

Neuropharmacologie

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

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

Séminaires-Symposium

En l'honneur de Anne-Marie THIERRY :

Dopamine, Ganglions de la Base, Cortex Préfrontal :
rétrospective et perspectives

Modérateur : Jacques GLOWINSKI (Collège de France)

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

Dopamine, ganglions de la base et cortex préfrontal : chroniques internes.

Jean-Michel DENIAU (INSERM U.114, Collège de France)

Systèmes des ganglions de la base et traitement de l'information : évolution des concepts.

Modérateur : Marie-Jo BESSON (Univ. P. & M. Curie, CNRS, Paris)

Bruno DUBOIS (INSERM EPI007, Hôp. Salpêtrière, Paris)

Aspects pathophysiologiques du cortex préfrontal et des circuits limbiques des ganglions de la base.

Marie-Françoise CHESSELET (Dept Neurology, UCLA, Los Angeles, USA)

Ganglions de la base et mouvements anormaux.

Étienne HIRSCH (INSERM U.289, Hôp. Salpêtrière, Paris)

Modifications métaboliques dans les pathologies des ganglions de la base.

Stéphane CHARPIER (INSERM U.114, Collège de France)

Striatum et traitement de l'information corticale.

Marie-Lou KEMEL (INSERM U.114, Collège de France)

Neuropeptides et « balance dopamine-acétylcholine » dans le striatum.

Laurent VENANCE (INSERM U.114, Collège de France)

Synapses électriques et interactions synaptiques locales dans le striatum.

Modérateur : André NIEOULLON (CNRS, Marseille)

Pierre POLLAK (Service de neurologie, Grenoble)

Stimulation haute fréquence du noyau sous-thalamique : aspects cliniques.

Guy CHOUVET (INSERM U.512, Lyon)

Activité unitaire des neurones du noyau sous-thalamique chez le rat vigile.

Marc SAVASTA (INSERM U.318, Grenoble)

Mécanismes neurochimiques induits par la stimulation haute fréquence du noyau sous-thalamique : rôle possible du GABA dans son efficacité thérapeutique.

Nicolas MAURICE (INSERM U.114, Collège de France)

Mécanismes de la stimulation haute fréquence du noyau sous-thalamique : inhibition GABAergique des neurones de sortie des ganglions de la base.

Modérateur : Alain Berthoz (Collège de France)

Suzanne HABER (Univ. Rochester, USA)

The role of the thalamus and dopamine in mediating information flow from motivation and cognition to movements through basal ganglia pathways.

Henk GROENEWEGEN (Vrije Universiteit, Amsterdam, Pays-Bas)

Limbic-motor interactions : role of direct and indirect connections between ventral and dorsal striatum.

Sidney WIENER (CNRS, Collège de France)

Bases neuronales des fonctions cognitives au niveau du striatum dorsal et ventral.

Barry EVERITT (Univ. Cambridge, UK)

Neural and psychological mechanisms underlying drug addiction.

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

Cortex préfrontal et pharmacodépendance : rôle du système noradrénergique.

Louis STINUS (CNRS, Univ. Victor Segalen, Bordeaux)

Pharmacodépendance et processus de sevrage.

Modérateur : Jean-Michel DENIAU (INSERM U.114, Collège de France)

Alex THOMSON (Royal free Hospital School of Medicine, London, UK)

Local circuits and synaptic interactions in the cortex.

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

Influence synaptique de l'hippocampe sur le cortex préfrontal.

Serge LAROCHE (CNRS, Univ. Paris Sud, Orsay)

Plasticité synaptique et cortex préfrontal.

Patricia GOLDMAN-RAKIC (Yale School of Medicine, New Haven, USA)
Mémoire de travail et cortex préfrontal.

Jacques GLOWINSKI (Collège de France)
Conclusions.

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE NEUROPHARMACOLOGIE
(INSERM U.114)

1. *RELATIONS ENTRE LE CORTEX CÉRÉBRAL
ET LES CIRCUITS NEURONAUX DES GANGLIONS DE LA BASE :*
ANALYSE ANATOMO-FONCTIONNELLE
(Responsable de l'équipe : Jean-Michel Deniau)

1.1. INFLUENCE DE L'HIPPOCAMPE SUR LES INTERNEURONES DU CORTEX PRÉFRONTAL
(Yves Gioanni, Anne-Marie Thierry)

Après avoir mis en évidence chez le rat l'existence d'une projection excitatrice glutamatergique directe issue des régions CA1/subiculum de l'hippocampe sur les aires prélimbique et orbitaire médiane du cortex préfrontal (CPF), nous avons montré que les cellules pyramidales du CPF reçoivent une influence synaptique complexe de l'hippocampe. La stimulation de l'hippocampe induit dans la grande majorité des cellules pyramidales un PPSE monosynaptique suivi d'un PPSI de longue durée. Des enregistrements extracellulaires couplés à l'injection juxtacellulaire de neurobotine (procédé qui permet d'identifier morphologiquement les neurones enregistrés) ont permis d'établir que ces PPSI résultent de l'activation directe des interneurones GABAergiques locaux.

Les potentiels d'action de ces interneurones ont une durée plus courte que celle des cellules pyramidales, et les distributions distinctes des durées des potentiels d'action de ces deux populations permettent de distinguer ces deux types de neurones à l'aide d'enregistrements extracellulaires. En revanche, l'activité spontanée des interneurones qui présente une large gamme de fréquences recouvrant partiellement celle des cellules pyramidales ne permet pas de différencier ces deux types de neurones.

Trois types d'interneurones ont été marqués avec la neurobotine : les cellules étoilées sans épines (majoritaires), les cellules bipolaires et les cellules étoilées épineuses. Dans leur grande majorité, les interneurones (78 %) répondent à la stimulation hippocampique, le plus souvent par une bouffée de potentiels d'action. Cette réponse est plus intense que celle des cellules pyramidales qui n'émettent qu'un ou deux potentiels d'action. La réponse excitatrice de l'interneurone précède toujours celle de la cellule pyramidale indiquant que les interneurones sont activés directement par les afférences hippocampiques, et suggérant que ces

cellules sont plus excitables que les cellules pyramidales. L'inhibition enregistrée au niveau des cellules pyramidales après stimulation de l'hippocampe résulte donc de la mise en jeu directe des interneurons locaux (processus de « feedforward ») et aussi probablement de l'activation indirecte des interneurons via les collatérales récurrentes des cellules pyramidales (processus de « feedback »). Enfin, la réponse excitatrice des interneurons est suivie par une inhibition d'une durée moyenne de 200 ms, ce qui indique l'existence d'inhibitions réciproques entre les interneurons. Ces diverses données suggèrent que l'activité des interneurons permet une focalisation temporelle et spatiale de l'influence excitatrice de l'hippocampe sur les cellules pyramidales.

1.2. APPRENTISSAGE DES PROPRIÉTÉS INTRINSÈQUES DES NEURONES CORTICAUX (Stéphane Charpier, Jeanne Paz)

L'activité des réseaux neuronaux résulte d'interactions complexes entre les entrées synaptiques et les propriétés électriques membranaires des neurones individuels. On admet généralement que les processus d'apprentissage sont sous-tendus par une modification « expérience-dépendante » de la force synaptique. Cependant, nos récentes données ouvrent de nouvelles perspectives dans l'étude des processus de plasticité neuronale liés à l'apprentissage car elles montrent que les canaux ioniques non-synaptiques peuvent être modulés durablement par l'histoire préalable du neurone. Dans le cas des neurones striataux, nous avons observé qu'une modulation « activité-dépendante » de certains courants potassiques sensibles au voltage induit un accroissement à court terme de l'excitabilité membranaire. Cette nouvelle forme de plasticité intrinsèque, qui se traduit *in vivo* par une facilitation « probabiliste » de la décharge des cellules striatales en réponse à une entrée synaptique de poids fixe, pourrait constituer un corrélat cellulaire au rôle du striatum dans l'apprentissage sensori-moteur.

Ces phénomènes de plasticité intrinsèque pourraient s'exprimer de manière durable dans les neurones corticaux après un accroissement transitoire du calcium cytoplasmique induit par des décharges multiples de potentiels d'action. Des enregistrements intracellulaires *in vivo* dans le cortex moteur du rat, nous ont permis de tester les effets à long terme d'injections répétées de courant dépolarisant sur l'excitabilité membranaire, celle-ci étant évaluée par la relation « courant injecté-fréquence de décharge ». Cette relation « entrée-sortie » des neurones est systématiquement facilitée quand la fréquence de décharge atteinte lors du conditionnement est supérieure à 20 Hz. L'accroissement du taux de décharge de potentiels d'action, obtenu sans modification de la résistance membranaire de repos, s'exprime au niveau de la relation « entrée-sortie » par une augmentation de la pente (augmentation du gain) ou par une translation (sans modification de pente) associée à une diminution du courant rhéobasique. Décrits pour la première fois *in vivo*, ces processus d'apprentissage intrinsèque pourraient jouer un rôle

essentiel dans l'adaptation de l'activité des neurones du cortex moteur lors de l'accomplissement correct d'une tâche comportementale donnée.

1.3. EFFETS DE LA STIMULATION À HAUTE FRÉQUENCE DU NOYAU SUBTHALAMIQUE SUR L'ACTIVITÉ SPONTANÉE ET ÉVOQUÉE DES NEURONES DE LA SUBSTANCE NOIRE RÉTICULÉE
(Nicolas Maurice, Anne-Marie Thierry)

Comme le striatum, le noyau subthalamique (NST) est innervé par des neurones corticaux et constitue également une structure d'entrée majeure des ganglions de la base. Mais contrairement au striatum, dont les neurones de projection GABAergiques exercent une influence inhibitrice sur les neurones GABAergiques des structures de sortie des ganglions de la base (substance noire réticulée (SNR) et globus pallidus interne (Gpi)), les neurones glutamatergiques du STN exercent une influence excitatrice sur ces structures de sortie.

Selon nos précédentes données, une stimulation corticale évoque dans les neurones de la SNR des réponses complexes composées d'une période d'inhibition précédée et suivie par une période d'excitation. La réponse excitatrice à courte latence résulte de la mise en jeu de la voie cortico-subthalamo-nigrale, la réponse inhibitrice de la mise en jeu de la voie striato-nigrale directe et la réponse excitatrice à longue latence de la mise en jeu de la voie striato-nigrale indirecte. Cette voie qui emprunte le segment externe du globus pallidus et le noyau subthalamique fonctionne selon un processus de désinhibition, les neurones GABAergiques pallido-subthalamiques étant inhibés par la décharge des neurones de projection du striatum. Par son influence excitatrice, le STN effectuerait un calibrage temporel et une mise en forme spatiale de l'influence inhibitrice du striatum sur les structures de sortie des ganglions de la base et, par conséquent, du signal désinhibiteur que les ganglions de la base transmettent à leurs réseaux cibles du thalamus et du tronc cérébral.

La stimulation à haute fréquence du NST est utilisée avec succès pour améliorer les troubles moteurs des malades parkinsoniens, mais les mécanismes intervenant dans ces effets bénéfiques restent controversés. L'étude des effets de la stimulation à haute fréquence du NST sur l'activité des neurones de la SNR a donc été poursuivie chez le rat anesthésié en analysant l'impact de cette stimulation sur le transfert des informations corticales dans les circuits trans-striataux et trans-subthalamiques. Des enregistrements extracellulaires unitaires des neurones de la SNR ont été effectués et les réponses évoquées dans ces neurones par la stimulation du cortex moteur orofacial avant et durant l'application de la stimulation à haute fréquence du NST ont été comparées.

L'activité des cellules de la SNR est diminuée durant l'application de la stimulation à haute fréquence du NST à faible intensité tandis qu'elle est augmentée lors de stimulations à forte intensité. La diminution de la décharge des neurones de la SNR est bloquée par une application iontophorétique de bicuculline à

proximité des neurones enregistrés et résulte donc de la mise en jeu d'une transmission GABAergique locale. L'augmentation de décharge des neurones de la SNR induite par la stimulation à haute fréquence du NST à forte intensité résulte vraisemblablement de l'activation de la voie subthalamo-nigrale. En effet, la latence des réponses excitatrices évoquées correspond au temps de conduction de cette voie. Nos données indiquent également que dans tous les cas, la transmission à travers la voie striato-nigrale directe est préservée. Si la fonctionnalité des voies trans-subthalamiques est préservée lors d'une stimulation à haute fréquence du NST à faible intensité, elle est par contre bloquée pour une stimulation à forte intensité. Contrairement à l'hypothèse selon laquelle la stimulation à haute fréquence du STN agirait par une inhibition des neurones stimulés, ces résultats indiquent que la stimulation du STN génère des effets sur ses structures cibles par le biais d'une activation de réseaux neuronaux. Confortant cette hypothèse, certains neurones de la SNR sont activés antidromiquement par stimulation du STN et cette activation antidromique suit sans échec la haute fréquence de stimulation.

1.4. RÉGULATION DE LA TRANSMISSION CHOLINERGIQUE STRIATALE :

RÔLE DES PEPTIDES

(Marie-Lou Kemel, Maritza Jabourian, Sylvie Perez, Gérard Godeheu)

1.4.1. *Caractérisation du sous-type de récepteur NK1 des tachykinines impliqué dans la régulation de la libération de l'acétylcholine par les tachykinines endogènes en absence de la transmission dopaminergique dans la matrice du striatum chez le rat*

Les tachykinines endogènes sont libérées à partir des collatérales récurrentes des neurones efférents lors d'une forte stimulation des récepteurs NMDA. Dans la matrice, lors de la suppression de la transmission dopaminergique, l'activation des récepteurs NK1 par les tachykinines provoque une stimulation de la libération de l'acétylcholine et les récepteurs NK1 localisés sur les interneurons cholinergiques sont impliqués dans cet effet facilitateur des tachykinines. Selon des données du laboratoire (J.C. Beaujouan, M. Saffroy), deux sous-types de récepteurs NK1 qui se distinguent des récepteurs NK1 classiques par leurs affinités vis-à-vis de certaines tachykinines endogènes ou d'antagonistes NK1 sont présents dans le cerveau de rat. La neurokinine A et le neuropeptide K qui présentent une faible affinité pour les récepteurs NK1 classiques ont une bonne affinité pour ces deux sous-types (« septide-sensitive » et « new NK₁-sensitive ») de récepteurs NK1. La substance P (6-11) qui a une meilleure affinité pour le site « septide-sensitive » permet de distinguer ces deux sous-types de récepteurs NK1. De plus, les antagonistes NK1, GR82334 et RP67580 ont une moins bonne affinité pour le sous-type « new NK₁-sensitive ».

Ces données nous ont conduit à caractériser *in vitro* dans la matrice du striatum le ou les types de récepteurs NK1 impliqués dans la facilitation par les tachyki-

nines de la libération de l'acétylcholine évoquée par une stimulation de forte intensité des récepteurs NMDA. Ces expériences ont été effectuées après inhibition locale de la synthèse de dopamine, c'est-à-dire en absence de transmission dopaminergique. Parmi les cinq antagonistes des récepteurs NK1 utilisés, seuls le SR140333, SSR240600, GR205171 bloquent l'effet facilitateur des tachykinines sur la libération évoquée de l'acétylcholine. Par contre le GR82334 et RP67580 sont sans effet. Les réponses inhibitrices des trois premiers antagonistes sont totalement supprimées par une faible concentration (1 nM) de [Pro⁹]SP (agoniste sélectif des récepteurs NK1 des tachykinines), et sont inchangées par la [Lys⁵, MeLeu⁹, Nle¹⁰] NKA(4-10) (0.1 μM) ou le senktide (0.1 μM), des agonistes sélectifs des récepteurs NK2 et NK3, respectivement. Ces effets inhibiteurs de ces trois antagonistes sont également réduits par de très faibles concentrations de neurokinine A (50 % de réduction pour des concentrations de 0.13 à 0.19 nM) et totalement supprimés par le neuropeptide K (1 nM). Elles sont aussi réduites par la substance P(6-11) (50 % de réduction pour des concentrations de 6.8 to 8.5 nM) et le septide (50 % de réduction, 8.7 nM) mais par des concentrations élevées de ces agonistes. Ce profil pharmacologique suggère l'intervention du sous-type « new NK₁-sensitive » de récepteurs NK1 dans ces réponses. Ainsi, non seulement la substance P mais aussi la neurokinine A ou le neuropeptide K sont des ligands endogènes de ce récepteur et seuls certains antagonistes des récepteurs NK1 (SR140333, le GR205171 et le SSR240600) sont susceptibles de réduire l'importante libération de l'acétylcholine obtenue lors d'une déficience de la transmission dopaminergique. (S. Pérez, M. Jabourian).

1.4.2. Régulation diurne de l'inhibition de la libération de l'acétylcholine par l'enképhaline endogène via les récepteurs mu dans le territoire limbique du striatum

Comme les tachykinines, l'enképhaline endogène est libérée à partir des collatérales récurrentes des neurones efférents lors d'une forte stimulation des récepteurs NMDA. Dans le territoire limbique du striatum enrichi en striosomes, la stimulation des récepteurs opioïdes de type mu par l'enképhaline inhibe la libération évoquée de l'acétylcholine. Cette régulation est complexe et dépendante du cycle diurne des animaux. En effet, l'enképhaline inhibe la libération évoquée de l'acétylcholine selon deux modalités de régulation, l'une dopamine-dépendante et indépendante du cycle diurne et l'autre dopamine-indépendante observée uniquement l'après-midi (animaux sacrifiés 7 heures après l'éclairage de l'animalerie). Les récepteurs mu sont présents sur les neurones efférents des striosomes. Toutefois, nos données semblent indiquer que l'inhibition de la libération de l'acétylcholine liée au cycle diurne pourrait faire intervenir des récepteurs localisés sur les interneurons cholinergiques. Différentes approches ont donc été utilisées pour rechercher la présence des récepteurs opioïdes de type mu sur les neurones cholinergiques et une régulation diurne de l'expression de ces récepteurs.

Par des études immunohistochimiques de double marquage effectuées avec des anticorps spécifiques des récepteurs mu et de la choline-acétyl transférase, nous avons montré la présence des récepteurs mu dans les neurones cholinergiques localisés dans le territoire limbique mais pas dans ceux du territoire sensorimoteur du striatum. Les comptages réalisés dans le territoire limbique sur des tissus obtenus chez des rats sacrifiés le matin ou l'après-midi ont révélé que les récepteurs mu sont présents dans 30 % des neurones cholinergiques le matin, mais dans 80 % des neurones cholinergiques l'après-midi.

Les neuromédiateurs présents dans le striatum sont susceptibles de contrôler la libération de l'acétylcholine en activant des récepteurs présynaptiques localisés sur les terminaisons des interneurons cholinergiques. La dopamine (via les récepteurs D2), les tachykinines (via un sous type de récepteurs NK1) et l'enképhaline (via les récepteurs opioïdes de type mu et delta) semblent moduler directement la libération de l'acétylcholine. Afin de confirmer ces contrôles présynaptiques de la libération de l'acétylcholine, des études de libération de l' $[^3\text{H}]$ -acétylcholine nouvellement synthétisée à partir de la $[^3\text{H}]$ -choline ont été effectuées sur des synaptosomes purifiés de striatum du rat. Le potassium stimule de manière concentration-dépendante, la libération spontanée de l'acétylcholine. Confirmant l'existence du contrôle présynaptique dopaminergique D2 sur les interneurons cholinergiques, l'agoniste D2, le quinpirole inhibe les libérations de l'acétylcholine spontanée et évoquée par le potassium 1.5 mM et ces inhibitions sont bloquées par l'antagoniste D2, le (-)sulpiride, qui seul, ne modifie pas la libération de l'acétylcholine. L'agoniste spécifique des récepteurs opioïdes de type mu, le DAMGO inhibe de manière concentration-dépendante la libération d'acétylcholine évoquée par le potassium (1.5 mM) et cette réponse est bloquée par l'antagoniste des récepteurs mu, la beta-funaltrexamine (0.1 μM), qui seule ne modifie pas la libération évoquée de l'acétylcholine. La réponse de l'agoniste opioïde de type mu est plus prononcée l'après-midi que le matin.

Ces données sont en faveur d'une présence de récepteurs opioïdes de type mu sur les interneurons cholinergiques du striatum et de l'existence d'une régulation diurne de l'expression de ces récepteurs. Ainsi, la régulation enképhaline/mu de la libération de l'acétylcholine observée uniquement l'après-midi semble résulter de variations diurne de la libération de l'enképhaline endogène (précédemment mise en évidence) mais aussi de variations de l'expression des récepteurs mu dans les interneurons cholinergiques (M. Jabourian, G. Godeheu, S. Pérez).

1.5. ÉTUDE DES INTERACTIONS LOCALES PAR SYNAPSES CHIMIQUES ET ÉLECTRIQUES DANS LES GANGLIONS DE LA BASE (Marie Vandecasteele, Laurent Venance)

Paradoxalement, les interactions locales entre les neurones gabaergiques efférents du striatum (95 % des neurones striataux, neurones épineux de taille moyenne) et les neurones nigro-striataux dopaminergiques qui représentent la

quasi totalité des neurones de la substance noire compacte (SNc) sont encore peu connues.

Nous avons recherché si ces neurones communiquent entre eux par des synapses chimiques et/ou électriques. Les synapses électriques sont formées par des canaux intercellulaires (ou « gap junctions ») mettant en communication directe les cytoplasmes de deux neurones adjacents. Elles permettent un couplage métabolique (perméabilité aux molécules inférieures à 1,2 kD) et un couplage électrique (perméabilité non spécifique aux ions). Ces couplages métabolique et électrique ont été évalués entre chacune des populations neuronales de striatum et de la SNc sur des tranches de cerveaux de jeunes rats. Nous avons observé que 63 % des neurones de projection du striatum et 20 % des neurones dopaminergiques de la SNc sont couplés métaboliquement (enregistrement en patch-clamp associés à des injections de biocytine) entre P15 et P20. Le couplage électrique a été mis en évidence, grâce à des enregistrements en double patch-clamp. Par contre, 49 % des neurones dopaminergiques de la SNc (coefficient de couplage : $2,5 \pm 0,7$ %) et 27 % des neurones de projection du striatum (coefficient de couplage : $3,1 \pm 0,3$ %) se sont avérés couplés par des synapses électriques. Ces synapses électriques peuvent transmettre des courants de forme sinusoïdale avec une efficacité maximale pour les basses fréquences (2-5 Hz), elles agissent donc comme des filtres à bas-bruit.

L'identité moléculaire des protéines constituant les canaux jonctionnels, les connexines, a été étudiée par RT-PCR sur cellule unique. Nous avons détecté l'expression de différentes connexines dans chacune des populations neuronales du striatum et de la SNc : les connexines Cx26 (13 %), Cx30 (22 %), Cx32 (8 %) et Cx36 (8 %) au niveau des neurones dopaminergiques de la SNc et les connexines Cx31.1 (30 %), Cx32 (11 %), Cx36 (20 %) et Cx47 (39 %) pour les neurones de projection du striatum. L'expression de différentes connexines permettrait l'assemblage de canaux jonctionnels de types hétérocycliques aux propriétés de perméabilité complexes pouvant rendre compte des caractéristiques particulières du courant trans-jonctionnel enregistré, comme l'asymétrie du couplage.

Si aucune synapse chimique n'a été observée entre les neurones dopaminergiques de la SNc, cette modalité de communication a été détectée entre 19 % des paires de neurones striataux enregistrées. L'amplitude moyenne des événements post-synaptiques enregistrés est de 30 ± 8 pA. Ces réponses sont inhibées par la bicuculline, indiquant que ces courants transitent par des récepteurs de type GABA_A. Cette transmission chimique est strictement unidirectionnelle. De plus deux neurones de projection striataux connectés par des synapses chimiques ne le sont pas par des synapses électriques, et *vice-versa*. Ces observations suggèrent que les neurones de projection du striatum sont organisés en réseaux préférentiels connectés chimiquement ou électriquement.

1.6. CONTRÔLE DES ÉPILEPSIES-ABSENCES PAR LES GANGLIONS DE LA BASE (Stéphane Charpier, Jeanne Paz, Jean-Michel Deniau)

L'épilepsie-absence est une épilepsie généralisée non-convulsive de l'enfant qui se traduit essentiellement par une perte transitoire de conscience. Au niveau de l'électro-encéphalogramme, les crises d'absence sont caractérisées par des décharges de type pointes-ondes (DPO), bilatérales, symétriques et synchronisées dans le néocortex et le thalamus. Précédemment, à l'aide d'un modèle animal validé de cette épilepsie (Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg ou GAERS), nous avons décrit *in vivo* les mécanismes synaptiques et membranaires intrinsèques dans les circuits thalamo-corticaux à l'origine des DPO.

Selon certaines données expérimentales et cliniques, les ganglions de la base pourraient moduler la genèse des DPO, mais les mécanismes de ce contrôle des activités épileptiques par ces structures sous-corticales restent inconnus. Nous avons donc entrepris, *in vivo* chez les rats GAERS, l'étude des mécanismes de propagation des activités paroxystiques dans les ganglions de la base pour déterminer les processus par lesquels ces structures, via leurs circuits de retour vers le cortex cérébral, peuvent contrôler la genèse des DPO.

Nous avons tout d'abord mis en évidence l'activité intracellulaire des neurones cortico-striataux et striataux. Les neurones cortico-striataux présentent des oscillations synaptiques supraliminaires en phase avec les DPO. En accord avec cette synchronisation corticale, les neurones de sortie du striatum présentent des dépolarisations synaptiques rythmiques de grande amplitude mais infraliminaires pour la décharge de potentiels d'action. Ce « silence » striatal lors des DPO pourrait résulter d'une inhibition synaptique GABAergique conjointe à l'excitation synaptique issue du cortex. Pour tester cette hypothèse, nous avons enregistré l'activité des neurones striataux durant les crises lors d'une inversion du gradient électrochimique des ions chlorures, puis l'activité des interneurons GABAergiques lors des DPO. Dans le premier cas, les neurones striataux présentaient des dépolarisations rythmiques induisant des bouffées de potentiels d'action, indiquant ainsi la participation d'un courant chlore dépolarisant. Ce résultat qui suggère la participation d'une activité GABAergique de type-A a été confirmé par la présence de décharges rythmiques dans les interneurons striataux lors des crises. Ces données démontrent que les crises ont pour conséquence d'inhiber (par mise en jeu des réseaux inhibiteurs intra-striataux) la décharge des neurones de sortie du striatum pourtant soumis à une forte excitation d'origine corticale.

2. INTERACTIONS DES VOIES MONOAMINERGQUES ASCENDANTES : CONSÉQUENCES SUR LES PROCESSUS DE PHARMACO-DÉPENDANCE (Responsable de l'équipe : Jean-Pol Tassin)

2.1. EFFETS DE LA STIMULATION DES RÉCEPTEURS α 1B-ADRÉNERGIQUES SUR L'ACTIVITÉ LOCOMOTRICE DOPAMINO-DÉPENDANTE : INTERVENTION DES RÉCEPTEURS α 2-ADRÉNERGIQUES POST-SYNAPTIQUES

Précédemment, nous avons montré que le blocage pharmacologique ou génétique des récepteurs α 1b-adrénergiques réduit de façon importante les réponses locomotrices induites par les psychostimulants (amphétamine, cocaïne). Ces données suggèrent que la stimulation des récepteurs α 1b-adrénergiques favorise la libération de dopamine au niveau du noyau accumbens, processus impliqué dans ces réponses. Cette hypothèse ne peut être retenue que si la stimulation des récepteurs α 1b-adrénergiques entraîne effectivement une augmentation d'activité locomotrice chez des animaux soumis à un traitement purement dopaminergique. Puisqu'il n'existe pas d'agoniste α 1-adrénergique spécifique et encore moins d'agoniste α 1b-adrénergique, nous avons augmenté la libération de noradrénaline chez des rats à l'aide du dexefaroxan, un antagoniste des récepteurs α 2-adrénergiques. En effet, le blocage des autorécepteurs α 2-adrénergiques augmente l'activité des cellules du locus coeruleus et la libération de noradrénaline dans les structures de projection.

L'injection périphérique de dexefaroxan chez des rats habitués à leur environnement augmente significativement leur activité locomotrice (de l'ordre de + 100 %). Lorsque les animaux sont prétraités avec du GBR 12783, un bloqueur spécifique de la recapture de dopamine, l'effet du dexefaroxan est considérablement amplifié, cette l'activation atteignant + 700 % en présence de 10 mg/kg de dexefaroxan. Cet effet a été ensuite analysé chez des souris dépourvues du récepteur α 1b-adrénergique (α 1b-AR KO) et comparé avec celui obtenu chez des souris sauvages (WT). Pour une dose de GBR 12783 qui induit des activités locomotrices identiques chez les souris WT et α 1b-AR KO, le dexefaroxan (1 mg/kg) double l'activité locomotrice des souris WT et diminue de 43 % celle des souris α 1b-AR KO. Ce dernier résultat révèle non seulement l'importance des récepteurs α 1b-adrénergiques mais aussi celle des récepteurs α 2-adrénergiques bloqués par le dexefaroxan et vraisemblablement post-synaptiques. Des rats chez lesquels le système noradrénergique ascendant (et par conséquent les autorécepteurs α 2-adrénergiques) a été détruit par une injection de 6-hydroxy-dopamine ont permis de vérifier cette hypothèse puisque chez ces animaux le dexefaroxan inhibe (de 25 à 70 % selon les doses) l'activité locomotrice induite par la D-amphétamine.

Ces résultats révèlent non seulement le rôle activateur de la stimulation des récepteurs α 1b-adrénergiques sur l'activité locomotrice dopamino-dépendante mais aussi une implication des récepteurs α 2-adrénergiques post-synaptiques.

Selon des données récentes, la dégénérescence des neurones du locus coeruleus est plus importante que celle des neurones dopaminergiques de la substance noire chez les patients parkinsoniens. Par conséquent, un traitement associant un bloqueur de la recapture de la dopamine et un antagoniste $\alpha 2$ -adrénergique devrait s'avérer bénéfique dans cette pathologie (Anne-Sophie Villégier, Jean-Charles Bizot, Marc Marien, Gérard Blanc, en collaboration avec les laboratoires Pierre Fabre).

2.2. RÔLE ET LOCALISATION DES RÉCEPTEURS SÉROTONINERGIQUES DE TYPE 5-HT_{2A} DANS LA RÉPONSE COMPORTEMENTALE ET LA LIBÉRATION DE DOPAMINE INDUITES PAR LA D-AMPHÉTAMINE

L'augmentation excessive de libération de dopamine dans le noyau accumbens est un facteur essentiel dans les processus de pharmacodépendance. En effet, les psychostimulants, comme la D-amphétamine ou la cocaïne, augmentent cette libération de dopamine et déclenchent chez le rongeur une hyperactivité locomotrice. Nous avons montré que le blocage pharmacologique d'un récepteur $\alpha 1$ -adrénergique par la prazosine entraîne une diminution importante des effets locomoteurs de ces psychostimulants. Chez le rat, le blocage des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques du cortex préfrontal inhibe complètement une fraction de la libération de dopamine induite par la D-amphétamine. Cette fraction de dopamine a été dénommée « dopamine fonctionnelle » dans la mesure où elle semble contrôler les effets locomoteurs de la D-amphétamine. Nous avons vérifié que la D-amphétamine ne libère plus la dopamine dans le noyau accumbens chez des souris dépourvues de récepteurs $\alpha 1b$ -adrénergiques (Auclair *et al.*, 2002).

Bien que la D-amphétamine ne libère pas de sérotonine aux doses habituellement utilisées (0,75 mg/kg), nous avons observé qu'un antagoniste des récepteurs 5-HT_{2A}, le SR46349B, inhibe non seulement l'activité locomotrice induite par la D-amphétamine, mais aussi la libération fonctionnelle de dopamine dans le noyau accumbens. Contrairement à ce qui avait été observé avec la prazosine, l'injection locale bilatérale de SR46349B dans le cortex frontal n'a pas d'effet sur l'hyperactivité locomotrice induite par la D-amphétamine. Par contre, ce blocage de cette réponse comportementale peut être obtenu par l'injection locale bilatérale de SR46349B dans l'aire tegmentale ventrale et ce blocage est associé à un blocage de la libération de dopamine fonctionnelle dans le noyau accumbens induite par la D-amphétamine. Ainsi les récepteurs 5-HT_{2A} et $\alpha 1b$ -adrénergiques, localisés respectivement dans l'aire tegmentale ventrale et le cortex préfrontal, contrôlent à la fois l'hyperactivité locomotrice et la libération de dopamine fonctionnelle dans le noyau accumbens d'animaux traités par la D-amphétamine (Agnès Auclair, Gérard Blanc).

2.3. RÔLE DES RÉCEPTEURS 5-HT_{2A} ET α 1-ADRÉNERGIQUES
DANS LA SENSIBILISATION COMPORTEMENTALE INDUITE
PAR LES PSYCHOSTIMULANTS ET LES OPIACÉS

Nous avons aussi montré que le blocage pharmacologique ou génétique des récepteurs α 1b-adrénergiques inhibe partiellement la réponse comportementale évoquée par la morphine chez le rat ou la souris. Un rôle des récepteurs 5-HT_{2A} dans les effets comportementaux et biochimiques (libération de dopamine) induits par la morphine a donc été également envisagé. Un blocage complet de l'hyperactivité locomotrice induite par la morphine a été obtenu en présence de SR46349B, un antagoniste spécifique des récepteurs 5-HT_{2A}, chez des souris dépourvues de récepteur α 1b-adrénergique (α 1b-AR KO) alors que la prazosine est sans effet. Nous avons alors montré que le blocage simultané des récepteurs α 1b-adrénergiques et 5-HT_{2A} faisait complètement disparaître la réponse comportementale induite par la morphine chez des animaux sauvages, y compris pour des doses de morphine très importantes (20 mg/kg). En outre, chez ces animaux, la libération de dopamine dans le noyau accumbens induite par un traitement aigu à la morphine est aussi complètement bloquée par l'un ou l'autre des deux antagonistes (prazosine ou SR46349B), à l'instar de ce qui avait été obtenu avec la D-amphétamine.

Les effets de ces deux antagonistes sur les sensibilisations comportementales (dues à des traitements répétés) à la morphine et aux psychostimulants (D-amphétamine et cocaïne) ont ensuite été étudiés. Le blocage simultané des récepteurs α 1b-adrénergiques et 5-HT_{2A} entraîne une inhibition complète non seulement de l'expression de la sensibilisation comportementale mais aussi celle de son induction aussi bien pour la morphine que pour les psychostimulants. Chez des animaux α 1b-AR KO, le SR46349B bloque aussi complètement les sensibilisations comportementales à la morphine et aux psychostimulants, la prazosine étant sans effet. Ces résultats indiquent l'importance des systèmes noradrénergiques et sérotoninergiques dans le contrôle de l'activité des neurones dopaminergiques (Agnès Auclair, Candice Drouin, Susanna Cotecchia, Gérard Blanc).

2.4. RÔLE DES RÉCEPTEURS α 1-ADRÉNERGIQUES ET 5-HT_{2A}
DANS LA RÉPONSE COMPORTEMENTALE À LA NICOTINE ;
INTERACTION AVEC LES MONOAMINES OXYDASES

Précédemment, nous avons observé chez le rat que la sensibilisation comportementale à la nicotine ne persiste que quelques jours. Ceci diffère de celle induite par la D-amphétamine dont la durée atteint plusieurs semaines et souvent plusieurs mois. Nous avons montré que la sensibilité comportementale à la nicotine se maintient de façon identique à celle induite par la D-amphétamine lorsque les rats sont traités avec des inhibiteurs de monoamines oxydases. Associé au fait que la fumée du tabac contient plusieurs molécules inhibitrices des monoamines

oxydases (harmane, norharmane, acétaldéhyde...), ce résultat indique que la nicotine n'est vraisemblablement pas le seul composé responsable du caractère addictif du tabac (Villégier *et al.*, soumis).

Nous avons également recherché si les effets comportementaux de la nicotine dépendent de la stimulation des récepteurs $\alpha 1b$ -adrénergiques et 5-HT_{2A}. Chez le rat, le blocage des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques par de la prazosine fait complètement disparaître l'hyperactivité locomotrice induite par la nicotine ainsi que la sensibilisation comportementale induite par des injections répétées de nicotine.

Chez la souris sauvage (C57Bl6), la nicotine n'induit pas de réponse comportementale. Toutefois, nous avons montré que celle-ci peut être observée en présence d'inhibiteurs de monoamines oxydases. Ce modèle a pu être validé en montrant que cette réponse disparaît totalement chez les animaux dépourvus de la sous-unité $\beta 2$ du récepteur nicotinique. Cette réponse comportementale est complètement abolie par la prazosine, chez les souris dépourvues de récepteur $\alpha 1b$ -adrénergique et par le SR46349B. Les propriétés mises en évidence avec la morphine et les psychostimulants sont donc retrouvées dans le cas de la nicotine. Néanmoins, pour une raison encore indéterminée, nous n'obtenons pas de sensibilisation comportementale à la nicotine dans ce modèle. Enfin, ces conditions expérimentales originales sont maintenant utilisées pour étudier le rôle respectif des différents sous-unités nicotiniques en utilisant des souris mutées pour différentes sous-unités ($\alpha 4$, $\alpha 6$, $\alpha 7$) (Anne-Sophie Villégier, Gérard Blanc, Sylvie Granon, Corentin Le Magueresse, Jean-Pierre Changeux).

3. COMMUNICATION JONCTIONNELLE ET INTERACTION NEURONE-GLIE

(Responsable de l'équipe : Christian Giaume)

3.1. RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES CONNEXINES ASTROCYTAIRES Cx43 ET Cx30 PAR LES NEURONES CORTICAUX DE SOURIS

Les astrocytes du SNC sont caractérisés par la présence d'un nombre important de jonctions communicantes (gap junctions) ce qui confère à ces cellules gliales une organisation en réseaux. Deux connexines (Cx) sont présentes dans les astrocytes, la Cx43 et la Cx30, dont l'expression diffère au cours du développement, la Cx43 étant détectée chez l'embryon alors que la Cx30 apparaît tardivement lors de la deuxième semaine postnatale. La Cx43 est exprimée abondamment alors que la Cx30 n'est que très rarement observée dans des cultures préparées à partir de cortex de souris embryonnaires ou nouvellement nées.

Lorsque les astrocytes sont cultivés avec des neurones corticaux, l'expression de ces deux connexines est augmentée avec des délais temporels différents. Le niveau de la Cx43 est accru dès le troisième jour, mais l'induction de la Cx30 ne devient détectable qu'après une semaine. La distribution astrocytaire de ces

deux connexines a ensuite été étudiée en microscopie confocale dans des cellules identifiées en immunofluorescence par double marquage (GFAP, S100-beta). L'expression de Cx43 est visible dans la grande majorité des cellules, mais celle de Cx30 est restreinte à des sous-populations d'astrocytes. Le nombre et la taille de ces « îlots » de cellules positives pour la Cx30, ainsi que la distribution punctiforme des sites d'immunoréactivité augmentent en fonction du temps de co-culture. Cette augmentation de Cx30 est partiellement réduite après la mort neuronale induite par un traitement avec du NMDA (300 μ M, 1h, 0 Mg^{++} , 100 μ M D-serine). D'autre part, l'effet facilitateur des neurones nécessite un contact physique entre les deux types de cellules. En effet, des milieux conditionnés de neurones ou de co-cultures sont sans effet sur les expressions astrocytaires de Cx43 et Cx30. Enfin, le blocage ou la stimulation de l'activité électrique des neurones, induits respectivement par un traitement chronique des co-cultures avec de la TTX (1 μ M) ou de la bicuculline (10 μ M) n'ont pas d'effet sur les patrons d'expression de Cx43 et de Cx30.

Les propriétés fonctionnelles des jonctions communicantes formées à la suite de l'augmentation de l'expression de la Cx30 ont été étudiées à l'aide d'astrocytes originaires de souris « knock-out » pour la Cx43, ces cellules étant ensemencés avec des neurones corticaux de souris sauvages. Dans ces conditions, un couplage a été mis en évidence en mesurant la diffusion de biocytine dans les îlots de cellules positives pour la Cx30. Ainsi, les neurones facilitent l'expression de ces deux connexines qui sont alors capables de former des canaux intercellulaires fonctionnels dans les astrocytes (Annette Koulakoff, Pascal Ezan).

3.2. INHIBITION DE LA COMMUNICATION JONCTIONNELLE ASTROCYTAIRE PAR LES CYTOKINES PRO-INFLAMMATOIRES ET L'AMYLOÏDE BETA

Dans la maladie d'Alzheimer, une réponse inflammatoire caractérisée par une réaction astrocytaire et microgliale ainsi qu'une expression chronique de cytokines a été observée au niveau des dépôts d'amyloïde. Selon des études épidémiologiques, les traitements anti-inflammatoires réduisent la fréquence des cas de maladie d'Alzheimer. Cela suggère un rôle de la réponse inflammatoire gliale dans le développement de cette pathologie. Selon des travaux récents, la communication jonctionnelle (CJ) des astrocytes joue un rôle neuroprotecteur lors d'un stress oxydatif ou d'une excitotoxicité induite par le glutamate. Nous avons en effet montré que des traitements prolongés de cultures primaires d'astrocytes corticaux avec des cytokines (IL-1, TNFalpha, IL6, IFN) n'ont pas d'effet sur la CJ et l'expression de la Cx43. Par contre, la co-application d'IL-1 et de TNFalpha inhibe fortement ces paramètres démontrant la spécificité de certaines combinaisons de cytokines.

Dans des co-cultures astrocytes/microglies, la CJ et l'expression de la Cx43 sont inhibées lorsque les microglies sont activées par le LPS ou la présence de milieux conditionnés provenant de microglies activées. Ceci suggère que les

microglies réactives sont la source des cytokines pro-inflammatoires. De plus, lorsqu'elle est appliquée seule, l'amyloïde beta n'a pas d'effet sur la CJ. Par contre, sa co-application avec l'IL-1, le TNFalpha ou des milieux conditionnés de microglies activées réduit fortement le couplage astrocytaire et l'expression de la Cx43 suggérant l'existence d'un mécanisme de synergie.

Ainsi, des situations inflammatoires sensibilisent les astrocytes aux cytokines pro-inflammatoires et à l'amyloïde beta. Les inhibitions de la CJ observées pourraient affecter les interactions astrocyte-neurone et contribuer aux dommages neuronaux associés à la maladie d'Alzheimer (William Mème, Charles-Félix Calvo, Pascal Ezan).

3.3. EFFETS DU LPA (ACIDE LYSOPHOSPHATIDIQUE) ET DE LA S1P (SPHINGOSINE-1-PHOSPHATE) SUR LES CELLULES GLIALES ET LES NEURONES

Lors de situations pathologiques, telles qu'une lésion vasculaire et une hémorragie, les concentrations du LPA et de la S1P, deux médiateurs phospholipidiques d'origine plaquettaire, augmentent dans le SNC. Nous avons montré que ces molécules agissent sur les astrocytes et les cellules microgliales en culture. En effet, ces cellules possèdent des récepteurs spécifiques (couplés aux protéines G) dont l'activation modifie certaines fonctions gliales intervenant dans le contrôle de la viabilité neuronale. Ainsi, le LPA diminue fortement la production par les microglies activées par le LPS du TNFalpha (en collaboration avec C.F. Calvo et E. Amigou), une cytokine neurotoxique qui est aussi capable de modifier l'étendue du réseau astrocytaire. D'autre part, la S1P stimule la prolifération des astrocytes, un événement qui caractérise la gliose réactionnelle consécutive à toute lésion du SNC.

Des expériences d'électrophysiologie et de « scrape-loading » ont permis de mettre en évidence une forte inhibition de la CJ par la S1P. Deux cascades de signalisation intracellulaire semblent impliquées dans cet effet inhibiteur, l'une faisant intervenir des récepteurs couplés à Gi/Go et l'autre médiée par la voie Rho/« Rho-associated kinase ». La S1P agit aussi sur les neurones en culture puisqu'elle altère profondément leur morphologie et provoque leur mort par apoptose. Le mécanisme moléculaire responsable de cet effet n'est pas encore élucidé, mais il n'implique pas les voies de transduction médiées par Gi/Go ou G12/G13/Rho. Ces divers résultats suggèrent que le LPA et la S1P contrôlent la survie des neurones par une action directe ou en altérant des fonctions microgliales ou astrocytaires (Martine Tencé, William Mème, Jocelyne Cordier et Yasmina Chalal).

3.4. DISTRIBUTION DES ASTROCYTES, DES CONNEXINES 43 ET DES CONNEXINES 30 PENDANT LE DÉVELOPPEMENT POSTNATAL DU CORTEX VISUEL PRIMAIRE DU CHAT

Les patrons d'expression de trois protéines astrocytaires ont été étudiés, au cours du développement postnatal du chat, dans les aires 17 et 18 du cortex visuel primaire ainsi que dans la substance blanche sous-jacente. Cette étude a été réalisée à 15 jours, 1 mois, 2 mois et un an (donc adultes), et à partir de deux groupes expérimentaux comprenant des chatons élevés normalement depuis la naissance et des chatons dont un œil a été fermé de façon précoce. À 15 jours et 1 mois postnatal, les astrocytes identifiés par la GFAP et le marquage pour la Cx43 sont essentiellement localisés, de façon très dense, dans la substance blanche, mais aucune immunoréactivité pour la Cx30 n'est détectée dans la substance blanche ou le cortex. Les astrocytes sont distribués de façon homogène dans la substance blanche à 15 jours, mais forment un amas à un mois. Un groupe de cellules microgliales de type amiboïde est observé dans cet amas de cellules astrocytaires qui correspond à une zone de marquage beaucoup moins intense pour la Cx43 comparée au reste de la substance blanche. Cette observation suggère, qu'à ces âges, la présence des cellules microgliales de type amiboïde provoque une diminution de l'expression de la Cx43. Cette différence d'expression de la Cx43 n'est pas observée chez des animaux plus âgés lorsque le groupe de cellules microgliales disparaît. Ces données sont en accord avec celles obtenues précédemment *in vitro* en utilisant des co-cultures d'astrocytes de striatum de rat et de cellules microgliales.

Au cours du développement postnatal, la distribution des astrocytes identifiés par la GFAP et celle du marquage ponctiforme de la Cx43 évolue de manière semblable : une diminution progressive de la densité dans la substance blanche et une augmentation dans le cortex cérébral. Chez les adultes, une distribution laminaire apparaît très clairement avec un marquage nettement plus intense dans les couches II/III et V corticales. Dans le cortex adulte, les distributions laminaires des Cx43 et Cx30 dans les aires 17 et 18 du cortex visuel sont identiques. Une telle distribution suggère une régulation différente de la communication intercellulaire assurée par ces deux types de connexines en fonction de l'activité neuronale dans ces différentes couches corticales. Cependant, quel que soit l'âge étudié, aucune différence n'est observée dans les patrons d'expression pour la GFAP, les Cx43 et Cx30 au niveau des zones corticales des chats « monoculaires » par rapport aux animaux contrôles, par conséquent, les différences d'innervation des fibres callosales observées chez ces animaux ne semblent pas avoir d'incidence sur l'expression des trois protéines astrocytaires considérées (Étude réalisée en collaboration avec Nathalie Rochefort, Nicole Quenech'du, Chantal Milleret, Chaire de Physiologie de la Perception et de l'Action).

4. *RELATIONS ASTROCYTO-NEURONALES :
PROCESSUS DE NEUROTOXICITÉ ET RÉPONSE ASTROCYTAIRE
AUX PROCESSUS D'AGRESSION*

4.1. *ÉTUDE DES PHÉNOMÈNES NEUROTOXIQUES ET DES MODIFICATIONS
DES PROTÉOMES NEURONAUX ET ASTROCYTAIRES*
(Responsable de l'équipe : Joël Prémont)

4.1.1. *Analyse des modifications du protéome neuronal
induites par l'activation des récepteurs AMPA et NMDA*
(Christian Gauchy, Sylvie Trocmé)

Depuis quelques années, nous avons accumulé de nombreuses données indiquant que les principaux agents neurotoxiques (le glutamate, le zinc et le peroxyde d'hydrogène) responsables des pertes neuronales induites par une ischémie cérébrale inhibent la synthèse protéique globale dans les neurones. Selon l'identité de ces agents, cette inhibition de synthèse résulte du blocage des étapes d'élongation ou d'initiation ou des deux mécanismes. Plusieurs données de la littérature révèlent que de telles inhibitions de synthèse protéique peuvent être associées à des phénomènes de superinduction de mRNA et de protéines spécifiques par des mécanismes encore mal définis. Nous avons donc examiné le protéome des neurones survivants corticaux embryonnaires de souris à la suite d'une exposition transitoire au NMDA afin d'identifier les protéines dont l'expression est modifiée par le NMDA, puis de déterminer leur rôle dans ce processus neurotoxique.

Les « CRMP » (collapsin-response-mediated proteins) : Les protéines issues d'extraits de neurones exposés ou non au NMDA ont été séparées à l'aide de gels à deux dimensions. Les protéines dont le taux de variations (par rapport à la situation témoin) excédait un facteur 3 ont été identifiées par spectrométrie de masse (MALDI-TOF) en collaborant avec Philippe Marin (laboratoire de Joël Bockaert, Montpellier). Parmi environ 500 protéines, douze ont ainsi été identifiées. Outre la « Chaperonin containing TCP-1 beta subunit » et la chaîne 1 de l'ubiquinol-cytochrome C reductase complex, dix de ces protéines appartiennent à une même famille de protéines, les CRMPs (collapsin-response-mediated proteins) initialement dénommées TOAD 64 (Turn on after division) et Ulip (unc-33-like proteins), unc-33 étant une protéine intervenant dans le guidage et l'extension axonale chez *Caenorhabditis elegans*.

Le syndrome paranéoplasique (PND, paraneoplastic neurological disease) est une maladie neurologique caractérisée par un processus neurodégénératif associé à un cancer systémique, sans invasion tumorale cellulaire ou infection du système nerveux. Observée chez 3 % de patients souffrant de cancer du poumon à petites cellules, cette maladie résulte d'altérations des systèmes nerveux central et périphérique par le système immunitaire en réponse aux antigènes onco-neuronaux

présents dans les cellules tumorales et neuronales. De fait, des auto-anticorps dirigés contre les CRMPs ont été décrits dans le sérum de patients atteints de PND présentant une ataxie cérébelleuse, une encéphalite limbique ou des neuropathies périphériques d'aspect démyélinisant. Ainsi, les CRMPs seraient susceptibles de jouer un rôle crucial dans la survie neuronale et la myélinisation dans les systèmes nerveux central et périphérique.

Les CRMPs constituent une famille de phosphoprotéines composées de cinq membres fortement homologues qui, selon le type cellulaire et le stade de développement, forment des structures homo- ou hétéro-multimériques par associations mutuelles. Fortement exprimées dans le système nerveux, les CRMPs jouent probablement un rôle important pendant son développement. CRMP2, la protéine de cette famille la plus étudiée provoque une rétractation du cône de croissance.

Modulation d'expression des protéines CRMPs par le NMDA : Des collaborations ont été entreprises pour étudier le rôle des CRMPs dans les processus neurotoxiques résultant de l'activation des récepteurs NMDA. Pour confirmer l'identification des protéines par immunoblotting, (effectuée avec Philippe Marin, laboratoire de Joël Bockaert, Montpellier), nous avons tout d'abord utilisé des anticorps développés par André Sobel qui en 1997 avait établi les séquences de CRMP2 et CRMP4. Nous avons ensuite contacté l'Unité 433 (Neurobiologie Expérimentale et Physiopathologie, Lyon) dirigée par Marie-Françoise Belin qui depuis plusieurs années s'intéresse à ces protéines et a été la première à déterminer la séquence de CRMP5.

Les variations de l'expression des protéines CRMPs induites par une exposition de 20 minutes au NMDA de neurones de cortex cérébral mature en culture primaire ont été quantifiées à l'aide des anticorps spécifiques dirigés contre les cinq sous-types de CRMPs connus (CRMP de 1 à 5, préparés dans le laboratoire de Marie-Françoise Belin). Ce traitement provoque une diminution du taux d'expression de quatre sous-types de CRMPs (pour CRMP1, CRMP3 et CRMP5, la diminution observée est d'environ 40 % et cette diminution atteint 90 % dans le cas de CRMP2) et à l'inverse une sur-expression de CRMP4 (augmentation d'un facteur 10). Des expériences complémentaires effectuées avec des concentrations croissantes de NMDA (10-200 mM) ont montré que ces variations dépendent de la concentration de NMDA utilisée.

Les effets du NMDA sont reproduits par des expositions transitoires des neurones au glutamate et au peroxyde d'hydrogène, traitements qui provoquent une neurotoxicité d'intensité voisine à celle du NMDA. L'agoniste AMPA dont l'effet neurotoxique est plus faible que celui du NMDA provoque également un « remaniement » des CRMPs qualitativement identique à celui du NMDA mais d'amplitude plus faible.

Liens entre les variations de l'expression neuronale de CRMPs avec les processus neurotoxiques : Plusieurs observations suggèrent que le « remaniement » des CRMPs fait partie intégrante du mécanisme conduisant à la mort

neuronale : 1) Outre les données de la littérature citées ci-dessus, les activations des récepteurs AMPA et NMDA, impliquées dans l'action neurotoxique du glutamate, induisent des variations d'expression de CRMPs dont l'amplitude est parallèle à l'intensité des effets neurotoxiques qu'ils provoquent (voir précédemment). 2) Les effets neurotoxiques résultant d'une exposition transitoire au NMDA peuvent être bloqués par un antagoniste de ces récepteurs (MK-801), lorsque celui-ci est ajouté immédiatement après le retrait du NMDA. Dans ces conditions permettant de dissocier le phénomène neurotoxique de l'activation de ces récepteurs, le NMDA ne modifie plus l'expression des cinq CRMPs. 3) Les neurones ayant été exposés une première fois au NMDA et exprimant un nouveau patron de CRMPs sont résistants à une seconde application de cet agoniste. Ces modifications d'expression de CRMPs commencent à s'estomper 3-5 jours après la dernière exposition. La cinétique de re-sensibilisation des neurones à l'action neurotoxique NMDA évolue parallèlement. 4) Enfin, des neurones immatures (6 jours en culture au lieu de 12) qui possèdent des récepteurs fonctionnels du NMDA mais qui ne dégèrent pas à la suite d'une exposition de 30 minutes au NMDA, ne présentent pas de variations d'expression des CRMPs.

Étude de la compartimentation neuronale (dendrite versus axone) des différentes CRMPs : Selon les données obtenues sur *C. élegans* ou des neurones d'hippocampe de rat, dans lesquels la surexpression de CRMP2 provoque la poussée d'axones surnuméraires et la transformation de dendrites en axones, les CRMPs seraient impliquées dans les mécanismes de guidage axonal.

La recherche du rôle de ces protéines dans les phénomènes de plasticité morphologique des neurones nécessite la détermination des localisations sub-cellulaires des CRMPs au sein des différents compartiments fonctionnels du neurone. En dehors du cas des neurones d'hippocampe, cette compartimentation n'est pas connue. Nous avons donc étudié la localisation des CRMPs successivement dans des neurones de cortex cérébral en culture primaire puis sur des coupes du cerveau de souris adulte.

Selon des données immunohistochimiques et cytochimiques obtenues en effectuant des co-marquages avec des anticorps dirigés contre MAP2 et la synaptophysine (un marqueur de vésicules synaptiques), dans les neurones matures en culture primaire issue du cortex cérébral de souris, les CRMPs sont localisées dans les axones et majoritairement dans les dendrites. Dans des coupes de cerveau de souris adulte, CRMP1, CRMP2 et CRMP5 apparaissent localisées de façon diffuse bien qu'une augmentation de fluorescence soit observée dans le cortex pyriforme, par exemple. Comme dans les neurones en culture, les CRMPs sont majoritairement localisées dans les dendrites. Toutefois, l'observation de certaines terminaisons MAP2 négatives suggère aussi une localisation axonale de CRMP2 et CRMP5, mais celle-ci est minoritaire. Des observations semblables ont été effectuées dans le striatum. Ainsi, le rôle des CRMPs ne se limiterait pas qu'au guidage axonal.

4.1.2. Rôle fonctionnel des macrophages cérébraux au cours de l'inflammation (Edwige Amigou, Charles-Félix Calvo)

Les travaux permettant la mise en évidence de l'existence de sous-populations macrophagiques ayant des fonctions mutuellement exclusives, c'est-à-dire d'une population neurotoxique sécrétant des cytokines pro-inflammatoires et d'une population neurotrophique sécrétant des cytokines anti-inflammatoires ont été poursuivis.

Nous avons pu mettre en évidence l'existence d'une distribution distincte des marquages FITC (vert) et Cy3 (rouge) en imagerie confocale, reflétant respectivement la présence de TNFalpha ou d'interleukine 10 dans des macrophages cérébraux de souris en culture préalablement exposés au lipopolysaccharide (LPS) bactérien en présence de monensine. Ces expériences ont été effectuées par marquage intracellulaire avec des anticorps anticytokines sur les cellules fixées et perméabilisées. Ce marquage a été co-localisé dans l'appareil transgolgien grâce à un marqueur spécifique.

En cultivant les cellules sur des substrats différents pendant 5 jours avant la stimulation au LPS, nous avons pu noter une disparition du phénotype doublement marqué FITC/CY3 (jaune) porté à l'origine par environ 7 % des cellules totales. Ceci semble indiquer que les cellules doublement marquées adoptent après 5 jours de culture, soit le phénotype rouge, soit le vert et correspondaient à des cellules non encore différenciées présentes *in vivo* à P1 mais également à E16 et P8.

De façon intéressante, une stimulation des cellules par l'interféron gamma seul, ne permet pas de révéler des cellules produisant du TNFalpha, tandis que la population synthétisant l'IL10 est révélée dans les mêmes proportions qu'à la suite d'une stimulation au LPS. Ce résultat montre ainsi l'existence d'une spécialisation fonctionnelle en réponse à des stimuli différents.

Les premières expériences visant à associer un marqueur de surface au profil sécrétoire de chaque sous-population restent sans succès pour le moment. Cependant, alors que tous les macrophages cérébraux portent le marqueur CD11b, 30 % de ces cellules présentent également le marqueur CD11c, spécifique des cellules dendritiques qui sont normalement absentes du système nerveux central. L'origine de ces cellules en culture pourrait provenir de la différenciation de précurseurs qui seraient soumis aux facteurs de différenciation GM-CSF et CSF-1 produits par les astrocytes. Nous avons pu isoler cette population dendritique avec des billes magnétiques couplées à l'anticorps anti-CD11c, ce qui nous permet maintenant de comparer ses fonctions (chimioattraction, effet sur la survie des neurones) à celles de la population CD11c négative.

4.2. NEURO-ONCOLOGIE : APPROCHE MOLÉCULAIRE ET CELLULAIRE DU DÉVELOPPEMENT DES GLIOMES

(Responsable : Hervé Chneiweiss)

(Alain Anselmet, Brigitte Canton, Marie-Pierre Junier, François Renault,
Ariane Shariff, Jeanne-Marie Studler)

Les astrocytes constituent une population cellulaire hétérogène qui contient également les cellules souches cérébrales adultes. Par ailleurs, les astrocytes constituent, avec les oligodendrocytes, la principale population de cellules non-neuronales à l'origine de la majorité des tumeurs cérébrales primitives de l'adulte : les gliomes. Deux grandes catégories de gliomes peuvent être distinguées : les tumeurs de bas grade et celles de haut grade ou glioblastomes. Les tumeurs de bas grade sont des tumeurs dans lesquelles les cellules tumorales prolifèrent en relatif équilibre avec leur rythme de mort, au sein d'un parenchyme réactif sans modification majeure de l'architecture du tissu. L'espérance de vie des patients porteurs de ce type de tumeur est aujourd'hui supérieure à 15 ans. Les glioblastomes se caractérisent par une prolifération de néo-vaisseaux, une rupture de la barrière hémato-encéphalique et des foyers nécrotiques centro-tumoraux. La médiane de survie des patients est alors inférieure à 1 an. Dans les deux cas, la migration à distance de cellules isolées rend la chirurgie inopérante à long terme. Nos travaux portent sur les mécanismes de signalisation intracellulaire mis en jeu lors du développement précoce des tumeurs de bas grade : prolifération de l'astrocyte normal et tumoral ainsi que sur la mort cellulaire programmée des cellules astrocytaires et la migration cellulaire dans le parenchyme nerveux.

4.2.1. *Fonctions(s) de PEA-15*

Nous avons poursuivi l'analyse des fonctions de la protéine PEA-15, que nous avons préalablement identifiée. Il s'agit d'une phosphoprotéine de 15 kDa, PEA-15, enrichie dans les astrocytes normaux, qui agit comme une double-clé contrôlant les cascades menant la cellule vers l'entrée dans le cycle de division ou sa mort par activation du programme d'apoptose. PEA-15 est fortement exprimée dans les tumeurs de bas grade tandis que cette expression disparaît au sein des glioblastomes.

PEA-15 apparaît aujourd'hui comme un adaptateur cellulaire impliqué dans de nombreuses fonctions selon la cellule et le tissu qui l'exprime. Ainsi l'expression de la protéine diminue la sensibilité des cellules vis-à-vis de 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 rétablir la fonction des intégrines inhibée après sur-expression de l'oncogène H-Ras. Une cartographie de l'expression de la protéine dans le système nerveux central met en évidence une hétérogénéité de la population astrocytaire, une faible moitié seulement exprimant la protéine,

sans systématisation de structure à l'exception de l'hippocampe. Certains neurones expriment également PEA-15.

Nous avons démontré le rôle anti-apoptotique de PEA-15 dans les astrocytes normaux en réponse au Tumor Necrosis Factor (TNF) alpha. Des travaux récents étendent cette propriété à d'autres molécules de la famille du TNFalpha, Fas et TRAIL, ainsi qu'à plusieurs cellules hors du système nerveux, en particulier les lymphocytes T mémoire (en collaboration avec S. Le Gouvello, Créteil).

La recherche des partenaires physiologiques de PEA-15, nous avait déjà conduit à identifier comme principales protéines d'interaction les kinases ERK1 et ERK2, ainsi que la phospholipase D2. PEA-15 localise préférentiellement ERK dans le cytoplasme. Il en résulte des inhibitions de la phosphorylation de Elk1 et de la transcription dépendante de l'élément de transcription SRE. De nouvelles données suggèrent que deux nouvelles kinases interagissent avec PEA-15 : PKB/Akt et RSK2. En collaboration avec le groupe de C. Monnot (Collège de France), nous caractérisons les conséquences de l'interaction de PEA-15 avec Akt. PEA-15 apparaît comme un bon substrat d'Akt sur sa sérine 116 et cette phosphorylation augmenterait la stabilité de la protéine. En ce qui concerne RSK2, PEA-15 semblerait exporter la kinase du noyau, comme dans le cas de ERK.

4.2.2. Développement de modèles d'analyse des gliomes *in vivo*

Les gliomes qui représentent 2 % de l'ensemble des tumeurs malignes chez l'homme sont les plus fréquentes des tumeurs primaires du système nerveux central. Les expressions de TGFalpha et de son récepteur, erbB1, sont augmentées et ces effets semblent être en corrélation avec le grade tumoral. Notre objectif est de mieux comprendre les rôles de PEA-15 et de TGFalpha dans la prolifération et la migration à distance des cellules tumorales.

Les conséquences de l'expression de PEA-15 sur la motilité astrocytaire et des cellules gliomales ont été analysées. Nos résultats indiquent que l'expression de la protéine est associée à une inhibition de la migration cellulaire. Des facteurs intrinsèques et extrinsèques interviennent également dans ces processus, les astrocytes n'exprimant pas PEA-15 ayant une motilité accrue tandis que les tissus cérébraux n'exprimant pas PEA-15 sont plus permissifs à la diffusion de cellules tumorales que les tissus normaux.

Les remaniements du cytosquelette sous-jacents à la motilité cellulaire peuvent également être modulés par la signalisation associée au couple EGFR/TGFalpha. Nous analysons actuellement l'effet *in vivo* de la sur-expression continue de TGFalpha.

4.2.3. Développement de modèles d'analyse en culture cellulaire

En collaboration avec l'équipe du Pr C. Daumas-Duport (Ste Anne, Paris), nous avons développé une culture organotypique de tumeurs humaines nous permettant d'avoir accès à un tissu tumoral à l'architecture préservée sur une période allant jusqu'à 6 semaines. Parmi les projets en cours à partir de ce matériel, citons le développement de nouveaux marqueurs tumoraux, en particuliers des facteurs de transcriptions normalement exprimés au cours du développement du système nerveux, ainsi que la recherche de cellules souches tumorales au sein de certaines formes de glioblastomes.

PUBLICATIONS ORIGINALES

T. HÖFER, L. VENANCE, C. GIAUME, *Control and plasticity of intercellular calcium waves in astrocytes : a modeling approach*. (The Journal of Neuroscience, 22 (12), 4850-4859, 2002).

M. MAUS, J. GLOWINSKI, J. PRÉMONT, *GABA is toxic for mouse striatal neurons through a transporter-mediated process*. (J. Neurochemistry, 82, 763-773, 2002).

A. AUCLAIR, S. COTECCHIA, J. GLOWINSKI, J.P. TASSIN, *D-Amphetamine fails to increase extracellular dopamine levels in mice lacking $\alpha 1b$ -adrenergic receptors : relationship between functional and nonfunctional dopamine release*. (The Journal of Neuroscience, 22 (21), 9150-9154, 2002).

M. ALIREZAEI, E. MORDELET, N. ROUACH, A.C. NAIRN, J. GLOWINSKI, J. PRÉMONT, *Zinc-induced inhibition of protein synthesis and reduction of connexin-43 expression and intercellular communication in mouse cortical astrocytes*. (Eur. J. Neurosci., 16 (6), 1037-1044, 2002).

C. GAUCHY, A. NAIRN, J. GLOWINSKI, J. PRÉMONT, *N-Methyl-D-aspartate receptor activation inhibits protein synthesis in cortical neurons independently of its ionic permeability properties*. (Neuroscience, 114 (4), 859, 2002).

S.L. SLAGHT, T. PAZ, S. MAHON, N. MAURICE, S. CHARPIER, J.M. DENIAU, *Functional organization of the circuits connecting the cerebral cortex and the basal ganglia : implications for the role of the basal ganglia in epilepsy*. (Epileptic Disord., 4 (supl. 3), 1-13, 2002).

S. RAMANATHAN, J.J. HANLEY, J.M. DENIAU, J.P. BOLAM, *Synaptic convergence of motor and somatosensory cortical afferents onto GABAergic interneurons in the rat striatum*. (J. Neurosci., 22 (18), 8158-8169, 2002).

N. ROCHEFORT, N. QUENECH'DU, L. WAROBA, M. MALLAT, C. GIAUME, C. MILLERET, *Microglia and astrocytes may participate in the shaping of visual callosal projections during postnatal development*. (J. Physiol., 96, 183-192, 2002).

M. SAFFROY, Y. TORRENS, J. GLOWINSKI, J.C. BEAUJOUAN, *Autoradiographic distribution of tachykinin NK2 binding sites in the rat brain : comparison with NK1 and NK3 binding sites*. (Neuroscience, 116, 761-773, 2003).

A. PROPRATILOFF, S.M. POLLACK, C. GIAUME, K.D. PEUSNER, *Differential expression of connexin 43 in the chick tangential vestibular nucleus*. (J. Neurosci. Res., 71, 617-628, 2003).

M. HASSELBLATT, M. BUNTE, R. DRINGEN, A. TABERNERO, J.M. MEDINA, C. GIAUME, A.L. SIREN, H. EHRENREIH, *Effect of endothelin-1 on astrocytic protein content*. (Glia, 42, 390-397, 2003).

B.P. KOLOMIETS, J.M. DENIAU, J. GLOWINSKI, A.M. THIERRY, *Basal ganglia and processing of cortical information : functional interactions between trans-striatal and trans-subthalamic circuits in the substantia nigra pars reticulata*. (Neuroscience, 117, 931-938, 2003).

REVUES GÉNÉRALES

J.P. TASSIN, *La place de la dopamine dans les processus de dépendance aux drogues*. (Bull. Acad. Natl. Med., 186, n° 2, 295-305, 2002).

J. GLOWINSKI, A. CHERAMY, M.L. KEMEL, *Presynaptic regulation of dopamine release*. (In « Handbook of experimental pharmacology », vol. 154/II, chapter 14, pp. 63-84, 2002).

C. DROUIN, J.P. TASSIN, *Norepinephrine*. (Encyclopedia of the human brain, Vol.1, pp. 625-646, Academic Press, 2002).

N. ROUACH, E. AVIGNONE, W. MEME, A. KOULAKOFF, L. VENANCE, F. BLOMS-TRAND, C. GIAUME, *Gap junctions and connexin expression in the normal and pathological central nervous system*. (Biology of the Cell, 94, 457-475, 2002).

H. CHNEIWEISS, *Chroniques bio-éthiques (1) : Sur les sentiers escarpés des montagnes de bioéthique. Épisode 1 : les aiguilles du clonage*. (Médecine Sciences, 19, n° 2, 246-247, 2003).

H. CHNEIWEISS, *Chroniques bio-éthiques (2) : Sur les sentiers escarpés des montagnes de bioéthique. Épisode 2 : les brumes du vocabulaire*. (Médecine Sciences, 19, n° 3, 374-376, 2003).

H. CHNEIWEISS, *Chroniques bio-éthiques (3) : Dans les grandes plaines de la génomique. Épisode 1 : Le marché de la double hélice*. (Médecine Sciences, 19, n° 4, 501-504, 2003).

H. CHNEIWEISS, *Chroniques bio-éthiques (4) : Sur les sentiers escarpés des montagnes de bioéthique. Épisode 3 : Aux confins de l'eugénisme*. (Médecine Sciences, 19, n° 5, 634-636, 2003).

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

S. MAHON, J.M. DENIAU, J. GLOWINSKI, S. CHARPIER, *Spike-dependent in plasticity enhances EPSP-spike coupling in striatal output neurons in vivo*. FENS meeting, Paris, July 2002.

S. CHARPIER, S. MAHON, J.M. DENIAU, N. LERESCHE, N.V. CRUNELLI, J. GLOWINSKI, S. SLAGHT, *Excitability of striatal output neurons is decreased during spike and waves discharges in a genetic model of absence epilepsy*. FENS meeting, Paris, July 2002.

M.L. KEMEL, S. PEREZ, J.C. BEAUJOUAN, M. JABOURIAN, G. GODEHEU, P. SOUBRIE, J. GLOWINSKI, *Tachykinin NK1 receptor subtypes participate to the increase of the NMDA-evoked release of acetylcholine observed after acute or chronic suppression of dopamine transmission in the matrix of the rat striatum*. FENS meeting, Paris, July 2002.

M. JABOURIAN, S. PEREZ, G. GODEHEU, J. GLOWINSKI, M.L. KEMEL, *Influence of the circadian rhythm and of DA on the inhibitory m-opiate receptor regulation of the NMDA-evoked release of Ach in the striosomes of the rat striosomes*. FENS meeting, Paris, July 2002.

E. DEGENETAIS, A.M. THIERRY, J. GLOWINSKI, Y. GIOANNI, *The rat hippocampoprefrontal cortex pathway : an in vivo intracellular study of synaptic transmission and plasticity*. FENS meeting, Paris, July 2002.

B. KOLOMIETS, J.M. DENIAU, J. GLOWINSKI, A.M. THIERRY, *Convergence and segregation of cortical information in the substantia nigra pars reticulata*. FENS meeting, Paris, July 2002-01-29.

A.M. THIERRY, Y. VAN DONGEN, B. KOLOMIETS, J. GLOWINSKI, H.J. GOENEWEGEN, J.M. DENIAU, *Mesencephalic dopamine neurons as an interface between the ventral and dorsal striatum : anatomical and electrophysiological evidence*. FENS meeting, Paris, July 2002.

J.M. DENIAU, B. KOLOMIETS, P. MAILLY, A. MENETREY, J. GLOWINSKI, H.J. GROENEWEGEN, A.M. THIERRY, *Nucleus accumbens territories associated with prefrontal cortex and hippocampus differential innervation of the rat mesencephalon*. FENS meeting, Paris, July 2002.

E. AVIGNONE, M. SEGAL, C. GIAUME, N. ROUACH, *Neuronal network activity in hippocampal culture is strongly decreased by blocking gap junctional communication in astrocytes*. FENS meeting, Paris, July 2002.

L. VENANCE, J. GLOWINSKI, C. GIAUME, *Gap junctions and connexin expression in rat striatal neurons*. FENS meeting, Paris, July 2002.

W. MEME, P. EZAN, J. GLOWINSKI, C. GIAUME, *Pro-inflammatory cytokines and amyloid-b inhibit gap junctional communication in astrocytes*. FENS meeting, Paris, July 2002.

C. GIAUME, *Gap junctional communication in astrocytes and neuroglial interaction*. FENS meeting, Paris, July 2002.

Y. CHALAL, N. ROUACH, A. PEBAY, W. MEME, J. CORDIER, J. GLOWINSKI, C. GIAUME, M. TENCE, *Sphingosine-1-phosphate, a novel inhibitor of gap junctional communication in striatal astrocytes*. FENS meeting, Paris, July 2002.

M. TENCE, A. PEBAY, Y. CHALAL, J. CORDIER, E. AMIGOU, J. GLOWINSKI, C. CALVO, *Brain macrophages are target cells for lysophosphatidic acid (LPA)*. FENS meeting, Paris, July 2002.

F. RENAULT, S. DE BOUARD, A. SHARIF, D. ZVALOVA, E. FORMSTECHE, B. CANTON, C. CHRISTOV, M. PESCHANSKI, M.P. JUNIER, H. CHNEIWEISS, *First evidences for a role of PEA-15 (phosphoprotein enriched in astrocytes-15kDa) in the control of astrocyte and tumoral glial cell migratory properties*. FENS meeting, Paris, July 2002.

F. RENAULT, A. SHARIF, B. CANTON, E. FORMSTECHE, M. FAUQUET, A. ANSELMET, M.P. JUNIER, H. CHNEIWEISS, *The ded-containing protein PEA-15 inhibits apoptosis and cell cycle in astrocytes through multiple signaling pathways*. Apoptosis 2003, Luxembourg, 28/01-01/02/2003.

A. AUCLAIR, S. COTECCHIA, J. GLOWINSKI, J.P. TASSIN, *La D-amphetamine n'augmente pas la dopamine extracellulaire dans le noyau accumbens de souris dépourvues de récepteur alpha1b-adrénérique : relation entre dopamine fonctionnelle et non fonctionnelle*. Congrès Neurosciences, Rouen, 13-16/05/03.

A.S. VILLEGIER, F. TROVERO, J. GLOWINSKI, J.P. TASSIN, *Interactions noradrénaline/dopamine : effet du dexefaroxan sur l'hyperactivité locomotrice induite par le GBR 12783*. Congrès Neurosciences, Rouen, 13-16/05/03.

W. MEME, *Inhibition de la communication jonctionnelle astrocytaire par les cytokines pro-inflammatoires et l'amyloïde beta*. Congrès Neurosciences, Rouen, 13-16/05/03.

N. MAURICE, A.M. THIERRY, B. KOLOMIETS, J. GLOWINSKI, J.M. DENIAU, *Convergences corticales directes et indirectes sur le noyau sous-thalamique : approche expérimentale*. Congrès Neurosciences, Rouen, 13-16/05/03.

M. VANDECASTEELE, J. GLOWINSKI, L. VENANCE, *Étude des synapses électriques entre les neurones dopaminergiques de la substance noire pars compacta sur des tranches de cerveau de rats*. Congrès Neurosciences, Rouen, 13-16/05/03.

A. SHARIF, F. RENAULT, F. BEUNON, B. CANTON, M.P. JUNIER, H. CHNEIWEISS, *Localisation cellulaire de PEA-15, une protéine anti-apoptotique et anti-apoptotique, dans le cerveau de souris adultes*. Congrès Neurosciences, Rouen, 13-16/05/03.

F. RENAULT, S. DE BOUARD, A. SHARIF, E. FORMSTECHE, B. CANTON, M. PESCHANSKI, M.P. JUNIER, H. CHNEIWEISS, *PEA-15 (phosphoprotéine enrichie dans les astrocytes-15 kDa) : un inhibiteur de la migration astrocytaire de la*

permissivité tissulaire à la migration tumorale. Congrès Neurosciences, Rouen, 13-16/05/03.

M. JABOURIAN, S. BOURGOIN, S. PEREZ, G. GODEHEU, J. GLOWINSKI, M.L. KEMEL, *L'enképhaline endogène via les récepteurs u inhibe la libération striatale de l'acétylcholine évoqué par le NMDA dans les striosomes : variations diurnes et rôle de la dopamine.* Congrès Neurosciences, Rouen, 13-16/05/03.

M. JABOURIAN, *Enkephaline endogène et libération de l'acétylcholine dans les compartiments du striatum : variation diurne et influence de la dopamine.* Club des ganglions de la base, 13 mai 2003.

LISTE DES DIPLÔMÉS — 2002-2003

MAHON Séverine

Électrophysiologie de la transmission cortico-striatale *in vivo* : propriétés dynamiques, plasticité synaptique et plasticité intrinsèque.

Thèse de Doctorat de l'Université P. et M. Curie, Paris VI, soutenue le 5 juillet 2002.

CHALAL Yasmina (sous la direction de M. Tencé)

Altérations de certaines fonctions astrocytaires et neuronales par de nouveaux médiateurs lipidiques, le LPA et la S1P, dans des modèles de cultures cellulaires.

DEA de Biologie du vieillissement, Univ. Paris VI, juin 2002.

VANDECASTEELE Marie (sous la direction de L. Venance)

Diversité électrophysiologique des neurones dopaminergiques de la substance noire pars compacta et nature moléculaire de leurs synapses électriques.

DEA de Neuropharmacologie, Université René Diderot, juillet 2002.