

Ces trois préparations possèdent des sites « septide-sensibles » reconnus avec une forte affinité par la [¹²⁵I]-NKA (2 à 5 nM) qui ne se lie qu'à une seule population de sites. De façon semblable à ce qui a été observé sur des membranes de glandes sous-maxillaires, les caractéristiques pharmacologiques de ces sites sont distinctes de celles des sites NK1 classiques sélectivement marqués par le [¹²⁵I]-BHSP. Si la SP et les antagonistes NK1 se fixent avec une très haute affinité sur les deux types de sites NK1, les autres tachykinines endogènes et les molécules de la famille du septide (SP(6-11), ALIE-124, [Lys⁵]NKA(4-10)...) ne reconnaissent que les sites « septide-sensibles ». Les proportions relatives

(rapport des Bmax) des deux sites varient fortement d'un type cellulaire à l'autre ce qui n'est pas en faveur de la présence de ces deux types de sites sur une même molécule réceptrice mais suggère l'existence dans ces différentes préparations de deux isoformes ou de deux conformations distinctes du récepteur NK1.

Des études de liaison de la [¹²⁵I]-NKA ont été également effectuées sur des membranes de différentes structures cérébrales du rat en présence de SR48968 (antagoniste NK2) et de senktide (agoniste NK3) afin d'éviter la fixation de ce ligand sur les sites NK2 et NK3 centraux. En effet, la [¹²⁵I]-NKA se lie également sur les récepteurs NK2 périphériques et, de plus, nous avons constaté que les récepteurs NK3 présents en forte densité dans le cortex cérébral reconnaissent très bien ce ligand. Dans ces conditions expérimentales, une liaison spécifique de la [¹²⁵I]-NKA, de haute affinité (Kd = 6 nM), saturable, température-dépendante et réversible a été initialement mise en évidence dans le cortex cérébral de rat. Des études de compétition effectuées ont permis de révéler l'existence dans l'amygdale de deux sous populations de sites NK1 marqués par la [¹²⁵I]-NKA, l'une correspondant aux sites « septide-sensibles » et l'autre à un nouveau sous type de sites NK1 se distinguant du précédent par sa faible affinité pour la SP(6-11). Les densités et les proportions relatives de ces deux sous-types de sites NK1 diffèrent d'une structure cérébrale à une autre, les collicules et l'hypothalamus semblant pratiquement dépourvus de sites « septide-sensibles » mais possédant une forte densité du nouveau sous-type NK1. Si ces deux sous-types de sites NK1 présentent une forte affinité pour les différentes tachykinines endogènes (SP, NKA, NPK, NPgamma et NKB), les nouveaux sites se distinguent des sites « septide-sensibles » par leur faible affinité non seulement pour la SP(6-11), mais aussi pour l'ALIE-124 et certains antagonistes NK1 (GR82334, RP67580, CP96345). Contrairement aux sites NK1 classiques et aux sites « septide-sensibles », ces nouveaux sites NK1 ne sont pas présents sur les cellules CHO transfectées avec le récepteur NK1 de rat. La présence dans le cerveau de deux populations de sites NK1 distincts des sites NK1 classiques permet d'expliquer certaines données paradoxales d'autres auteurs : les effets centraux de faibles concentrations de NKA, NPK et NPgamma bloquées sélectivement par des antagonistes NK1 et la faible efficacité de certains antagonistes NK1 (GR82334, RP67580 et CP96345) de bloquer certaines réponses centrales de la SP (J-C. Beaujouan, Y. Torrens et M. Saffroy).

3.2. RÔLE DE CERTAINES PHOSPHOPROTÉINES ASTROCYTAIRES

DANS LES PROCESSUS D'AGRESSION

(Responsable de l'équipe : Hervé Chneiweiss)

Les astrocytes constituent la première ligne de défense du tissu nerveux lors d'agression infectieuse, traumatique ou provoquée par des désordres vasculaires. Plusieurs études effectuées dans ces conditions ont permis de révéler la très grande capacité de survie des astrocytes qui contraste avec la mort neuronale ou

oligodendrocytaire par apoptose fréquemment observée. Les astrocytes développent également des réponses spécifiques à ces agressions se traduisant en particulier par des changements de leur forme et de leurs fonctions. De fait, les astrocytes participent à la réponse immune en exprimant de nombreuses molécules de surface qui favorisent l'initiation et le développement de la réponse inflammatoire et en sécrétant de nombreuses cytokines (notamment le facteur de nécrose tumorale TNF alpha) impliquées dans cette réponse. C'est dans ce contexte que l'analyse des mécanismes d'activation des kinases de stress astrocytaires et l'étude de leurs conséquences fonctionnelles ont été poursuivies. Les études sur le rôle de la phosphoprotéine PEA-15 ont également progressé puisque nous avons montré que cette protéine intervient dans la protection astrocytaire contre la mort cellulaire induite par le TNF alpha.

3.2.1. *Analyse de l'activation des kinases de stress JNK et p38 astrocytaires*

Nous avons observé que le choc osmotique, situation rencontrée par exemple lors d'hémorragies cérébrales, induit une activation puissante et prolongée de la p38/SAPK2 astrocytaire sans provoquer de mort cellulaire secondaire. Certains des mécanismes moléculaires associés à la stimulation de cette kinase induite par le sorbitol ont donc été étudiés sur des cultures astrocytaires. Une redistribution cellulaire de la kinase a pu être mise en évidence ; p38/SAPK2 est essentiellement nucléaire et inactive sous sa forme non phosphorylée dans la situation au repos et exportée vers le cytoplasme à la suite du choc osmotique, une forte immunoréactivité spécifique de la forme activée étant alors visible non seulement dans le noyau mais également dans le cytoplasme (Darina Zvalova, Jocelyne Cordier).

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

Nous avons identifié une nouvelle phosphoprotéine de 15 kDa, PEA-15, enrichie dans les astrocytes normaux, qui module plusieurs fonctions cellulaires. L'expression de la protéine diminue la sensibilité des cellules à l'insuline et pourrait participer à la résistance à l'hormone observée au cours du diabète de type 2. La protéine est également capable de supprimer l'effet inhibiteur de H-Ras sur la signalisation des intégrines. La noradrénaline, le glutamate, l'endothéline et l'EGF stimulent la phosphorylation de PEA-15. Cette phosphorylation peut intervenir sur deux résidus serine, S104 et S116, respectivement substrats de la protéine kinase C et de la kinase dépendante de la calmoduline et du calcium de type 2. De plus, PEA-15 présente un module d'interaction protéine-protéine, appelé DED, nécessaire à la transduction intracellulaire des signaux conduisant à l'apoptose.

Le rôle de PEA-15 dans l'apoptose évoquée par le TNFalpha a été étudié sur des lignées stables de fibroblastes NIH3T3 exprimant à des niveaux différents la protéine en fusion avec la protéine fluorescente GFP et sur des cultures

d'astrocytes dérivés d'animaux knock-out pour le gène de PEA-15. Un rôle protecteur de la protéine vis-à-vis du TNFalpha a pu être mis en évidence par ces deux approches expérimentales. Les astrocytes expriment de façon très faible FADD et caspase-8, ce qui nous a conduit à rechercher le partenaire de PEA-15 dans ces cellules. Une banque astrocytaire de cDNA insérée dans le vecteur pGADGE a été utilisée ainsi que la technique de double hybride dans la levure développée au laboratoire en collaboration avec le Dr Jacques Camonis (Institut Curie, Paris). Cette stratégie de recherche des interactions protéines-protéines nous a permis de montrer qu'une kinase clé de la cascade des MAP kinase/ERK est le principal partenaire de PEA-15. Joe Ramos et Mark Ginsberg (Scripps Institute, San Diego, USA) avaient observé que l'expression de PEA-15 module la signalisation des intégrines par un mécanisme ERK-dépendant. Une collaboration a donc été établie avec ces chercheurs et nous avons pu démontrer que PEA-15 inhibe les effets transcriptionnels liés à la translocation nucléaire de la MAP kinase, tel que l'induction du gène immédiat-précoce cFos en réponse au sérum. La capacité d'entrée dans le cycle cellulaire des cellules exprimant PEA-15 est donc diminuée. La protéine jouerait donc un rôle de « double clé » dans le contrôle de l'apoptose et du cycle cellulaire (Étienne Formstecher, Mireille Fauquet, Brigitte Canton, Darina Zvalova).

PUBLICATIONS ORIGINALES

C. SAILLE, P. MARIN, J.C. MARTINOU, A. NICOLE, J. LONSON, I. CEBALLOS-PICOT, *Transgenic murine cortical neurons expressing human Bcl-2 exhibit increased resistance to amyloid b-peptide neurotoxicity.* (Neuroscience, 92 (4) 1455-1464, 1999).

F. MAILLY, P. MARIN, M. ISRAEL, J. GLOWINSKI, J. PREMONT, *Increase in external glutamate and NMDA receptor activation contribute to H2-O2-induced neuronal apoptosis.* (J. Neurochem., 73 (3) 1273-1277, 1999).

V. SGAMBATO, N. MAURICE, M.J. BESSON, A.M. THIERRY, J.M. DENIAU, *Effect of a functional impairment of corticostriatal transmission on cortically evoked expression of c-Fos and ZIF 268 in the rat basal ganglia.* (Neuroscience, 93 (4) 1313-1321, 1999).

M. MAUS, P. MARIN, M. ISRAEL, J. GLOWINSKI, J. PREMONT, *Pyruvate and lactate protect striatal neurons against N-methyl-D-aspartate-induced neurotoxicity.* (EJN, 11, 3215-3224, 1999).

A. PEBAY, Y. TORRENS, M. TOUTANT, J. CORDIER, J. GLOWINSKI, M. TENCE, *Pleiotropic effects of lysophosphatidic acid on striatal astrocytes.* (Glia, 28, 25-33, 1999).

F. BLOMSTRAND, C. GIAUME, E. HANSSON, L. RONNBACK, *Distinct pharmacological properties of ET-1 and ET-3 on astroglial gap junctions and Ca²⁺ signaling.* (American J. Physiology, 277, C616-C627, 1999).

D. KITSBERG, E. FORMSTECHE, M. FAUQUET, M. KUBES, J. CORDIER, B. CANTON, G.H. PAN, M. ROLLI, J. GLOWINSKI, H. CHNEIWEISS, *Knock-out of the neural death effector domain protein PEA-15 demonstrates that its expression protects astrocytes from TNF α -induced apoptosis.* (J. Neurosci., 19 (19), 8244-8251, 1999).

A. MENEGON, F. BURGAYA, P. BAUDOT, D.D. DUNLAP, J.A. GIRAULT, F. VALTORTA, *FAK+ and PYK2/CAKb, two related tyrosine kinases highly expressed in the central nervous system : similarities and differences in the expression pattern.* (EJN, 11, 3777-3788, 1999).

H. GURDEN, J.P. TASSIN, T.M. JAY, *Integrity of the mesocortical dopaminergic system is necessary for complete expression of in vivo hippocampal-prefrontal cortex long-term potentiation.* (Neuroscience, 94 (4), 1019-1027, 1999).

M. ALIREZAEI, A.C. NAIRN, J. GLOWINSKI, J. PREMONT, P. MARIN, *Zinc inhibits protein synthesis in neurons : potential role of phosphorylation of translation initiation factor-2a.* (J. Biol. Chem., 274 (45), 32433-32438, 1999).

J.C. BEAUJOUAN, M. SAFFROY, Y. TORRENS, S. SAGAN, J. GLOWINSKI, *Pharmacological characterization of tachykinin septide-sensitive binding sites in the rat submaxillary gland.* (Peptides, 20 (11) 1347-1352, 1999).

J. WOJCIK, J.A. GIRAULT, G. LABESSE, J. CHOMILIER, J. MORNON, I. CALLEBAUT, *Sequence analysis identifies a Ras-associating (RA)-like domain in the N-termini of band 4.1/JEF domains and in the Grb7/10/14 adapter family.* (BBRC, 259, 113-120, 1999).

J.A. BIBB, G.L. SNYDER, A. NISHI, Z. YAN, L. MEIJER, A.A. FIENBERG, L. TSAI, Y.T. KNOWN, J.A. GIRAULT, A.J. CZERNIK, R.L. HUNANIR, H.C. HEMMINGS, A.C. NAIRN, P. GREENGARD, *Phosphorylation of DARPP-32 by Cdk5 modulates dopamine signalling in neurons.* (Letters to Nature, 402, 669-671, 1999).

J.L. DUPREE, J.A. GIRAULT, B. POPKO, *Axo-glia interactions regulate the localization of axonal paranodal proteins.* (J. Cell. Biol., 147 (6), 1145-1151, 1999).

P. MARIN, M. ISRAEL, J. GLOWINSKI, J. PREMONT, *Routes of zinc entry in mouse cortical neurons : role in zinc-induced neurotoxicity.* (Eur. J. Neurosci., 12 (1), 8-18, 2000).

F. BLANCHET, C. GAUCHY, S. PEREZ, P. SOUBRIE, J. GLOWINSKI, M.L. KEMEL, *Control by GABA and tachykinins of the evoked release of acetylcholine in striatal compartments under different modalities of NMDA receptor stimulation.* (Brain Res., 853 (1) 142-150, 2000).

REVUES GÉNÉRALES

J.A. GIRAULT, P. GREENGARD, *Principles of signal transduction.* (In « Neurobiology of mental illness », chapter 4, D.S. Chaney, E.J. Nestler & B.S. Bunney eds., Oxford Univ. Press, New York, pp. 37-60, 1999).

J.M. MEDINA, C. GIAUME, A. TABERNERO, *Metabolic coupling and the role played by astrocytes in energy distribution and homeostasis*. (In « The functional roles of glial cells in health and disease » R. Matsas & Trsacopoulos eds. Plenum Pub. New York, 1999).

R. BRUZZONE, C. GIAUME, *Connexins and information transfer through glia*. (In « The functional roles of glial cells in health and disease » R. Matsas & Trsacopoulos eds. Plenum Pub. New York, 1999).

P. DERKINDEREN, H. ENSIEN, J.A. GIRAULT, *The ERK/MAP-kinase cascade in the nervous system*. (Neuroreport, 10 (5) R24-R34, 1999).

J. GLOWINSKI, *The mapping of the central aminergic pathways*. (In : Special issue Brain Res. Bulletin, Highlights in twentieth century neuroscience 50, n^{os} 5/6 p. 369, 1999).

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

M. TENCE, A. PEBAY, M. TOUTANT, J. PREMONT, J. CORDIER, *Pleiotropic effects of sphingosine-1-phosphate on astrocytes*. Society for Neuroscience, Miami USA, Nov. 1999.

Y. GIOANNI, E. DEGENETAIS, J. GLOWINSKI, A.M. THIERRY, *Synaptic influence of the hippocampal inputs on the prefrontal cortex : an intracellular study in vivo*. Society for Neuroscience, Miami USA, Nov. 1999.

J.A. GIRAULT, M. TOUTANT, A. COSTA, P. EZAN, M. GELMAN, J.M. STUDLER, *Properties of neuronal isoforms of focal adhesion kinase (FAK)*, Society for Neuroscience, Miami USA, Nov. 1999.

J.P. TASSIN (organisateur de la session) : *Drugs of abuse beyond dopamine*, EWCBR 2000, Villars/Ollon (Suisse) 11-18/03/2000.

C. DROUIN, A.S. VILLEGIER, G. BLANC, S. COTECCHIA, J.P. TASSIN, *Role of alpha1b-adrenergic transmission in the sensitivity to drugs of abuse*. EWCBR 2000, Villars/Ollon (Suisse) 11-18/03/2000.

L. DARRACQ, G. BLANC, J.P. TASSIN, *Role of non-dopaminergic transmission in the functional release of dopamine by d-amphetamine*. EWCBR 2000, Villars/Ollon (Suisse) 11-18/03/2000.

A.M. THIERRY, Y. GIOANNI, E. DEGENETAIS, J. GLOWINSKI, *The hippocampo-prefrontal cortex pathway : anatomical and electrophysiological characteristics*. « The nature of hippocampal-cortical interaction », Dublin, 30-31/03/2000.

Y. GIOANNI, E. DEGENETAIS, J. GLOWINSKI, A.M. THIERRY, *Synaptic influence of the hippocampal inputs on the prefrontal cortex : an intracellular study in vivo*. The nature of hippocampal-cortical interaction, Dublin, 30-31/03/2000.

M. ALIREZAEI, P. MARIN, J. GLOWINSKI, J. PREMONT : *Zinc inhibits global protein synthesis at the initiation step in cortical astrocytes*. 4th Europ Meeting on Glial Cell Function, Barcelone, 24-27/05/2000.

A. PEBAY, N. ROUACH, M. TOUTANT, C.F. CALVO, J. PREMONT, J. CORDIER, J. GLOWINSKI, M. TENCE, *Pleiotropic effects of sphingosine-1-phosphate (S1P) and lysophosphatidic acid (LPA) on striatal astrocytes*. 4th Europ Meeting on Glial Cell Function, Barcelone, 24-27/05/2000.

D. ZVALOVA, J. CORDIER, J. GLOWINSKI, H. CHNEIWEISS, *Osmotic stress activation of p38-SAPK2 in astrocytes induces the phosphorylation of PEA-15 through a PKC-dependent pathway*. 4th Europ Meeting on Glial Cell Function, Barcelone, 24-27/05/2000.

C. GIAUME, *Gap junctional communication in astrocytes : a target for neuro-glial interaction*. 4th Europ Meeting on Glial Cell Function, Barcelone, 24-27/05/2000.

A. TABERNEIRO, A. VELASCO, C. JIMENEZ, C. GIAUME, J.M. MEDINA, *The collapse of gap junctional communication in astrocytes promotes glucose uptake destined to fuel cell proliferation*. 4th Europ Meeting on Glial Cell Function, Barcelone, 24-27/05/2000.

B. CANTON, M. FAUQUET, J. RAMOS, H. CHNEIWEISS, *PEA-15, a death effector domain-containing phosphoprotein enriched in astrocytes is an inhibitor of TNF-induced apoptosis*. ICST 2nd, Dubrovnik, 26-31/05/2000.

E. DEGENETAIS, Y. GIOANNI, J. GLOWINSKI, A.M. THIERRY, *Synaptic influence of the hippocampal inputs on the prefrontal cortex : an intracellular study in vivo*. FENS 2000 Brighton, 24-28/06/2000.

B.P. KOLOMIETS, J.M. DENIAU, J. GLOWINSKI, A.M. THIERRY, *Convergence of information originating from functionally distinct cortical areas in the subthalamic nucleus*. FENS 2000 Brighton, 24-28/06/2000.

A.M. THIERRY, N. MAURICE, J.M. DENIAU, J. GLOWINSKI, *Physiology of the cortico-nigral circuits originating from the prefrontal cortex in the rat*. FENS 2000 Brighton, 24-28/06/2000.

E. FORMSTECHE, B. CANTON, M. FAUQUET, J.Y. RAMOS, J. GLOWINSKI, H. CHNEIWEISS, *The brain-enriched protein PEA-15 inhibits TNF-triggered apoptosis by multiple pathways*. FENS 2000 Brighton, 24-28/06/2000.

C. GAUCHY, P. MARIN, M. ALIREZAEI, J. GLOWINSKI, J. PREMONT, *NMDA receptors-mediated regulation of G-protein in cortical neurons and metabotropic effects of NMDA*. FENS 2000 Brighton, 24-28/06/2000.

M. TENCE, A. PEBAY, N. ROUACH, M. TOUTANT, C.F. CALVO, J. PREMONT, J. CORDIER, J. GLOWINSKI, *Striatal astrocytes are targets for sphingosine-1-phosphate (S1P) and lysophosphatidic acid (LPA)*. FENS 2000 Brighton, 24-28/06/2000.

C. DROUIN, A.S. VILLEGIER, G. BLANC, S. COTECHIA, J. GLOWINSKI, J.P. TASSIN, *Role of alpha1b-adrenergic transmission in the psychostimulant effects of drugs of abuse*. FENS 2000 Brighton, 24-28/06/2000.

LISTE DES DIPLÔMÉS - 1999-2000

DEGENETAIS Éric (sous la direction de A.M. Thierry et Y. Gioanni).

Influence synaptique de l'hippocampe sur les neurones du cortex préfrontal : une étude à l'aide d'enregistrements intracellulaires in vivo.

DEA de Neurosciences, Université Pierre et Marie Curie Paris VI, Université du Val de Marne, Paris XII, sept. 1999.

DARRACQ Laurent

La libération fonctionnelle de dopamine dans le noyau accumbens : rôle des transmissions noradrénergique et glutamatergique.

Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI, soutenue le 7 décembre 1999.

DERKINDEREN Pascal

Régulation de la phosphorylation de protéines dans l'hippocampe de rat : rôle des tyrosine kinases FAK et PYK2 et des endocannabinoïdes.

Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI, soutenue le 14 décembre 1999.