

2 m 11. 2824.7

Université de Montréal

**Régulation par le calcium des propriétés de liaison
des récepteurs glutamatergiques AMPA sur
des coupes de cerveaux congelés de souris**

par

Luc Lapierre

Département de pharmacologie

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en pharmacologie

© Luc Lapierre
Avril 2000



W
H
W58
2000
N. 085

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Régulation par le calcium des propriétés de liaison
des récepteurs glutamatergiques AMPA sur
des coupes de cerveaux congelés de souris**

présenté par :

Luc Lapierre

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Trudeau, Louis-Éric, Ph.D., président du jury

Massicotte, Guy, Ph.D., directeur de recherche

Lacaille, Jean-Claude, Ph.D., membre du jury

Mémoire accepté le 4 juillet 2000

SOMMAIRE

Dans une situation d'apprentissage, il a été proposé que les neurones recrutés et les synapses activées pour accomplir cet exercice mental se modifient afin de laisser, à l'échelle cellulaire, une trace mnésique. Les récents et nombreux travaux de recherche en neurobiologie de la mémoire ont permis de confirmer l'existence potentielle d'une partie de ces processus cognitifs hypothétiques. Entre autres, il a été démontré que les changements neuronaux survenant lors de divers phénomènes de modulation de la fonction synaptique (plasticité synaptique) seraient, en partie, le résultat d'une modification des propriétés des récepteurs glutamatergiques de type AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionate) par des processus enzymatiques dépendants de l'ion calcium (Ca^{2+}). Cependant, la caractérisation des effets de plusieurs conditions (pathologies, comparaisons interspèces, modifications génétiques) sur les capacités mnésiques des sujets expérimentaux et sur les phénomènes de plasticité synaptique observés dans leur cerveau a été et est encore principalement effectuée par l'utilisation de souris, tandis que les données sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA sont, dans l'ensemble, tirées d'expériences effectuées avec des rats. Par conséquent, la caractérisation des mécanismes de régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA chez la souris s'avère nécessaire afin de faciliter et d'approfondir la compréhension des processus cellulaires impliqués dans l'expression des différentes formes de plasticité synaptique associées aux circuits neuronaux glutamatergiques.

Durant mes travaux de maîtrise, des analyses qualitatives et quantitatives de la liaison de ligands tritiés sur des coupes de cerveaux congelés de différentes souches de souris ont été effectuées afin de déterminer comment l'exposition de ces coupes à des ions calcium

(traitement calcique) est en mesure de modifier les propriétés de liaison des récepteurs glutamatergiques AMPA. Les résultats obtenus avec la souche B6C3F1 montrent que le Ca^{2+} a des effets sur les propriétés de liaison de ces récepteurs qui sont différents d'une région cérébrale à l'autre : la liaison est augmentée dans l'hippocampe, diminuée dans le cortex et le striatum, et inchangée dans le thalamus. De plus, ces effets semblent spécifiques aux récepteurs AMPA puisque le traitement calcique des coupes de cerveau n'a pas induit de changements de la liaison de ligands tritiés aux récepteurs NMDA (*N*-méthyl-D-aspartate), un autre type de récepteurs glutamatergiques. L'analyse de courbes de saturation de la liaison de l'AMPA tritié a révélé que la hausse de la liaison induite par le Ca^{2+} dans la région *CA₁ radiatum* de l'hippocampe est due à un changement dans le nombre maximal de sites de liaison (B_{max}), alors que la baisse de la liaison observée dans le cortex et induite par le Ca^{2+} semble être le résultat d'une diminution de l'affinité (exprimée par le K_d) des récepteurs AMPA envers le ligand. Cette régulation calcique à la baisse de l'affinité des récepteurs AMPA dans le cortex et le striatum semble impliquer l'activation de la phospholipase A_2 et de la voie lipoxigénase du métabolisme de l'acide arachidonique puisqu'elle est bloquée par des inhibiteurs de ces systèmes enzymatiques. De plus, les effets du Ca^{2+} sur la liaison du [^3H]AMPA varient entre des souches de souris réputées pour posséder des différences au niveau des propriétés plastiques de leurs synapses ainsi qu'au niveau de leurs capacités d'apprentissage et de résistance aux dommages cérébraux induits expérimentalement. L'étude comparative entre les souches a révélé que le niveau de modulation à la hausse des propriétés de liaison des récepteurs AMPA induite par le Ca^{2+} dans l'hippocampe est négativement corrélé au niveau de la modulation calcique à la baisse retrouvée dans le cortex. Ainsi, les récepteurs AMPA de l'hippocampe de souris de souche C57BL/6 sont les plus facilement

régulés à la hausse, tandis que ceux du cortex des souris de souche DBA/2 répondent le plus fortement à la modulation calcique à la baisse.

En somme, les résultats de ces travaux démontrent que, selon la région cérébrale, les ions calcium peuvent générer des effets opposés sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA, et que la nature et l'amplitude de ces effets varient en fonction de la souche de souris utilisée et, par rapport à la littérature existante, en fonction de l'espèce animale étudiée (*e.g.* rats vs souris). Étant donné que la régulation des récepteurs AMPA par des enzymes dépendantes du Ca^{2+} est impliquée dans les phénomènes de plasticité synaptique, ces résultats suggèrent que les variations régionales et interspèces de la régulation calcique des récepteurs AMPA sont à la base, du moins en partie, de la divergence des propriétés plastiques des synapses glutamatergiques retrouvée dans les diverses structures du cerveau, ainsi que de la divergence des capacités mnésiques observée chez différentes souches murines. Avec le modèle expérimental utilisé durant ces travaux, il sera éventuellement possible de mieux définir les mécanismes cellulaires impliqués dans les processus normaux et pathologiques de la plasticité synaptique et de l'apprentissage, notamment ceux concernant la régulation des récepteurs AMPA par le Ca^{2+} .

Les résultats expérimentaux présentés dans ce mémoire ont servi à la rédaction de deux manuscrits scientifiques présentement en préparation ou en impression pour leur future publication dans la revue *Hippocampus* :

Lapierre L., Valastro B., Miceli D. et Massicotte G. (en impression) AMPA receptor modulation in frozen mouse brain sections: opposite effects of calcium in the cortex and hippocampus. *Hippocampus*.

Lapierre L. et Massicotte G. (en préparation) Rapid Communication – Inter species variations of AMPA receptor modulation by calcium in frozen mouse brain sections.

TABLE DES MATIÈRES

Identification du jury.....	i
Sommaire.....	ii
Table des matières.....	vi
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	x
Liste des sigles et abréviations.....	xii
Dédicace.....	xiv
Remerciements.....	xv
1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Généralités.....	1
1.2 Aspects pharmacologiques et moléculaires des récepteurs glutamatergiques.....	6
1.2.1 <i>Les récepteurs AMPA.....</i>	<i>10</i>
1.2.2 <i>Les récepteurs kaïnate.....</i>	<i>17</i>
1.2.3 <i>Les récepteurs NMDA.....</i>	<i>19</i>
1.2.4 <i>Les récepteurs métabotropes.....</i>	<i>21</i>
1.2.5 <i>Les récepteurs orphelins.....</i>	<i>22</i>
1.3 Interactions des récepteurs glutamatergiques avec les protéines cellulaires.....	23
1.4 Aspects neurophysiologiques et neuropathologiques des récepteurs glutamatergiques.....	26
2 PROBLÉMATIQUE ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE.....	32
2.1 Problématique.....	32
2.2 Hypothèses de recherche.....	38

3	MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	41
3.1	Méthodologie expérimentale.....	41
3.1.1	<i>Préparation du tissu cérébral.....</i>	<i>41</i>
3.1.2	<i>Traitement des coupes de cerveau.....</i>	<i>42</i>
3.1.3	<i>Principes et limitations de la méthode expérimentale.....</i>	<i>42</i>
3.2	Méthodologie analytique.....	44
3.2.1	<i>Épreuves de liaison.....</i>	<i>44</i>
3.2.1.1	Étude des récepteurs AMPA.....	44
3.2.1.1	Étude des récepteurs NMDA.....	44
3.2.2	<i>Autoradiographie.....</i>	<i>45</i>
3.2.3	<i>Analyses statistiques.....</i>	<i>46</i>
4	RÉSULTATS.....	47
4.1	Induction de changements par le calcium de la liaison aux récepteurs AMPA dans le cerveau de souris.....	47
4.2	Effets du calcium sur les propriétés de liaison à l'équilibre des récepteurs AMPA (K_d et B_{max}) dans le cerveau de souris.....	53
4.3	Effets de l'inhibition de la voie lipoxigénase sur la régulation calcique des propriétés de liaison des récepteurs AMPA dans le cerveau de souris.....	57
4.4	Étude des effets du traitement calcique sur la liaison du [3H]AMPA sur des coupes de cerveaux congelés de différentes souches de souris.....	61

5	DISCUSSION.....	64
5.1	Variation des effets du calcium sur les récepteurs AMPA entre différentes régions cérébrales chez la souris.....	65
5.2	Variation des effets du calcium sur les récepteurs AMPA de diverses régions cérébrales entre différentes souches de souris.....	69
5.3	Liens entre la plasticité synaptique et la régulation calcique des propriétés de liaison des récepteurs AMPA.....	72
5.4	Influence possible du calcium extracellulaire sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA.....	75
5.5	Les propriétés de liaison des récepteurs NMDA peuvent également être régulées par le calcium.....	76
6	CONCLUSION.....	79
	RÉFÉRENCES.....	80

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	
Les sous-unités des récepteurs glutamatergiques ionotropes.....	7
Tableau II	
Les sous-unités des récepteurs glutamatergiques métabotropes.....	9
Tableau III	
Valeurs des K_d et des B_{max} calculées à partir de la liaison du [3H]AMPA.....	54

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Structure topologique des sous-unités des récepteurs glutamatergiques ionotropes.....	10
Figure 2 Les régions du cerveau de souris en coupe horizontale.....	12
Figure 3 La synapse de Hebb.....	29
Figure 4 La PLA ₂ et les voies métaboliques de l'acide arachidonique.....	36
Figure 5 Effet du traitement calcique sur la liaison globale du [³ H]AMPA sur des sections horizontales de cerveaux congelés de souris.....	48
Figure 6 Images digitalisées des autoradiogrammes de la liaison du [³ H]AMPA dans différentes régions du cerveau de souris.....	49
Figure 7 Effet du traitement calcique sur la liaison du [³ H]AMPA dans différentes régions du cerveau de souris.....	50
Figure 8 Effet du traitement calcique sur la liaison du [³ H]glutamate et du [³ H]CPP aux sites NMDA dans différentes régions du cerveau de souris.....	52
Figure 9 Effets du calcium sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA dans le cortex du cerveau de souris.....	55
Figure 10 Effets du calcium sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA dans l'hippocampe du cerveau de souris.....	56
Figure 11 Effet de la baicaléine sur la modulation calcique de la liaison du [³ H]AMPA dans différentes régions du cerveau de souris.....	58

Figure 12

Effet du NDGA et du BPB sur la modulation calcique de la liaison
du [³H]AMPA dans différentes régions du cerveau de souris.....59

Figure 13

Effet de l'indométhacine sur la modulation calcique de la liaison
du [³H]AMPA dans différentes régions du cerveau de souris.....60

Figure 14

Comparaison de la modulation calcique de la liaison du [3H]AMPA entre
différentes souches de souris au niveau de diverses régions cérébrales.....62

Figure 15

Étude de corrélation sur les niveaux de modulation calcique de la liaison du
[3H]AMPA dans le cortex et l'hippocampe de cerveaux de différentes souches de souris.....63

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

$[^3\text{H}]$: tritium; élément tritié
 a.a. : acide aminé
 AA : acide arachidonique
 ABP : protéine se liant aux récepteurs AMPA (*AMPA receptor-binding protein*)
 ADN : acide désoxyribonucléique
 AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionate
 AMPc : adénosine monophosphate cyclique
 ARN : acide ribonucléique
 ATP : adénosine triphosphate
 AVC : accident vasculaire cérébral
 BPB : bromophénacylbromide
 Ca^{2+} : calcium (forme ionique)
 $[\text{Ca}^{2+}]_i$: concentration intracellulaire de calcium
 $[\text{Ca}^{2+}]_e$: concentration extracellulaire de calcium
 CA : corne d'Ammon
 CaMKII : protéine kinase calcium-calmoduline dépendante
 Ca-PLT (Ca-DLT) : potentialisation (dépression) à long terme induite par le calcium
 CaR : récepteurs-détecteurs de calcium extracellulaire
 CCDV : canaux calciques à ouverture dépendante du voltage membranaire
 CNQX : 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione
 CPP : 3-((\pm)-2-carboxypipérazin-4-yl)-propyl-1-phosphonate
 D-AP5 : D-2-amino-5-phosphonopentanoate
 DG : diacylglycérol
 DLT : dépression à long terme
 DMSO : diméthyle sulfoxyde
 DNQX : 6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione
 DPS : densité postsynaptique
 EC_{50} : concentration effective (sur 50% des récepteurs)
 E.T.M. : erreur type de la moyenne (équivalent français de S.E.M.)
 FM-iiip : fibres moussues intra- et infra-pyramidales
 GABA : acide γ -aminobutyrique
 GD : gyrus dentelé
 GK : guanylate kinase
 GRIP : protéine d'interaction avec les RGLU (*glutamate receptor interacting protein*)
 IP_3 : inositol trisphosphate
 K^+ : ion potassium
 KA : kaïnate
 kDa : kilodalton
 L-AP4 : L-2-amino-4-phosphonobutanoate
 L-CCG-I : (2*S*,1'*S*,2'*S*)-2-(carboxycyclopropyl)glycine
 Mg^{2+} : ion magnésium

Na⁺ : ion sodium
NBQX : 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulphamoyl-benzo(F)quinoxaline
NDGA : acide nordihydroguaiarétique
NMDA : *N*-méthyl-D-aspartate
NSF : protéine de fusion sensible au N-éthylmaleimide (*N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein*)
NT : neurotransmetteur
PDS-95 : protéine de la densité postsynaptique de 95 kDa (*postsynaptic density protein*)
PKA : protéine kinase A
PKC : protéine kinase C
PKG : protéine kinase G
PI : phosphoinositides
PIP₂ : phosphoinositol diphosphate
PLA₂ : phospholipase A₂
PLC : phospholipase C
PLD : phospholipase D
PLT : potentialisation à long terme
RCPG : récepteurs couplés aux protéines G
RGLU : récepteurs glutamatergiques
RGLUm : récepteurs glutamatergiques métabotropes
SAP90 : protéine de 90 kDa associée à la synapse (*synapse associated protein*)
SH3 : domaine homologue à la région 3 de la protéine Src (*Src Homology 3*)
SIDA : syndrome immunodéficientaire acquis
SITS : 4-acétanido-4'-isothiocyanato-stilbene-2,2'-disulfonic acid
SNC : système nerveux central
Src : protéine encodée par le proto-oncogène *c-src*
ST-PLT (ST-DLT) : PLT (DLT) induite par stimulation électrique
T/A : Tris-acétate
T-CAT : labyrinthe en «T» à tâche alternative continue
TCP : 1-[1-(2-thiethyl)-cyclohexyl]3,4,-piperidine
YM90K : 6-(1H-imidazol-1-yl)-7-nitro-2,3(1H,4H)-quinoxalinedione

Aux femmes et hommes de science qui dédient leur vie à l'avancement des connaissances... Que leur engouement pour l'exploration, la découverte et le dépassement des limites reste à jamais imperturbable.

REMERCIEMENTS

Poursuivre son éducation scientifique aux études supérieures à la maîtrise peut être perçu par plusieurs comme un cheminement logique. À mon avis, je dirais que c'est plutôt une grande et passionnante aventure rien de moins qu'émotive! Ainsi, comme toute expédition, le chemin est criblé de doute, de découragement et d'épuisement, mais il est surtout pavé de défis stimulants et enrichissants. Au bout de la ligne, on se rend compte que durant deux années, ce n'est pas d'apprendre qui a été difficile, car on le fait depuis si longtemps, mais c'est d'avoir été confronté à ses propres limites et d'avoir su trouver le courage et la persévérance pour réussir à les dépasser. Et l'enrichissement provient justement de cette bataille livrée contre soi-même et qui mène à la découverte de nouveaux mondes. Toutefois, sans l'appui de ceux qui nous entourent, l'obstacle est pratiquement infranchissable...

Je remercie donc tout particulièrement mon directeur de recherche, le Dr Guy Massicotte, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour m'avoir poussé au-delà de mes limites et pour avoir démontré une patience remarquable envers un esprit dispersé comme le mien... J'ai appris beaucoup de toi et je t'en suis reconnaissant. Je remercie très profondément Luc Marchand, le technicien du laboratoire, pour la correction minutieuse de ce manuscrit, mais surtout pour son aide inestimable, ses précieux conseils et sa sagesse. Tu es à la fois un père, un frère et un ami qu'on gagne à connaître et, plus que tout, à écouter. Un merci tout spécial au Dr Joël Gagné et au Dr Othman Ghribi, mes amis et compagnons de laboratoire. Les parties de golf jouées ensembles furent des moments mémorables... et que dire des 19^e trous! Merci aussi à celles qui m'ont côtoyé dans le laboratoire : Judith Cossette, Martine

Girard et Barbara Valastro. Votre amitié m'est chère et ma maîtrise n'aurait pas été aussi agréable sans votre compagnie. Un gros merci également à mon pote et ex-coloc, Francis Périgny, avec lequel j'ai eu d'innombrables discussions philosophiques et un plaisir fou à déconner. Le plus sincère des merci à mon oncle François Lapierre et à sa chaleureuse famille pour le support qu'ils m'ont donné lorsque j'en avais besoin. Vous demandez peu, vous partagez tant, et en cela est votre richesse. À ma grand-maman, Noëlla Lapierre, j'offre mon plus tendre merci pour son hospitalité et ses attentions tant appréciées. Je conserve un agréable souvenir des matinées où nous faisons ensemble le mot-croisé du journal. Je remercie de tout mon cœur mes parents, Francine et Michel, et mon cher frère, Éric, pour leur amour, leurs encouragements, leur support et leurs conseils. Je vous aime et ma vie serait vide sans vous. Enfin, je remercie ma filleule, Océanne, âgée de 22 mois, dont la venue dans ma vie est comme un rayon de soleil dont la beauté surpasse celle du bleu profond de la mer...

Par ailleurs, je remercie les organismes suivant pour leur contribution financière et sans lesquels ma vie d'étudiant n'aurait été que plus difficile : Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG), Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche (FCAR), Fonds de Recherche en Santé du Québec (FRSQ).

Finalement , j'aimerais exprimer ma profonde gratitude aux arbres qui, par le don généreux de leur vie, ont permis de fabriquer le papier sur lequel ce mémoire est imprimé... et espérons qu'un jour ce papier sera fait de chanvre!

Luc Lapierre
Trois-Rivières, le 9 juillet 2000

1 INTRODUCTION

1.1 Généralités

Le cerveau est un organe complexe dont l'étendue de ses capacités demeure imprécise à ce jour. Toutefois, l'effort de recherche en neurosciences est considérable et, progressivement, l'anatomie, l'histologie, la biochimie et la physiologie de cet organe se sont détaillées au fil des ans avec comme conséquence une amélioration de la compréhension des diverses fonctions cérébrales et des pathologies qui y sont associées. Il aura tout de même fallu près de trois siècles de recherches et d'expérimentations pour arriver, à partir des débuts de l'exploration du tissu cérébral, à élaborer une esquisse des mécanismes fins de la régulation des récepteurs glutamatergiques dont une partie est l'objet du présent mémoire. Un bref aperçu des événements historiques entourant le développement des concepts de neurotransmetteur et de récepteur permettra de mieux comprendre les détails de ces mécanismes de régulation qui seront décrits ultérieurement.

Les premières descriptions microscopiques du tissu nerveux remontent au XVIII^e siècle lorsque Antony van Leeuwenhoek y observe des structures tubulaires (1718)¹. Dans le siècle qui suivit, Fontana y fit l'observation de structures fibrillaires (1781), puis, en 1824, Dutrochet repéra des structures d'une nature différente qu'il désigna par le terme de «cellules

¹ Les références historiques proviennent des ouvrages suivants : Dupont J.C. (1999), Levine R.R. (1996), Zigmond M.J. et coll. (1999).

globuleuses». Mais ce n'est qu'à la fin du XIX^e siècle que la microanatomie des cellules nerveuses et de leurs multiples connections est révélée de façon précise par l'entremise des travaux de Santiago Ramón y Cajal. Ses observations lui permettent d'affirmer, dès 1888, que les neurones ne sont pas des éléments liés en «continuité», mais bien des unités distinctes liées entre elles par «contiguïté» et possédant des points de contacts péricellulaires² (Ramón y Cajal, 1894). Puis, en 1897, un dénommé Charles Scott Sherrington introduit le terme de synapse pour désigner ces «articulations» cellulaires dont l'existence sera définitivement acceptée au milieu du XX^e siècle suite à leur observation au microscope électronique (Palade et Palay, 1954). Toutefois, au moment où Sherrington propose ce terme, le moyen utilisé par les neurones pour communiquer entre eux et avec d'autres cellules est inconnu. En 1904, Thomas R. Elliott formule la première hypothèse solide de la neurotransmission chimique³, ou humorale, suite à ses travaux sur les effets sympathomimétiques de l'adrénaline (Elliott, 1904), mais ce n'est qu'environ 15 ans plus tard que Otto Loewi en obtient les premières preuves expérimentales concluantes⁴. En effet, il démontre, d'abord, en travaillant sur le cœur isolé de grenouille et/ou de crapaud, que, suite à la stimulation du nerf cardiaque, le cœur libère diverses substances dans le liquide de perfusion (Loewi, 1918; Loewi et Lieb, 1919). Puis, il observe que, lorsque remis en contact avec le cœur après un temps de repos, ce perfusé «actif» provoque les mêmes effets⁵ qu'une stimulation du nerf cardiaque (Loewi, 1921, 1922). Finalement, il démontre que ces effets du perfusé «actif» sont dus à la substance «cardiaque»

² Ce postulat est mieux connu sous le terme de «doctrine du neurone».

³ En résumé : lorsqu'un influx nerveux (dans un nerf sympathique) atteint une cellule (musculaire lisse), le nerf excité libère localement une substance chimique (adrénaline) médiatrice de la stimulation ou de l'inhibition des fonctions de cette cellule.

⁴ J.C. Eccles fournit, en 1951, la preuve électrophysiologique de son existence (voir Eccles, 1982).

⁵ C'est-à-dire des effets inotropes (force contractile) et chronotropes (fréquence cardiaque) négatifs chez la grenouille, et positifs chez le crapaud.

libérée dont l'action est, d'une part, liée uniquement à sa concentration (Loewi, 1924) et, d'autre part, localisée sur l'organe effecteur, non pas sur les terminaisons nerveuses afférentes (Loewi et Navratil, 1924). À partir de ce moment, il n'y avait plus de doute quant à l'existence des neurotransmetteurs⁶ (NT), et ce n'était qu'une question de temps avant que l'on puisse déterminer leur nature chimique. Ce qui arriva assez rapidement pour le premier NT, l'acétylcholine, identifié par Loewi et Navratil en 1926 (Loewi et Navratil, 1926a-1926b). D'autres études, dont celle de Feldberg et Gaddum (1934), viendront ultérieurement confirmer cette identification. Puis, la liste s'allongea avec l'ajout, dans les années 60, du glutamate (Takeuchi et Takeuchi, 1963). Initialement, on constata que cet acide aminé avait une action dépolarisante sur certains neurones (Curtis et coll., 1959, 1961; Curtis et Watkins 1960, 1961), et il fut ultérieurement reconnu comme le principal NT excitateur⁷ du système nerveux central des vertébrés (en revue par Collingridge et Lester, 1989; Monaghan et coll., 1989; Mayer et Westbrook, 1987b).

Par ailleurs, au moment où la théorie de la neurotransmission chimique prend forme, Paul Ehrlich développe la notion de substance réceptrice humorale et cellulaire pour l'aider à expliquer les interactions spécifiques observées entre anticorps et antigènes⁸, puis entre dérivés organiques de synthèse et micro-organismes. Suite à des travaux sur des dérivés de la cocaïne (1898), il propose également que l'action pharmacologique inhérente à certains

⁶ À distinguer de neuromédiateur, terme désignant l'ensemble des substances neuro-actives (neurotransmetteurs, neuromodulateurs et neurohormones) jouant un rôle dans les communications cellulaires.

⁷ Dont l'action entraîne une dépolarisation membranaire qui favorise le développement de potentiels d'action dans l'élément postsynaptique.

⁸ C'est suite à ses travaux sur les réactions antigènes/anticorps que Ehrlich formula, en 1900, sa fameuse théorie selon laquelle la surface des globules blancs serait couverte d'une multitude de chaînes latérales, ou récepteurs, qui forment des liens chimiques avec les antigènes qu'elles rencontrent (Ehrlich, 1900; résumé extrait de Cziko, 1995).

composés est possible seulement s'ils se lient spécifiquement, telle une clé dans une serrure⁹, aux «récepteurs» situés, selon lui, à la périphérie des cellules. En 1906, J.N. Langley, s'inspirant des théories de Ehrlich, propose que les effets de la nicotine et du curare sur la contraction musculaire s'expliqueraient par leur action sur des substances réceptrices situées dans les muscles (Langley, 1906). Ce concept de substances réceptrices apporta un soutien important à la théorie chimique de la neurotransmission. Néanmoins, ce n'est qu'avec l'explosion chimiothérapeutique¹⁰ des années 30 et les multiples études effectuées sur les effets des agonistes et des antagonistes¹¹ dès le début des années 40, que cette notion pharmacologique des récepteurs¹² est devenue progressivement une théorie constituant les assises de la pharmacologie moléculaire actuelle. Il fallut toutefois attendre jusqu'au début des années 70 pour que le récepteur, déjà hypothétiquement reconnu par les pharmacologues, ne devienne une espèce chimique isolée et que, par conséquent, la neurobiologie et la neuropharmacologie moléculaires ne prennent leur essor. Cette percée scientifique est attribuée à l'équipe de Jean-Pierre Changeux qui, en 1970, isole le récepteur de l'acétylcholine par extraction à partir de l'organe électrique de la raie *Torpedo* (Changeux et coll., 1970). À cette époque, les récepteurs glutamatergiques (RGLU) ne sont que très peu connus, mais, au courant des années 70, l'équipe de Jeffrey Watkins développe des agonistes sélectifs et réussit à caractériser pharmacologiquement les différents sous-types de cette catégorie de récepteurs (en revue par Watkins et coll., 1990). Puis, en 1989, l'équipe de Stephen Heinemann isole les

⁹ Parallèlement, Emil Fisher avait, dès 1894, énoncé l'idée d'une complémentarité entre structures différentes suite à ses travaux sur les enzymes.

¹⁰ C'est-à-dire l'essor de la thérapeutique basée sur les relations entre la structure chimique et l'activité pharmacologique des médicaments.

¹¹ C'est J.H. Gaddum qui introduit ce terme en 1926 et formule, en 1937, la notion d'antagoniste compétitif.

¹² Pour en savoir plus sur l'histoire des récepteurs, voir : Bacq (1980), Carrier (1986), Changeux (1980), Parascandola (1986), Waser (1986).

premiers RGLU en exprimant, dans les oocytes de *Xenopus*, le produit protéique d'ADN complémentaire cloné (Hollmann M. et coll., 1989). À partir de ce moment, la caractérisation des RGLU au niveau moléculaire est devenue possible et a permis de mieux comprendre la physiologie des synapses glutamatergiques.

De nos jours, il est reconnu que le système glutamatergique est impliqué dans plusieurs phénomènes et fonctions cérébrales, tels la plasticité neuronale, la mémoire et l'apprentissage, mais aussi dans la physiopathologie de diverses affections neurologiques aiguës et chroniques. Dans la présente introduction, nous ferons un bref survol de ces aspects, mais d'abord, nous réviserons les caractéristiques pharmacologiques et moléculaires des récepteurs glutamatergiques, leurs interactions avec diverses protéines cellulaires, tant structurelles que régulatrices, de même que leur régulation par le calcium et différentes enzymes cellulaires.

1.2 Aspects pharmacologiques et moléculaires des récepteurs glutamatergiques

Les récepteurs à neurotransmetteurs¹³ se divisent en deux types structuraux : ionotropes ou métabotropes. Un récepteur ionotrope est un complexe de sous-unités protéiques individuelles qui forment, en se combinant, un canal ionique transmembranaire. La sélectivité ionique du canal est différente selon le type, et sa perméabilité est fonction à la fois de sa structure et de l'état d'activation du récepteur. Les récepteurs métabotropes, quant à eux, sont formés par un unique polypeptide couplé à une ou plusieurs cascades de seconds messagers par l'intermédiaire de protéines G. Historiquement, les RGLU ionotropes ont été séparés en sous-types NMDA (*N*-méthyl-D-aspartate) et non-NMDA selon qu'ils liaient ou non l'agoniste NMDA. Puis, ils ont été divisés en 3 sous-types : les récepteurs NMDA, les récepteurs AMPA¹⁴ (α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionate) et les récepteurs kaïnate (KA), respectivement selon leur affinité sélective pour chacun de ces agonistes glutamatergiques (Dingledine et coll., 1999; Watkins et coll., 1990).

Les études de clonage effectuées durant la dernière décennie ont cependant révélé que la diversité des RGLU est plus grande que celle observée initialement par les études électrophysiologiques et pharmacologiques. Ainsi, jusqu'à maintenant, 17 sous-unités de RGLU ionotropes (Tableau I) (Dingledine et coll., 1999; Ozawa et coll., 1998), 4 pour les récepteurs AMPA (GluR1-GluR4), 5 pour les récepteurs KA (GluR5-GluR7, KA1 et KA2), 5 pour les récepteurs NMDA (NR1, NR2A-NR2D et NR3A) et 2 sous-unités orphelines (δ 1

¹³ Les informations générales sur les récepteurs à NT sont tirées de Waxham (1999).

¹⁴ Ces récepteurs ont été initialement nommés récepteurs quisqualate, mais à cause de la faible discrimination qu'offrait cet agoniste entre récepteurs AMPA et RGLU métabotropes, cette dénomination a été abandonnée.

Tableau I : Les sous-unités des récepteurs glutamatergiques ionotropes

Groupe	Famille de récepteur	Sous-unité	Gène
1	AMPA	GluR1	<i>GRIA1</i>
1	AMPA	GluR2	<i>GRIA2</i>
1	AMPA	GluR3	<i>GRIA3</i>
1	AMPA	GluR4	<i>GRIA4</i>
2	KA	GluR5	<i>GRIK1</i>
2	KA	GluR6	<i>GRIK2</i>
2	KA	GluR7	<i>GRIK3</i>
3	KA	KA1	<i>GRIK4</i>
3	KA	KA2	<i>GRIK5</i>
4	NMDA	NR1	<i>GRIN1</i>
5	NMDA	NR2A	<i>GRIN2A</i>
5	NMDA	NR2B	<i>GRIN2B</i>
5	NMDA	NR2C	<i>GRIN2C</i>
5	NMDA	NR2D	<i>GRIN2D</i>
6	NMDA	NR3A	<i>GRIN3A</i>
7	orphelin	$\delta 1$	<i>GRID1</i>
7	orphelin	$\delta 2$	<i>GRID2</i>

Tiré de Dingledine et coll., 1999.

et $\delta 2$), et 8 types de récepteurs glutamatergiques métabotropes (RGLUm) (Tableau II) (Conn et Pin, 1997; Ozawa et coll., 1998; Shoepf et coll., 1999) ont été répertoriés chez les mammifères. Les sous-unités des RGLU ionotropes ont une structure et une topologie similaire (Fig. 1). Elles possèdent un large domaine N-terminal et 4 segments membranaires hydrophobes (M1-M4). Selon une étude topologique effectuée sur la sous-unité GluR1 des récepteurs AMPA (Hollmann et coll., 1994), le domaine N-terminal est extracellulaire, le domaine C-terminal est intracellulaire et seul le segment M2 n'est pas transmembranaire. Il est apparu que ce modèle est également applicable aux sous-unités des récepteurs NMDA et KA (Bennett et Dingledine, 1995; Laube et coll., 1997; Wo et Oswald, 1994,1995; Wood et coll., 1995). Il semblerait que ce soit les domaines membranaires qui régissent l'assemblage

des sous-unités (Stern-Bach et coll., 1994). Selon les études considérées, un groupement de 4 ou 5 sous-unités (tétramère ou pentamère) identiques ou différentes (groupements homo- ou hétéromériques) permettrait de former des récepteurs fonctionnels possédant un ou plusieurs sites de liaison pour les agonistes, les co-agonistes et les antagonistes (Dingledine et coll., 1999; Ziff, 1999). Ces sites de liaison, présents sur chacune des sous-unités des RGLU ionotropes, sont des pochettes d'acides aminés formées par deux segments, S1 et S2 (voir Fig.1), le premier étant situé en N-terminal de M1 et le second, entre M3 et M4 (Stern-Bach et coll., 1994; Uchino et coll., 1992; en revue par Dingledine et coll., 1999; Ozawa et coll., 1998; Ziff, 1999). Bref, tous ces récepteurs lient le neurotransmetteur endogène L-glutamate qui est relâché par l'élément présynaptique, mais leur mode d'activation, leur composition moléculaire, leurs actions sur les mécanismes cellulaires et leurs affinités pour une variété de ligands exogènes diffèrent.

Tableau II : Les sous-unités des récepteurs glutamatergiques métabotropes

Espèces	Sous-unités (groupe)	Nb d'a.a. (% d'homologie rat vs humain)	Couplage
rat, humain	mGlu1a (I)	1199 / 1194 (98)	hydrolyse des PI
rat, humain	mGlu1b (I)	906 / 906 (99.8)	hydrolyse des PI
rat	mGlu1c (I)	897	hydrolyse des PI
humain	mGlu1d (I)	908	hydrolyse des PI
rat	mGlu1e (I)	578	???
rat, humain	mGlu2 (II)	872 / 872 (97)	↓ AMPc
rat, humain	mGlu3 (II)	879 / 879 (96-97)	↓ AMPc
rat, humain	mGlu4a (III)	912 / 912 (96)	↓ AMPc
rat	mGlu4b (III)	983	↓ AMPc
rat, humain	mGlu5a (I)	1171 / 1171 (95)	hydrolyse des PI
rat, humain	mGlu5b (I)	1203 / 906 (98)	hydrolyse des PI
rat, humain	mGlu6 (III)	871 / 877 (94)	↓ AMPc
rat, humain	mGlu7a (III)	915 / 915 (99)	↓ AMPc
rat, humain	mGlu7b (III)	922 / 922 (99)	↓ AMPc
rat, humain, souris	mGlu8a (III)	908 / 909 / 908 (99)	↓ AMPc
rat, humain	mGlu8b (III)	908 / 909	↓ AMPc
humain	mGlu8c (III)	501	???

Les RGLUm sont divisés en trois groupes selon le degré d'homologie de leur séquence d'a.a., le système de seconds messagers auquel ils sont couplés et le ligand qui les active le plus efficacement (quisqualate pour le groupe I, L-CCG-I pour le groupe II et L-AP4 pour le groupe III). a.a., acides aminés; AMPc, adénosine monophosphate cyclique; L-AP4, L-2-amino-4-phosphonobutanoate; L-CCG-I, (2*S*,1'*S*,2'*S*)-2-(carboxycyclopropyl)glycine; PI, phosphoinositides. Tiré de Schoepp et coll., 1999.

prédominante, mais quelques jours après la naissance, la forme flop apparaît progressivement et, dans le cerveau adulte, les deux formes atteignent des niveaux d'expression similaires. Néanmoins, certaines populations neuronales matures, comme les cellules pyramidales de la région CA₃ de l'hippocampe ou le gyrus dentelé et la région CA₁ de cette même structure (voir Fig. 2 pour les régions cérébrales), peuvent n'exprimer que la forme flip ou flop, respectivement (Monyer et coll., 1991; Sommer et coll., 1990). GluR2 et GluR4 possèdent également une séquence C-terminale alternante, produite elle aussi par épissage alternatif (Gallo et coll., 1992; Köhler et coll., 1994). De plus, 2 sites de l'ARN de certaines sous-unités (site Q/R, pour les GluR2, et site R/G pour les GluR2-GluR4)¹⁵ peuvent subir, à partir d'un certain stade du développement embryonnaire (Burnashev et coll., 1992; Higushi et coll., 1993), une modification ponctuelle dirigée de leur ARN («site-directed nuclear RNA editing») qui augmente la diversité des sous-unités des récepteurs AMPA (voir Fig. 1) (Lomeli et coll., 1994; Sommer et coll., 1991; en revue par Seeburg, 1996). Bref, les récepteurs AMPA sont des assemblages homomériques ou hétéromériques de ces sous-unités, et leurs propriétés fonctionnelles diffèrent selon la composition de ces assemblages.

La fonction excitatrice rapide des récepteurs AMPA résulte à la fois de leur cinétique rapide, *i.e.* qu'ils s'ouvrent, se ferment et se désensibilisent rapidement¹⁶, et de la dépolarisation membranaire qu'ils induisent dans l'élément postsynaptique lorsqu'ils sont activés. Cette dépolarisation membranaire est provoquée par un échange sodique et potassique qui est assuré par la perméabilité du canal aux cations monovalents (Na⁺ et K⁺)¹⁷ (en revue par

¹⁵ Q = glutamine, R = arginine, G = glycine.

¹⁶ Le temps d'ouverture moyen des récepteurs AMPA est de l'ordre de 1 ms et, selon leur composition en sous-unités, ils se désensibilisent en environ 1 à 6 ms pour un temps de récupération variant de 6 jusqu'à 147 ms (en revue par Dingledine et coll., 1999; Ozawa et coll., 1998).

¹⁷ Tous les RGLU sont perméables au Na⁺ et au K⁺ et certains, notamment les récepteurs NMDA, sont perméables aux ions calcium (Ca²⁺) (Dingledine et coll., 1999).

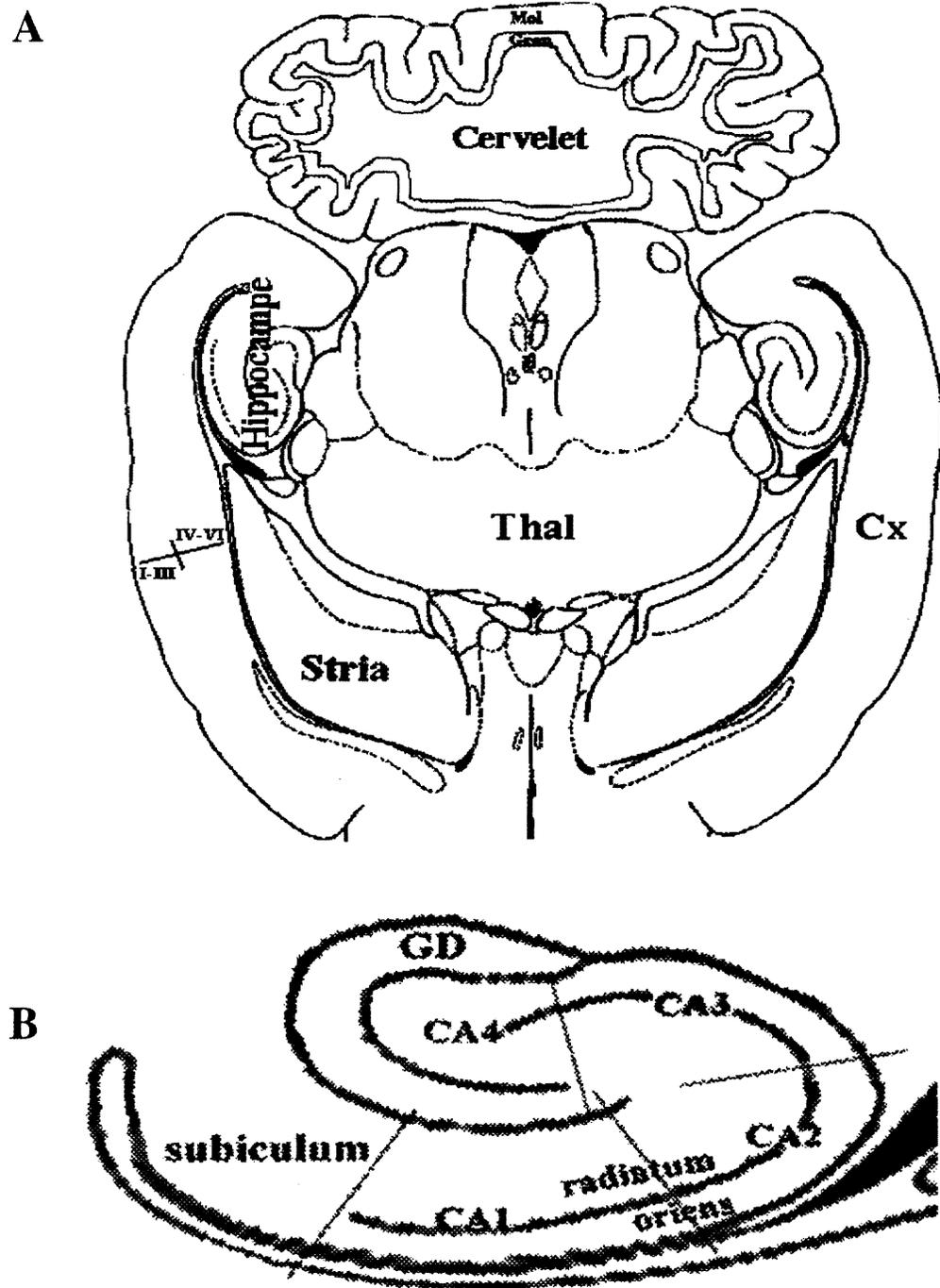


Figure 2 : Les régions du cerveau de souris en coupe horizontale. A) Schéma d'une coupe horizontale de cerveau de souris au niveau de l'hippocampe dorsal. Le cortex cérébral (Cx, niveau pariéto-temporal; I-III, couches externes; IV-VI, couches internes), la formation hippocampale, le complexe amygdaloïde (non visible) et les ganglions de la base, dont la composante principale est le striatum (Stria), forment le télencéphale, *i.e.* les hémisphères cérébraux. B) Vue détaillée de la formation hippocampale et de ses 3 composantes : le subiculum, la corne d'Ammon (CA) et le gyrus dentelé (GD, sur le *stratum moleculare*). Gran et Mol, *strata granulare* et *moleculare* du cortex cérébelleux; Thal; thalamus.

Dingledine et coll., 1999; Ozawa et coll., 1998). Néanmoins, des études électrophysiologiques ont montré que certains récepteurs AMPA sont hautement perméables aux ions calcium (Ca^{2+}) et autres cations divalents (Iino et coll., 1990), une caractéristique particulière retrouvée uniquement chez les récepteurs ne possédant pas la sous-unité GluR2 (en revue par Dingledine et coll., 1999; Jonas et Burnashev, 1995; Ozawa et coll., 1998). Toutefois, comme GluR2 est exprimée de façon ubiquitaire dans le système nerveux central (SNC), peu de récepteurs AMPA sont perméables au Ca^{2+} , et la plupart des neurones qui en possèdent sont des neurones GABAergiques¹⁸ qui expriment une protéine de liaison du Ca^{2+} , la parvalbumine (Bochet et coll., 1994; Jonas et coll., 1994; Kondo et coll., 1997; Leranth et coll., 1996). Cette propriété unique de GluR2 à contrôler la perméabilité calcique des récepteurs AMPA est attribuable à un seul résidu d'acide aminé, une arginine (R), situé dans le segment M2 au fameux site Q/R (voir ci-haut et Fig.1) (Burnashev et coll., 1992a; Hume et coll., 1991; Mishina et coll., 1991). Cette arginine, parce que chargée positivement et située près de l'entrée du canal, empêche le passage de l'ion calcium. À l'opposé, GluR1, GluR3 et GluR4, de même que les GluR2 non modifiées, possèdent, au site Q/R, une glutamine (Q) dont la charge est neutre. Ainsi, un assemblage de ces sous-unités forme des canaux perméables au Ca^{2+} . Par ailleurs, l'AMPA et le glutamate, mais pas le KA, évoquent une profonde désensibilisation des récepteurs AMPA (Kiskin et coll., 1986; Tang et coll., 1989; Trussel et coll., 1988) dont la vitesse, tout de même élevée, est influencée par les caractéristiques des sous-unités. En effet, les récepteurs AMPA composés de sous-unités n'ayant pas subi au site R/G (voir ci-haut et Fig.1) une modification ponctuelle (Lomeli et coll., 1994) ou présentant, à l'exception de GluR1, la forme flop (Bochet et coll., 1994; Mosbacher et coll., 1994), se caractérisent par une désensibilisation

¹⁸ *i.e.* des neurones dont le NT principal est l'acide γ -aminobutyrique (GABA), le NT inhibiteur majoritaire du système nerveux central.

plus rapide et plus profonde. Les régulateurs allostériques, tels la cyclothiazide ou l'aniracétam, affectent les mécanismes de désensibilisation et, par conséquent, en modifient également la vitesse (en revue par Dingledine et coll., 1999; Ozawa et coll., 1998).

Au moins trois sites de liaison, au niveau desquels différentes molécules peuvent agir, sont retrouvés sur les récepteurs AMPA. Le site de liaison du glutamate est le lieu de compétition entre agonistes (glutamate, KA, AMPA et dérivés, willardiine et dérivés, quisqualate, domoate)¹⁹ et antagonistes (CNQX et analogues²⁰) (pour une revue des ligands des RGLU voir Dev et Henley, 1998; Dingledine et coll., 1999; Lees, 1996; Ozawa et coll., 1998). Des études cinétiques de la liaison de l'AMPA tritié ([³H]AMPA) ont révélé que ce site de liaison possède 2 états d'affinité définis comme sites de haute ou de basse affinité (pour une revue, voir Dev et Henley, 1998). Dans ces études, environ 80% du [³H]AMPA, à une concentration de 5 nM, est lié aux sites de basse affinité (Honoré et Drejer, 1988; Olsen et coll., 1987) dont le nombre est grandement supérieur à celui des sites de haute affinité (Dev et coll., 1996; Sheardown et coll., 1990). En autoradiographie, les sites de haute affinité sont principalement détectés, du moins dans l'hippocampe, au niveau de la couche des corps cellulaires, le *stratum pyramidale*, tandis que les sites de basse affinité sont présents dans les *strata oriens et radiatum*, là où les synapses sont concentrées (Dev et coll., 1996; Young et Fagg, 1990). Ainsi, c'est dans la fraction microsomale (P3), ou cytosolique, de préparations membranaires de tissu cérébral que sont retrouvés les sites de haute affinités, tandis que les sites de basse affinité sont, eux, associés à la fraction synaptosomale (P2) (Henley, 1995;

¹⁹ Le degré d'affinité de ces ligands pour le récepteur AMPA est, en ordre croissant : quisqualate > (s)-5-fluorowillardiine > AMPA > glutamate >> kaïnate > domoate.

²⁰ Ce sont des quinoxalines dont le pouvoir de discrimination entre récepteurs AMPA et récepteurs KA est variable : CNQX = DNQX < NBQX < YM90K. CNQX : 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione. DNQX : 6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione. NBQX : 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulphamoyl-benzo(F)quinoxaline. YM90K : 6-(1H-imidazole-1-yl)-7-nitro-2,3(1H,4H)-quinoxalinedione.

Standley et coll., 1994, 1998a, 1998b; Tocco et coll., 1992c). L'état d'affinité du récepteur AMPA n'est pas déterminé par sa composition en sous-unités, car toutes lient le [³H]AMPA avec la même affinité (Honoré et coll., 1986), mais il a été suggéré que cet état serait contrôlé par une hypothétique protéine modulatrice (Honoré et Nielsen, 1985) et influencé par l'environnement lipidique du récepteur (Massicotte et Baudry, 1990). D'autres sites sur les sous-unités vont lier des régulateurs allostériques, tels la cyclothiazide, l'aniracetam et le diazoxide, ou des antagonistes non-compétitifs, soit certaines benzodiazépines atypiques. Tout en agissant probablement sur des sites différents (Johansen et coll., 1995; Partin et Mayer, 1996; Randle et coll., 1993), ces régulateurs allostériques potentialisent la réponse des récepteurs AMPA en ralentissant leur vitesse de désensibilisation, tandis que les antagonistes non-compétitifs viendraient l'accélérer. Enfin, une troisième catégorie de molécules, des toxines d'araignées ou de guêpes et leurs analogues (ex. argiotoxine, spermine, philanthotoxine), vont, en se liant à l'intérieur même du canal, bloquer la transmission synaptique glutamatergique (en revue par Bowie et coll., 1999). Toutefois, ces molécules sont hautement sélectives et n'affectent que les récepteurs AMPA qui possèdent la sous-unité GluR2 non modifiée au site Q/R et qui, par conséquent, sont perméables au Ca²⁺. De plus, ce blocage est non-compétitif puisque les toxines et leurs dérivés n'agissent que sur les récepteurs activés dont l'ouverture du canal libère l'accès au site de liaison.

La distribution des récepteurs AMPA est ubiquitaire dans l'ensemble du SNC, quoique des différences régionales de densité sont manifestes. Ainsi, des études de liaisons effectuées avec le [³H]AMPA sur des coupes de rats (Chabot et coll., 1997; Foster et coll., 1996; Gagné et coll., 1996, 1997, 1998; Insel et coll., 1990; Monaghan et coll., 1984; Nielsen et coll., 1990; Olsen et coll., 1987) ont révélé que l'hippocampe est une structure possédant une densité de liaison intense qui est légèrement plus élevée dans la région CA₁ que dans la CA₃, d'une part,

et dans la couche de cellules pyramidales que dans les *stratum oriens* et *radiatum*, d'autre part (voir Fig.2 pour les régions cérébrales). La densité de liaison dans la couche moléculaire du gyrus dentelé est également élevée. Des niveaux intermédiaires, qui varient selon les études, sont retrouvés dans le cortex, avec une densité plus élevée pour les couches superficielles (I-III ou cortex externe), le striatum (noyau caudé-putamen) et la couche moléculaire du cervelet. Les plus faibles densités sont retrouvées dans le diencephale (thalamus), le tronc cérébral, et la couche granulaire du cortex cérébelleux. Des études d'hybridation histochimique *in situ* (Bahn et Wisden, 1996; Monyer et coll., 1991; Sommer et coll., 1990) et d'immunohistochimie (1996; Petralia et Wenthold, 1992) ont permis de révéler que les quatre sous-unités des récepteurs AMPA sont coexprimées dans la majorité des régions du cerveau des mammifères adultes. Toutefois, le niveau d'expression de chacune de ces sous-unités varie d'une région cérébrale à l'autre selon un patron de distribution similaire à celui observé avec les études de liaison. Au niveau cellulaire, les études d'immunohistochimie ont révélé que les 4 sous-unités étaient retrouvées dans le cytoplasme et dans la membrane plasmique du corps cellulaire et des dendrites (Petralia et Wenthold, 1992). Le marquage des sous-unités dans le cytoplasme s'est révélé être épars et serait le résultat du transport des récepteurs en partance ou vers la membrane cytoplasmique. Les récepteurs de la membrane, quant à eux, seraient principalement localisés au niveau des densités postsynaptiques (DPS; voir section 1.3) (Petralia et Wenthold, 1992), et correspondent, comme mentionné précédemment, aux sites de basse affinité (Standley et coll., 1994; Tocco et coll., 1992c). Toutefois, au cours du développement embryonnaire, les récepteurs AMPA sont d'abord uniformément répartis dans le neurone, puis se concentrent au niveau des dendrites pour finalement être confinés en groupes restreints dans les densités postsynaptiques des épines dendritiques (Craig et coll., 1993). Enfin, des études en microscopie électronique de synapses marquées à l'or par

immuno-sélection (*immunogold labeling*) ont permis de révéler que les récepteurs AMPA étaient distribués de façon relativement uniforme au sein de la membrane postsynaptique contrairement aux récepteurs NMDA qui tendent à être confinés près du centre des synapses (Kharaziga et Wienberg, 1997; Somogyi et coll., 1998).

1.2.2 Les récepteurs kainate

Les récepteurs KA se distinguent pharmacologiquement des récepteurs AMPA du fait que les cinq sous-unités entrant dans leur composition ont une plus forte affinité pour le KA que pour l'AMPA. Les sous-unités GluR5-GluR7 sont de tailles similaires (~900 a.a.) et leur séquence d'acides aminés sont homologues à 75-80% entre elles et à ~40% par rapport aux sous-unités GluR1-GluR4 des récepteurs AMPA. KA1-KA2 sont légèrement plus volumineuses (~970 a.a.) avec une homologie de séquence d'acides aminés de l'ordre de 70% entre elles, et de ~40% lorsque comparées à celles de GluR1-GluR4 ou GluR5-GluR7. Il est fort probable que les récepteurs KA soient formés par un assemblage hétéromérique de ces sous-unités, selon différents ratios et combinaisons, puisque 1) des assemblages homomériques avec GluR7, KA1 ou KA2 ne forment pas de récepteurs fonctionnels (Bettler et coll., 1992; Herb et coll., 1992; Lomeli et coll., 1992; Werner et coll., 1991), et 2) GluR5-GluR6 sont coexprimées avec au moins l'une de ces sous-unités «non-fonctionnelles» dans une même population de neurones (Bahn et coll., 1994; Wisden et Seeburg, 1993). Par ailleurs, comme pour les sous-unités des récepteurs AMPA, des modifications ponctuelles de l'ARN ont été retrouvées sur les sous-unités GluR5 et GluR6 : un site Q/R dans le segment M2 (Sommer et coll., 1991), et 2 sites (I/V et Y/C)²¹ dans le segment transmembranaire M1 (voir Fig. 1)

²¹ I = isoleucine, V = valine, Y = tyrosine, C = cystéine.

(Köhler et coll., 1993; en revue par Dingledine et coll., 1999; Seeburg, 1996). Cependant, contrairement à GluR2, la modification de l'ARN au site Q/R, qui s'effectue aussi durant le développement embryonnaire, n'est pas complète. Ainsi, les deux formes de GluR5 et GluR6, modifiées ou non, sont retrouvées dans le cerveau mature. De plus, selon les mêmes raisons énoncées pour les récepteurs AMPA, les sous-unités qui conservent leur glutamine (Q) au site Q/R sont perméables au Ca^{2+} (Dingledine et coll., 1999). Enfin, GluR5-GluR7 possèdent également une séquence C-terminale alternante produite par épissage alternatif (Gallo et coll., 1992; Köhler et coll., 1994).

De façon similaire aux récepteurs AMPA, on retrouve des états de haute et de basse affinité pour les récepteurs KA envers le [^3H]KA. Toutefois, et contrairement aux récepteurs AMPA, les sites de haute et de basse affinité sont respectivement associés aux sous-unités KA1-KA2 et GluR5-GluR7 (Bettler et coll., 1990, 1992; Honoré et coll., 1986; Lomeli et coll., 1992; Ogita et coll., 1994; Werner et coll., 1991; Young et Fagg, 1990). Ces sites de liaison sont abondamment retrouvés dans l'ensemble du SNC, mais une plus forte densité est retrouvée au niveau de la région CA₃ de l'hippocampe et dans le *stratum granulare* du cortex cérébelleux (Foster et coll., 1981; Miller et coll., 1990; Monaghan et Cotman, 1982; Represa et coll., 1987). Toutefois, chacune des sous-unités qui forment les récepteurs KA ont une distribution différentielle : KA1 est présente surtout dans la région CA₃ et le gyrus dentelé de l'hippocampe, KA2 est exprimée de façon ubiquitaire, GluR5-GluR7 sont retrouvés dans différentes régions, avec une faible expression de GluR6 au niveau de l'hippocampe. Il est apparu que les sous-unités des récepteurs KA et AMPA peuvent être coexprimées dans le même neurone (Mackler et Eberwine, 1993), mais jamais elles ne semblent s'agencer ensemble pour former des récepteurs mixtes (Wenthold et coll., 1994).

1.2.3 Les récepteurs NMDA

Les récepteurs AMPA et NMDA sont généralement co-activés durant la transmission synaptique à la plupart des synapses glutamatergiques du SNC. Néanmoins, contrairement aux récepteurs AMPA, les récepteurs NMDA médient une neurotransmission excitatrice retardée et de durée plus longue due à leur cinétique relativement plus lente²² que celle des récepteurs AMPA. Cette particularité est associée à une plus grande affinité des récepteurs NMDA envers le glutamate ($EC_{50} \sim 1 \mu M$) comparativement à celle que démontrent les récepteurs AMPA ($EC_{50} \sim 500 \mu M$) (pour une revue voir Dingledine et Coll., 1999; McBain et Mayer, 1994; Ozawa et coll., 1998; Ziff, 1999). Le clonage et l'expression dans des oocytes de la première sous-unité des récepteurs NMDA, NR1, ont été effectués par Moriyoshi et coll. en 1991. Cette étude a permis de décrire et de confirmer trois des plus importantes caractéristiques des récepteurs NMDA : 1) le canal est obstrué par des ions magnésium (Mg^{2+}), dont l'action bloquante est dépendante du potentiel membranaire²³; 2) la glycine agit comme co-agoniste du glutamate puisqu'elle est nécessaire pour l'ouverture efficace du canal²⁴; 3) le canal est perméable aux ions calcium et autres cations divalents²⁵ en plus des cations monovalents (Na^+ et K^+). Ainsi, l'activation des récepteurs NMDA nécessite à la fois la liaison du glutamate et une dépolarisation membranaire suffisante, généralement fournie par l'activation préalable des récepteurs AMPA et KA, pour lever le blocage du canal. Contrairement aux récepteurs AMPA et KA, les sous-unités des récepteurs NMDA ne peuvent

²² Les récepteurs NMDA prennent de 10 à 50 ms de plus que les récepteurs AMPA pour s'activer (Wyllie et coll., 1998). Selon leur composition en sous-unités, leur temps d'ouverture moyen varie entre 0.1 et 8.0 ms avec une désensibilisation survenant après environ 700 ms pour un temps de récupération variant de 300 jusqu'à 1200 ms (en revue par Dingledine et coll., 1999; Ozawa et coll., 1998).

²³ Ce blocage par le Mg^{2+} a été initialement découvert par Nowack et coll. (1984) et Mayer et coll. (1984) lors d'études électrophysiologiques effectuées sur des coupes d'hippocampe.

²⁴ Initialement découvert par Johnson et Asher (1987) ainsi que par Bowe et Nadler (1990).

²⁵ Initialement découvert par MacDermott et coll. (1986) ainsi que par Mayer et Westbrook (1987a).

probablement pas former de récepteurs homomériques fonctionnels. En effet, une étude récente indique que NR1 doit s'unir avec une ou plusieurs sous-unités NR2 pour former des récepteurs fonctionnels (Soloviev et Barnard, 1997). Il a été établi que NR1 contient le site de liaison de la glycine (Hirai et coll., 1996), et NR2, celui pour le glutamate (Laube et coll., 1997). Le rôle de la sous-unité NR3A est, quant à lui, inconnu. Néanmoins, lorsque NR3A est coexprimée dans des oocytes de *Xenopus* avec NR1 et NR2A, elle provoque une réduction du courant cellulaire total induit par le NMDA ou le glutamate (Ciabarra et coll., 1995). De plus, les canaux dotés de cette sous-unités se caractérisent par une plus faible conductance et probablement par une moins grande perméabilité au Ca^{2+} comparativement aux canaux ne possédant NR3A (Das et coll., 1998).

Les récepteurs NMDA sont retrouvés dans l'ensemble du cerveau, mais sont prédominants dans le télencéphale (voir Fig. 2 pour les régions cérébrales) avec les plus hautes concentrations situées dans la région CA_1 de l'hippocampe (en revue par Monaghan et coll., 1989). De plus, selon la comparaison quantitative des sites de liaisons de différents ligands, il semblerait que les récepteurs NMDA présentent plusieurs types pharmacologiquement distincts (Monaghan et coll., 1989). En ce qui concerne les sous-unités de ce type de RGLU, les études d'hybridation histochimique *in situ* ont révélé que NR1 est distribuée de façon ubiquitaire dans l'ensemble du cerveau, mais que les quatre transcrits de NR2 présentent un patron d'expression régional différentiel, du moins chez le rongeur (en revue par Mori et Mishina, 1995). Du point de vue structural, aucune modification ponctuelle de l'ARN n'a été détectée sur l'une ou l'autre des six sous-unités des récepteurs NMDA, mais neuf isoformes de NR1 et deux de NR2D, produits par épissage alternatif et caractérisés par des domaines C-terminal et N-terminal différents, sont connus jusqu'à présent (en revue par McBain et Mayer, 1994; Mori et Mishina, 1995). Enfin, l'inspection de la structure primaire des sous-unités des

récepteurs NMDA a révélé qu'un résidu asparagine (N) occupe la position équivalente au site Q/R du segment M2 des récepteurs AMPA (Ozawa et coll., 1998). Ce site N gouverne à la fois la perméabilité au Ca^{2+} et le blocage au Mg^{2+} du canal des récepteurs NMDA (Burnashev et coll., 1992b; Sakurada et coll., 1993).

1.2.4 Les récepteurs métabotropes

Les RGLUm médient les actions neuromodulatrices lentes du glutamate dans le SNC (pour une revue sur les RGLUm, voir : Conn et Pin, 1997; Hölscher et coll., 1999; Ozawa et coll., 1998). En effet, l'activation des RGLUm entraîne une réponse à retardement de durée plus longue que celle engendrée par les RGLU ionotropes et permet au glutamate de réguler la réponse excitatrice rapide qu'il évoque au sein d'une même synapse. Cette caractéristique est due au fait que les RGLUm sont couplés à des protéines G (G_q , G_o , G_i) (Bokaert et coll., 1993; Schoepp et coll., 1999) qui contrôlent l'activité d'enzymes membranaires (adénylate cyclase, phospholipase C et D (PLD)) et des canaux ioniques (Saugstad et coll., 1995). Le premier RGLUm a été cloné en 1991 (Houamed et coll., 1991; Masu et coll., 1991), et depuis, huit types de RGLUm ont été identifiés (voir Tableau II). En 1992, Nakanishi a proposé une classification en trois groupes basée sur le degré d'homologie de la séquence d'a.a. des récepteurs (environ 70% d'homologie à l'intérieur d'un groupe et 40% d'homologie entre les groupes), le système de seconds messagers auquel ils sont couplés (hydrolyse des phosphoinositides (PI) pour le groupe I et couplage négatif à l'adénylate cyclase pour les groupes II et III) et le ligand qui les active le plus efficacement (quisqualate pour le groupe I, L-CCG-I pour le groupe II et L-AP4 pour le groupe III) (voir Tableau II; en revue par Schoepp et coll., 1999). En ce qui concerne le système de transduction, l'hydrolyse des PI comprend la transformation du phosphoinositol diphosphate (PIP_2) en acide phosphatidique par la PLD

ou en inositol triphosphate (IP_3) et diacylglycérol (DG) par la PLC, tandis que l'adénylate cyclase est, quant à elle, responsable de la transformation de l'adénosine triphosphate (ATP) en adénosine monophosphate cyclique (AMPc).

Les membres de la famille des RGLUm, bien qu'ils possèdent 7 domaines transmembranaires comme les autres récepteurs couplés aux protéines G (RCPG), ne partagent pas d'homologie de séquence avec ces autres RCPG (voir Nakanishi, 1992; Strader et coll., 1995). Ils sont toutefois structurellement reliés aux récepteurs-détecteurs de calcium extracellulaire (CaR), un type de récepteur métabotrope retrouvé entre autre dans plusieurs structures cérébrales, dont l'hippocampe (Chattopadhyay et coll., 1997; Hebert et Brown, 1995; Ruat et coll., 1995), et aux récepteurs métabotropes GABA_B (Kaupmann et coll., 1997). Ils possèdent un large domaine N-terminal extracellulaire (~560 a.a.), sur lequel est situé le site de liaison du glutamate, et un domaine C-terminal, dont la longueur varie selon le sous-type de récepteurs, potentiellement responsable de la régulation des mécanismes de transduction impliquant les protéines G (voir Ozawa et coll. 1999; Schoepp et coll., 1999). Les RGLUm du groupe I sont exprimés au niveau postsynaptique, tandis que ceux du groupe II et III sont retrouvés au niveau présynaptique où ils font office d'autorécepteurs à rétroaction négative dont la fonction est de réduire la relâche de NT (Shigemoto et coll., 1997).

1.2.5 Les récepteurs orphelins

Les sous-unités $\delta 1$ et $\delta 2$ sont des voisins structuraux distants (18-25% d'homologie sur la séquence d'acides aminés) des autres sous-unités des RGLU ionotropes (Lomeli et coll., 1993). Ces sous-unités ne forment pas d'elles-mêmes de canaux fonctionnels ni ne modifient la fonction d'autres combinaisons de sous-unités. Leur fonction est présentement inconnue.

1.3 Interactions des récepteurs glutamatergiques avec les protéines cellulaires

Les RGLU sont associés, au niveau de la membrane postsynaptique, à un assemblage complexe de protéines structurelles et régulatrices (protéines de liaison aux récepteurs, protéines du cytosquelette, kinases, phosphatases, protéases, facteurs de régulation) connu sous le terme de densité postsynaptique (DPS) (pour une revue, voir Bi et coll., 1998b; Dingledine et coll., 1999; Kennedy, 1997; O'Brien, 1998; Ziff, 1997, 1999). La DPS, retrouvée juste en dessous de la membrane postsynaptique, est une spécialisation de la jonction synaptique analogue aux complexes protéiniques associés à d'autres types de jonctions cellulaires (*e.g.* jonctions serrées, jonctions adhérentes). Une des face de la DPS est en contact direct avec les domaines cytoplasmiques des canaux ioniques, tandis que la face opposée est en lien avec les composantes du cytosquelette, tels les filaments d'actine. La DPS joue à la fois un rôle important dans le regroupement et le confinement des RGLU au niveau de la synapse, dans la modulation de l'activité des récepteurs de même que dans l'activation des voies de signalisation intracellulaires.

La liaison des récepteurs glutamatergiques aux composantes de la DPS et les mécanismes associés qui sous-tendent leur regroupement et de leur confinement au niveau de la synapse est présentement mieux connu pour les récepteurs NMDA. Ainsi, des études ont pu déterminer que la sous-unité NR2 et certaines isoformes de NR1 forment un complexe de liaison avec la protéine SAP90²⁶ (aussi nommée PSD-95²⁷), une composante majeure de la DPS (Cho et coll., 1992; Kistner et coll., 1993). Cette protéine contient 5 domaines

²⁶ De l'anglais *synapse associated protein of 90 kDa*.

²⁷ De l'anglais *postsynaptic density protein of 95 kDa*.

globulaires, soit, à partir de l'extrémité N-terminale, trois domaines PDZ²⁸, un domaine SH3²⁹ et un domaine formé par l'extrémité C-terminale et muni d'une activité guanylate kinase (domaine GK). Elle se lie à l'extrémité C-terminale des sous-unités des récepteurs NMDA par l'entremise de ses domaines PDZ-1 et PDZ-2 (Cabral et coll., 1996; Doyle et coll., 1996). Le domaine PDZ-3, quant à lui, à la propriété de se lier à la protéine neuroligane (Irie et coll., 1997) et à une protéine riche en résidus cystéine, la CRIPT³⁰ (Niethammer et coll., 1998). La neuroligane est une protéine transmembranaire dont le domaine N-terminal extracellulaire interagit, au sein de la fente synaptique, avec la neurexine, une protéine présynaptique. Ce mécanisme pourrait permettre l'alignement des récepteurs postsynaptiques avec les structures présynaptiques, un phénomène récemment proposé comme l'un des mécanismes potentiel d'expression de la potentialisation synaptique (Xie et coll., 1997) (voir section 1.4). La protéine CRIPT pourrait, quant à elle, permettre de relier SAP90 aux microtubules de la structure cytosquelettique adjacente à la DPS. Enfin, les protéines SAP90 ont aussi la capacité de former des homodimères par l'entremise de leur peptide primaire N-terminal, situé en aval du domaine PDZ-1 (Hsueh et coll., 1997). Il a été proposé que c'est la multimérisation de la protéine SAP90 qui permettrait, entre autre, de regrouper les récepteurs NMDA au sein de la DPS (voir Ziff, 1997). Par ailleurs, une étude a démontrée que la sous-unité NR1 peut aussi s'associer directement à l' α -actinine-2, une protéine qui se lie à l'actine (Wyszynski et coll., 1997). Il semble que cette association pourrait constituer un autre mécanisme de liaison des

²⁸ Domaines protéiques liant des séquences C-terminales spécifiques, généralement de récepteurs transmembranaires ou de canaux ioniques, et permettant des interaction protéine-protéine. Ils ont initialement été caractérisés sur la protéine PSD-95 et désignés domaines PDZ d'après le nom des premières protéines reconnues pour en posséder : PSD-95, Dlg, ZO-1 (Alomone Labs, 1999; Lin et coll., 2000; Ponting et coll., 1997)

²⁹ De l'anglais *Src Homology 3*, domaines protéiques reconnaissant des séquences riches en acide aminé proline et impliqués dans les mécanismes de communication intercellulaires et de transduction de signaux de la surface cellulaire vers le noyau. Les domaines SH ont initialement été découverts sur la protéine Src, le produit du proto-oncogène *c-src* (Fana, 1997a, 1997b; Lin et coll., 2000).

³⁰ De l'anglais *cystein-rich protein*.

récepteurs NMDA au cytosquelette via l'interaction du complexe NR1/ α -actinine-2 avec l'actine (Ehlers et coll., 1996; Wyszynski et coll., 1997).

Les récepteurs AMPA sont également regroupés au sein des synapses glutamatergiques, mais les mécanismes de confinement de ces récepteurs sont moins bien connus. Néanmoins, il a été démontré que, à l'instar des récepteurs NMDA, les récepteurs AMPA se lient à des protéines contenant des domaines PDZ telles la protéine d'interaction avec les RGLU (GRIP³¹) (Dong et coll., 1997) et la protéine se liant aux récepteurs AMPA (ABP³²) (Srivastava et coll., 1998). Fortement homologues l'une à l'autre, la protéine ABP contient toutefois six domaines PDZ, tandis qu'on en a dénombré sept pour GRIP, et chacune est encodée par un gène distinct. Ces protéines interagissent via leurs domaines PDZ avec les domaines C-terminaux des sous-unités GluR2 et GluR3 et forment des multimères tant hétérogènes que homogènes (Srivastava et coll., 1998). À ce jour, le phénomène de regroupement des RGLU n'a été étudié que par l'entremise de cellules hétérologues, mais il semble fort possible que de tels phénomènes, engendrés par des mécanismes dépendants de composantes telles SAP90, GRIP et ABP, soient retrouvés au sein des neurones glutamatergiques.

Par ailleurs, l'une des découvertes les plus marquantes concernant les protéines interagissant avec les RGLU est la mise en évidence de l'implication des récepteurs ionotropes AMPA dans l'activation de protéines G, et par conséquent, dans les voies de signalisation métabotropes (Wang et Durkin, 1995; Wang et coll., 1997b).

³¹ De l'anglais *glutamate receptor interacting protein*.

³² De l'anglais *AMPA receptor-binding protein*.

1.4 Aspects neurophysiologiques et neuropathologiques des récepteurs glutamatergiques

Tel que mentionné précédemment, la grande majorité de la neurotransmission excitatrice survenant au sein du système nerveux central est médiée par les RGLU. Étant donné qu'ils sont présents dans pratiquement chacune des structures de ce système, on peut s'attendre à ce que les RGLU soient impliqués dans une panoplie de conditions neuropathologiques³³. Ainsi, on leur attribue, entre autres, un rôle dans l'épilepsie (Tower, 1955; en revue par Choi, 1998; Dingledine et coll., 1990; Meldrum, 1991), la douleur neuropathique (Dickenson, 1990; Zieglgänsberger et Tölle, 1993), l'anxiété (Davis et coll., 1994) et la schizophrénie (Javitt et Zukin, 1991; Thornberg et Saklad, 1996). Plusieurs études ont également démontré qu'il y a activation excessive des RGLU lors de conditions stressantes subies par le cerveau, telles l'ischémie provoquée par un arrêt cardiaque ou un accident vasculaire cérébral (AVC), les traumatismes crâniens, l'épilepsie et l'hypoglycémie. Cette activation excessive provoque une entrée exagérée de Ca^{2+} dans la cellule, ce qui entraîne la nécrose des neurones centraux qui sont affectés par ce processus pathologique mieux connu sous le terme d'excitotoxicité cellulaire³⁴ (en revue par Choi, 1988; Doble, 1995; Choi et Rothman, 1990; Lees, 1996; Meldrum et Garthwaite, 1990; Szatkowski et Attwell, 1994). À titre plus spéculatif, ce mécanisme d'excitotoxicité pourrait être impliqué dans certains

³³ Pour une revue des rôles physiologiques et pathologiques des RGLU, voir Dingledine et coll. (1988), Mayer et Westbrook (1987b), Monaghan et coll. (1989), Ozawa et coll. (1998).

³⁴ Terme proposé par J.W. Olney suite à ses travaux sur la toxicité cellulaire du glutamate (Olney, 1978).

empoisonnements métaboliques ou intoxications alimentaires ainsi que dans divers désordres neurodégénératifs tels les maladies de Parkinson et d'Alzheimer, la chorée de Huntington, la sclérose latérale amyotrophique et la démence du SIDA. Cette entrée excessive de Ca^{2+} qui est induite par la sur-activation du système glutamatergique peut s'effectuer par l'intermédiaire de trois composantes membranaires : les récepteurs NMDA, constituant la principale porte d'accès, les canaux calciques à ouverture dépendante du voltage membranaire (CCDV) ou les récepteurs AMPA perméables au Ca^{2+} .

À ce jour, plusieurs traitements ont été ou sont actuellement envisagés pour prévenir l'excitotoxicité cellulaire induite par le glutamate (en revue par Choi, 1998; Dingledine et coll., 1999; Doble, 1995; Lees, 1996; Ozawa et coll., 1998). En effet, les sévères dommages neuronaux causés par l'activation excessive des RGLU, et particulièrement des récepteurs NMDA, peuvent être efficacement prévenus par l'utilisation d'antagonistes spécifiques, tel le D-AP5³⁵, auquel on attribua, dans les années 80, des propriétés neuroprotectives et anticonvulsivantes (en revue par Rothman et Olney, 1987). L'utilisation d'antagonistes sélectifs aux récepteurs AMPA s'est également révélée efficace dans la prévention de la mort neuronale causée par l'ischémie et d'autres conditions neuropathologiques. Enfin, selon d'autres études, il semblerait que les RGLUm soient impliqués dans les mécanismes cellulaires entraînant les dommages neuronaux associés à certaines des conditions pathologiques précédemment mentionnées (traumatismes cérébraux, ischémie, épilepsie, hypoglycémie). En effet, divers agonistes des RGLUm ont des propriétés neurotoxiques et neuroconvulsives, et plusieurs antagonistes spécifiques à ces récepteurs se sont avérés utiles dans la prévention ou

³⁵ Un antagoniste des récepteurs NMDA; D-2-amino-5-phosphonopentanoate.

dans la diminution des effets dévastateurs de l'excitotoxicité cellulaire (en revue par Hölsher et coll., 1999).

D'un point de vue physiologique, les RGLU participent à la formation des réseaux neuronaux durant le développement embryonnaire (Constantine-Paon et coll., 1990; Durand et coll. 1996) et sont impliqués dans plusieurs formes de plasticité synaptique³⁶, phénomène hautement susceptible de sous-tendre des processus cérébraux tels l'apprentissage et la mémoire (en revue par Aztély et Gustafsson, 1997; Bliss et Collingridge, 1993; Chen et Tonegawa, 1997; Kaczmarek et coll., 1997; Lynch, 1998; Maren et Baudry, 1995; Martinez et Derrick, 1996; Nayak et Browning, 1999; Shors et Matzel, 1997; Wang J.-H. et coll., 1997a; Zhuo et Hawkins, 1995). Cette idée de plasticité synaptique est retracée aussi loin qu'au XVIII^e siècle dans les écrits de Sir Charles Bonnett (1720-1793) qui propose alors que les souvenirs sont représentés dans le cerveau par des changements survenant dans le «seuil de résonance» des nerfs après que ceux-ci aient été activés (en revue par Frégnac, 1994; Gomulicki, 1953; Ito, 1994). L'idée a ensuite été reprise par le psychologue américain William James en 1890, puis par le psychiatre italien Eugenio Tanzi en 1893, et enfin par Ramón y Cajal qui, en 1911, propose que la synapse serait l'endroit privilégié où l'activité nerveuse pourrait laisser une trace et permettre ainsi aux circuits nerveux d'adapter leurs fonctions en réponse aux stimuli extérieurs. S'inspirant de ces théories, le psychologue canadien Donald Olding Hebb formula, en 1949, son fameux postulat selon lequel l'efficacité de la connexion qui unit deux neurones sera accrue si l'activité du neurone présynaptique parvient à exciter de manière répétée ou persistante le neurone postsynaptique (voir Fig. 3) (Hebb, 1949). En d'autres termes, il y a modulation de l'efficacité de la transmission du

³⁶ De plastique, malléable : modulation de l'efficacité de la transmission synaptique.

message nerveux au travers des synapses en fonction de l'activité concomitante des neurones pré- et postsynaptiques, et selon Hebb, l'information est stockée dans les réseaux neuronaux du cerveau par l'entremise de cette plasticité synaptique. Ainsi, l'apprentissage est défini comme une modification de l'efficacité synaptique à l'intérieur du réseau neuronal durant le traitement de l'information, tandis que la mémoire est représentée par la distribution spatiale de ces synapses dont la modification fonctionnelle persiste longtemps après que l'information initiale ait été prise en charge (Baudry et Massicotte, 1992).

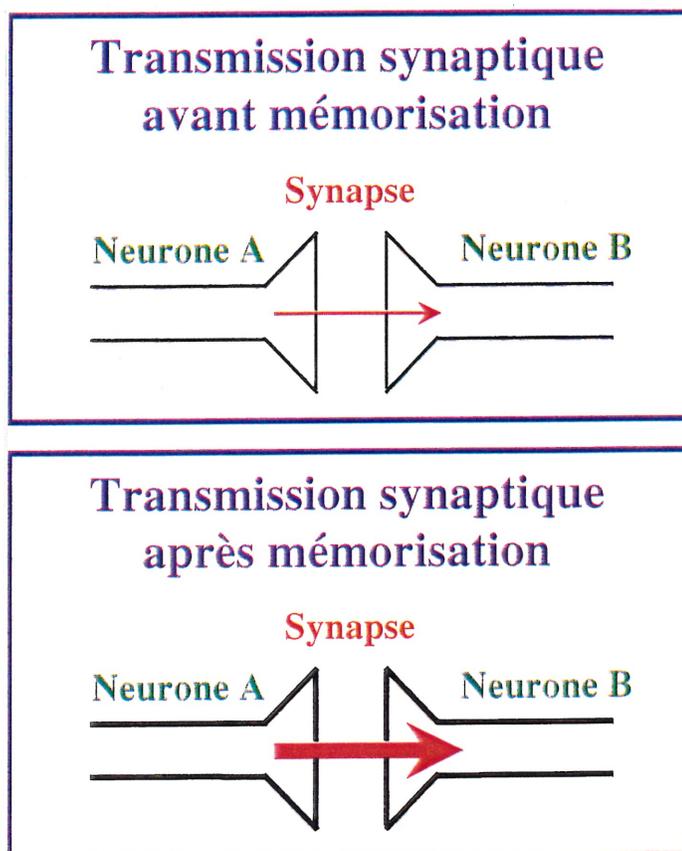


Figure 3 : La synapse de Hebb. Selon Hebb, l'efficacité de la transmission de l'influx nerveux au travers d'une synapse qui unit deux neurones sera accrue si ces deux neurones sont, de manière répétée ou persistante, simultanément actifs. Cette plasticité synaptique serait à la base du processus de mémorisation.

Il fallut attendre presque 25 ans après que Hebb eut formulé son postulat pour obtenir les premières preuves expérimentales de l'existence du phénomène de la plasticité synaptique. En effet, en 1973, Bliss, Gardner-Medwin et Lømo observèrent, à l'aide d'électrodes

implantées *in vivo* dans le cerveau de lapin, une augmentation de longue durée de l'efficacité de la transmission synaptique suite à une stimulation électrique intense des neurones présynaptiques du gyrus dentelé de l'hippocampe (Bliss et Gardner-Medwin, 1973; Bliss et Lømo, 1973). Ils nommèrent ce phénomène potentialisation à long terme de la transmission synaptique (PLT)³⁷. Peu de temps après, des chercheurs réussirent à observer, d'abord dans l'hippocampe (Lynch et coll., 1977; Dunwiddie et Lynch, 1978), puis dans le cervelet (en revue par Ito M., 1989), une dépression à long terme de l'efficacité synaptique (DLT), le penchant inverse de la PLT, en utilisant des paramètres de stimulation différents. Depuis, une multitude de formes de plasticité synaptique, de courte ou de longue durée, potentialisatrice ou dépressive, ont été découvertes dans diverses structures cérébrales telles l'hippocampe, le cervelet, le néocortex, l'amygdale et les ganglions de la base (striatum). Or, la grande majorité de ces types de plasticité synaptique sont associées aux voies neuronales glutamatergiques. À ce jour, il est généralement reconnu que leurs mécanismes d'expression nécessitent, pour être enclenchés, une élévation de la concentration intracellulaire de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) et l'activation subséquente d'une multitude d'enzymes et de facteurs protéiques (voir section 2.1). De plus, un nombre imposant d'études ont permis de démontrer que la modulation des fonctions synaptiques qui est engendrée par ces mécanismes est le résultat de changements survenant tant au niveau postsynaptique que présynaptique (pour une revue, voir Manabe, 1998; Nayak et Browning, 1999; Nicoll et Malenka, 1995).

Ainsi, au niveau présynaptique, la plasticité synaptique s'exprimerait³⁸ par une modification des paramètres de relâche des neurotransmetteurs (en revue par Capogna, 1998; Manabe, 1998; Nayak et Browning, 1999; Nicoll et Malenka, 1995) : taux d'échec de la

³⁷ Le phénomène de la PLT fut initialement observé en 1966 par Terje Lømo alors qu'il travaillait dans le laboratoire de Per Andersen. Le premier article décrivant la PLT parut en 1973. Cf. Shors et Matzel (1997).

³⁸ Il faut noter ici que le débat entre hypothèses pré- et postsynaptiques est toujours d'actualité. Entre autre, Liao et coll. (1995) (sans être les seuls protagonistes de l'hypothèse présynaptique cependant) ont présenté un modèle postsynaptique compatible avec des données initialement interprétées comme indicateurs de modifications présynaptiques survenant durant la PLT.

transmission (Xiang et coll., 1994), taux de probabilité de relâche (Schulz, 1997; Weisskopf et Nicoll, 1995), activation des mécanismes de relâche au niveau de synapses préalablement «muettes»³⁹ (Ma et coll., 1999; Malgaroni, 1999; Tong et coll., 1996). Par contre, les modifications postsynaptiques consisteraient principalement, quant à elles, en la régulation de la distribution et des propriétés des RGLU, et plus particulièrement des récepteurs AMPA (en revue par Bear et Abraham, 1996; Bi et coll., 1998b; Chen et Tonegawa, 1997; Davis et Laroche, 1998; Levenes et coll., 1998; Linden et Connor, 1995; Lovinger et Tyler, 1996; Manabe, 1998; Turrigiano, 2000; Zhuo et Hawkins, 1995) (voir section 2.1 pour de plus amples détails).

³⁹ *i.e.* des synapses dites silencieuses, mais d'un point de vue présynaptique : leurs mécanismes d'exocytose des vésicules synaptiques ne sont pas actifs, mais elles ont la capacité «d'entendre» un message potentiel (neurotransmetteur). Ces synapses ont initialement été découvertes dans la moelle épinière (Jack et coll., 1981).

2 PROBLÉMATIQUE ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE

2.1 Problématique

Depuis la découverte de la PLT et de la DLT, les neurobiologistes se sont acharnés à étudier leurs propriétés d'induction et leurs mécanismes d'expression dans diverses structures cérébrales⁴⁰. Les recherches incessantes dans ce domaine ont permis de démontrer que l'induction de la PLT et de la DLT dépend, selon les hypothèses postsynaptiques du moins, à la fois d'une dépolarisation dendritique suffisante (Malinow et Miller, 1986; Wigström et Gustafsson, 1986) et d'une subséquente hausse de la $[Ca^{2+}]_i$ dans l'élément postsynaptique (Lynch et coll., 1983; Malenka et coll., 1988). Selon la forme de PLT et de DLT, l'influx de Ca^{2+} dans l'élément postsynaptique s'effectue soit via le canal des récepteurs NMDA (en revue par Malenka, 1994a; Malenka et Nicoll, 1993), soit via les CCDV (Daniel et coll., 1992; Grover et Teyler, 1990a; Wickens et Abraham, 1991). De plus, il est généralement admis que les changements de la fonction synaptique observés avec la PLT et la DLT semblent résulter, du moins en partie, d'une modification du courant exciteur postsynaptique rapide médiée par les RGLU AMPA (Carroll et coll., 1999; Davies et coll., 1989; Isaac et coll., 1995; Kauer et coll., 1988; Liao et coll., 1995; Muller et coll., 1988). Plusieurs mécanismes sous-tendants ces modifications postsynaptiques ont été proposés au cours de la dernière décennie. Parmi ceux-ci, notons par exemple la modification directe des récepteurs AMPA (Barria, 1997; Bi et coll.,

⁴⁰ Pour une revue sur la PLT et la DLT, voir les références mentionnées dans la section 1.4, pages 28 à 31.

1994; Hemart et coll., 1994; Musleh et coll., 1997; Raymond et coll., 1993) et le changement de leur distribution au sein des compartiments intracellulaires (Carroll et coll., 1999; Lissin et coll., 1998, 1999; Shi et coll., 1999; Standley et coll., 1998; Turrigiano et coll., 1998), l'alignement des sites de relâche présynaptiques avec les récepteurs postsynaptiques (Xie et coll., 1994), l'apparition de nouvelles synapses (Malinow et Mainen, 1996; Moser et coll., 1994), et, finalement, l'insertion de nouveaux récepteurs AMPA dans la membrane postsynaptique via des mécanismes d'exocytose et/ou le recrutement de récepteurs AMPA physiologiquement inertes au niveau tant de synapses dites silencieuses⁴¹ que de synapses exprimant déjà des récepteurs AMPA (Desmond et Weinberg, 1998; Durand et coll., 1996; Gomperts et coll., 1998; Isaac et coll., 1995; Liao et coll., 1995; Lledo et coll., 1998; Malenka et Nicoll, 1997; Musleh et coll., 1997; Nishimune et coll., 1998; Petralia et coll., 1999). Au niveau moléculaire, il semble que la hausse de la concentration intracellulaire de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) médiée par les récepteurs NMDA ou les CCDV soit responsable de l'activation d'une multitude de processus enzymatiques dépendants du Ca^{2+} susceptibles de contribuer au développement et à l'expression de la PLT et de la DLT en convertissant le signal d'induction en changements durables des propriétés des récepteurs AMPA (Baudry et Lynch, 1993; Chen et Tonegawa, 1997; Wang et coll., 1997). En effet, plusieurs études ont démontré que l'expression de la PLT dans l'hippocampe est associée avec une hausse des propriétés de liaisons des récepteurs AMPA (Bernard et coll., 1994; Maren et coll., 1993; Musleh et coll., 1997; Tocco et coll., 1992b). D'autres études ont même révélé que le traitement de coupes de cerveaux congelés de rat avec du Ca^{2+} , une approche pharmaco-biochimique de l'étude des

⁴¹ *i.e.*, selon le point de vue postsynaptique, des synapses ne transmettant que par l'entremise de récepteurs NMDA, et qui, par conséquent, ne sont fonctionnelles que lors d'une forte dépolarisation membranaire (voir les références mentionnées ci-haut). Par analogie avec les synapses «muettes» (voir note 38, p. 31), on dit de ces synapses qu'elles sont «sourdes» (voir Malgaroli, 1999).

mécanismes d'expression postsynaptiques (voir section 2.2) des phénomènes de plasticité synaptique, génère une augmentation de la liaison du [^3H]AMPA dans diverses structures cérébrales incluant certaines régions de l'hippocampe (Chabot et coll., 1997; Gagné et coll., 1996, 1998; Tocco et coll., 1992c).

Les mécanismes précis impliqués dans l'expression de la PLT ou de la DLT dans différentes structures cérébrales sont encore sujets de controverses de nos jours. Néanmoins, un nombre impressionnant d'expériences montrent que l'activation par le calcium de protéines kinases, phosphatases et/ou protéases semble être critique pour l'établissement des changements des propriétés des récepteurs AMPA survenants durant l'expression de la PLT et de la DLT (en revue par Baudry et Lynch, 1993; Bi et coll., 1998b; Dev et Henley, 1998; Lynch, 1998; Malenka, 1994b; Tokuda et Hatase, 1998; Wang et Kelly, 1996). Parallèlement, plusieurs éléments de preuves supportent l'hypothèse selon laquelle l'activation d'autres enzymes dépendantes du Ca^{2+} , telles les phospholipases, pourraient également être impliquées dans la régulation des propriétés des récepteurs AMPA (en revue par Baudry et coll., 1993; Baudry et Massicotte, 1992; Bi et coll., 1998b; Dev et Henley, 1998; Lynch, 1998). En effet, une stimulation durable de l'activité de la phospholipase A_2 (PLA_2) endogène est associée avec l'activation des récepteurs NMDA (Kim et coll., 1995; Lazarewicz et coll., 1992; Tapia-Arancibia et coll., 1992), et une panoplie d'inhibiteurs de cette enzyme empêchent la formation de la PLT dans la région CA_1 de l'hippocampe (Linden et coll., 1987; Massicotte et coll., 1990b; Okada et coll., 1989; Williams et Bliss, 1988). De plus, l'incubation de tissu cérébral avec de la PLA_2 exogène induit une hausse des propriétés de liaison des récepteurs AMPA (Catania et coll., 1993; Dev et coll., 1998; Massicotte et coll., 1991; Massicotte et Baudry, 1990; Tocco et coll., 1992d), mais sans modifier celles des récepteurs NMDA (Massicotte et

Baudry, 1990), un effet presque totalement absent dans des conditions caractérisées par un déficit en PLT (Chabot, 1997; Massicotte et coll., 1991, 1992). Inversement, la PLA₂, selon son degré d'activité (Chabot et coll., 1998), la période de développement cérébral (Massicotte et coll., 1992) ou la structure cérébrale impliquée (Dev et coll., 1995, 1998), peut également induire une diminution de la liaison d'agonistes aux récepteurs AMPA. Une étude récente démontre que les métabolites de la voie lipoxgénase de l'acide arachidonique (AA), le produit libéré par l'action de la PLA₂ sur les phospholipides membranaires (voir Fig.4), seraient impliqués dans cette régulation à la baisse des propriétés de liaison des récepteurs AMPA (Chabot et coll., 1998). En somme, ces résultats suggèrent que la PLA₂ pourrait être impliquée dans un contrôle bidirectionnel de l'efficacité synaptique des neurones glutamatergiques (Chabot et coll., 1998).

Par ailleurs, un nombre important d'études évaluant les propriétés plastiques des synapses en électrophysiologie ou encore les capacités mnésiques et d'apprentissage chez la souris révèlent une importante variation des résultats d'une souche à l'autre. En effet, il a été démontré que la performance de souris dans le labyrinthe aqueux de Morris (Upchurch et Wehner, 1988; Wehner et coll., 1990) ou dans le labyrinthe en «T» à tâche alternative continue (T-CAT)⁴² (Gerlai, 1998) est différente selon les souches, un effet qui semble être relié, du moins en partie, au niveau d'activité de la protéine kinase C (PKC) endogène et à l'intégrité fonctionnelle de l'hippocampe. D'autres études ont révélé une corrélation (négatives ou positives selon le type d'apprentissage en cause) entre la taille du champ synaptique des fibres moussues intra- et infra-pyramidales de l'hippocampe (FM-iiip) et les niveaux d'apprentissages

⁴² Du terme anglais *T-maze continuous alternation task*.

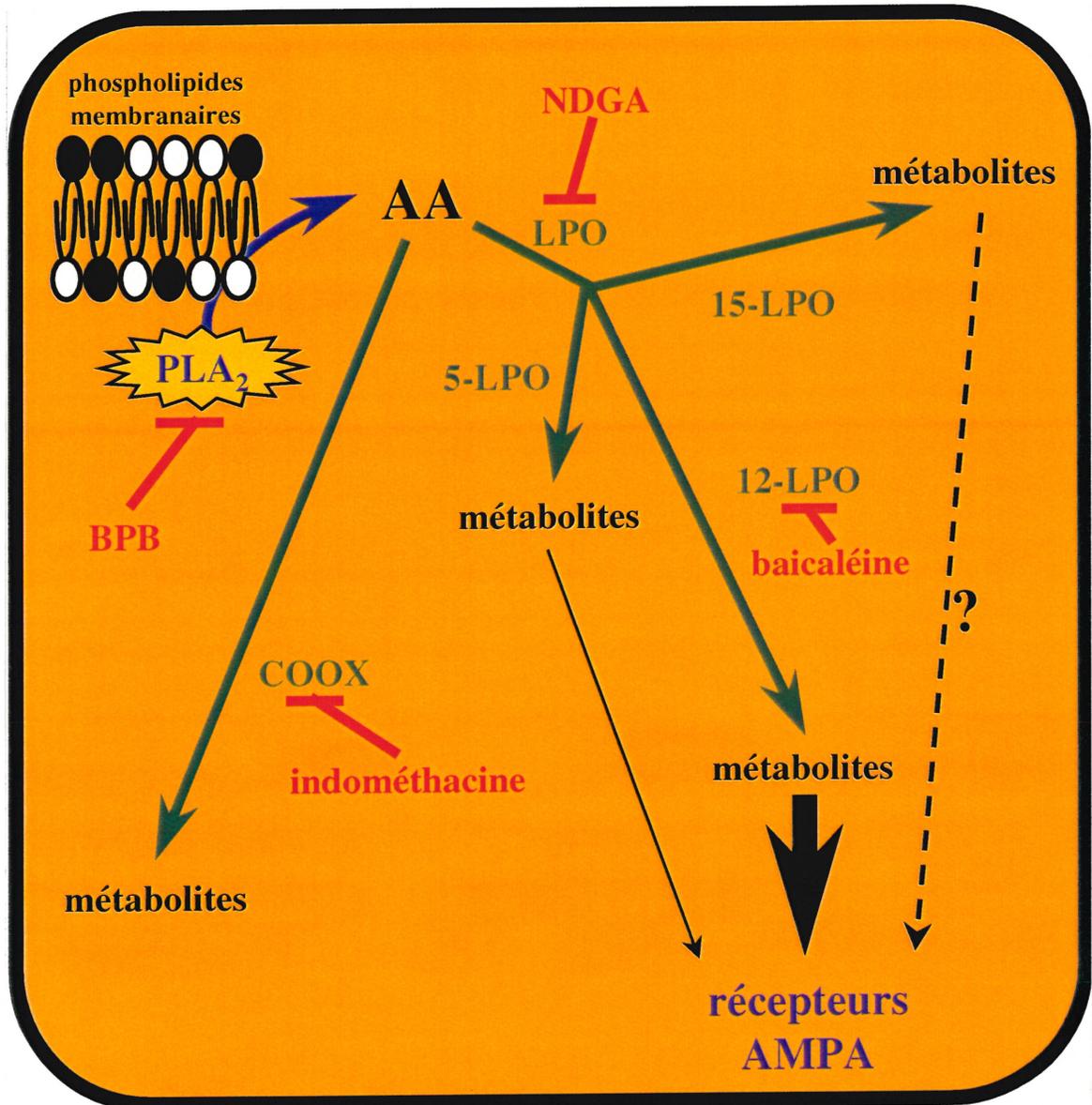


Figure 4 : La PLA₂ et les voies métaboliques de l'acide arachidonique. La PLA₂ libère l'acide arachidonique (AA) par son action sur les phospholipides membranaires. Ce produit peut être métabolisé par la cyclooxygénase (COOX) ou différentes lipoxygénases (5-, 12-, et 15-LPO). Certains inhibiteurs enzymatiques utilisés fréquemment pour l'étude de ces voies métaboliques sont indiqués en rouge. Notez que le NDGA agit sur l'ensemble de la voie lipoxygénase. Par l'utilisation de tels inhibiteurs, l'équipe de Chabot et coll. (1998) a démontré que les métabolites issus de la voie lipoxygénase seraient fort probablement impliqués dans les mécanismes de régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA. BPB, bromophénacylbromide; NDGA, acide nordihydroguaiarétique.

de différentes souches de souris et de rats placés dans divers types de labyrinthes (Crusio et coll., 1987; Lipp et coll., 1988; Schwegler et coll., 1988; Schwegler et Lipp, 1983; Wolfer et coll., 1987). De plus, selon certaines études, les propriétés de la PLT sont différentes entre les souches de souris C57BL/6 et DBA/2, une différence reliée également à l'activité endogène de la PKC (Lovinger et coll., 1985; Matsuyama et coll., 1997). De façon similaire, l'étude d'une tout autre problématique, ciblée par plusieurs équipes de recherche et portant sur les processus pathologiques neurologiques provoqués par l'ischémie cérébrale (Barone et coll., 1993; Fujii et coll., 1997; Sheldon et coll., 1998; Yang et coll., 1997) ou suivant l'induction de convulsions par le KA⁴³ (Ferraro et coll., 1997, 1995; Kurschner et coll., 1998; Royle et coll., 1999; Schauwecker et Steward, 1997; Wang et Chow, 1994), a révélé d'importantes variations en terme de résistance aux dommages causés par l'excitotoxicité cellulaire entre différentes souches de souris. Par exemple, chez les souris de souche 129/SvEMS et FVB/N, le KA induit une mort cellulaire excitotoxique dans l'hippocampe similaire à celle observée chez le rat, tandis que les souris de souche C57BL/6 et BALB/c ne démontrent qu'une excitotoxicité cellulaire restreinte à des doses de KA beaucoup plus grande (Schauwecker et Steward, 1997).

⁴³ L'induction de convulsions par le KA, qui entraîne une forte activation non désensibilisante des récepteurs AMPA, est un modèle expérimental développé chez le rat pour l'induction d'excitotoxicité neuronale de l'hippocampe similaire à celle observée dans diverses conditions pathologiques (pour une revue, voir Fisher, 1989; Nadler, 1981).

2.2 Hypothèses de recherche

La majorité des données, ci-avant mentionnées, qui impliquent les enzymes dépendantes du calcium, en particulier la PLA₂, dans les mécanismes de régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA responsables des modifications durables de la fonction synaptique, dérivent d'études effectuées chez le rat. Toutefois, les études qui démontrent que, selon les souches, certaines caractéristiques anatomiques, physiologiques et biochimiques diffèrent, ont été principalement effectuées chez la souris. Étant donné que les capacités mnésiques et la plasticité synaptique semblent être reliées, du moins en partie, aux mécanismes de régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA, il est possible que les propriétés de ces récepteurs soient affectées différemment par le calcium chez ces différentes souches de souris. Cette hypothèse est d'autant plus pertinente considérant le fait que l'enrichissement cognitif (Foster et coll., 1996; Gagné et coll., 1998) et certaines formes d'apprentissage (Tocco et coll., 1991, 1992a) sont associées à une hausse de la liaison du [³H]AMPA sur des coupes de cerveaux congelés de rats. Par ailleurs, l'utilisation de la souris en laboratoire est maintenant très fréquente puisqu'il est relativement facile, comparativement au rat ou à d'autres espèces de rongeurs, d'en modifier le génome dans le but d'évaluer plus spécifiquement les rôles physiologiques et pathologiques des produits d'expression des gènes étudiés. Par conséquent, la caractérisation des mécanismes de régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA chez différentes souches de souris devient nécessaire et pourrait aider à mieux comprendre les processus cellulaires impliqués dans l'expression de la PLT et de la DLT.

Les travaux effectués dans le cadre de ma maîtrise tentaient justement de faire face à cette problématique. Ainsi, des analyses qualitatives et quantitatives de la liaison de ligands tritiés ($[^3\text{H}]\text{AMPA}$, $[^3\text{H}]\text{glutamate}$, $[^3\text{H}]\text{CPP}$) ont d'abord été effectuées afin de déterminer comment le traitement de coupes de cerveaux congelés de souris B6C3F1 avec du calcium est en mesure de modifier les propriétés de liaison des RGLU AMPA et NMDA. Selon les résultats obtenus chez le rat par la même approche expérimentale (Chabot et coll., 1997; Gagné et coll., 1996, 1998; Tocco et coll., 1992c) nous nous attendions à observer une hausse de la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ dans l'ensemble des régions cérébrales, en particulier l'hippocampe. Étant donné que la PLA_2 semble impliquée dans la régulation des propriétés des récepteurs AMPA et qu'elle joue un rôle clé dans le contrôle de la relâche d'acide arachidonique (AA) et dans la production de divers métabolites (voir Fig. 4), une attention particulière a été portée aux effets d'inhibiteurs des voies lipoxygénase et cyclooxygénase du métabolisme de l'AA sur la régulation calcique des propriétés de liaison des récepteurs AMPA chez la souris B6C3F1. Considérant que certains de ces inhibiteurs préviennent la baisse de la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ induite par une faible activité de la PLA_2 dans des suspensions de synaptoneurosomes de rats (Chabot et coll., 1998), nous pensions pouvoir observer par le traitement de coupes de souris avec ces inhibiteurs, du moins dans certaines régions cérébrales, une amplification d'une potentielle régulation calcique à la hausse des propriétés de liaison des récepteurs AMPA. Enfin, la dernière étape de ce projet de maîtrise consistait à effectuer une analyse comparative des effets du traitement calcique sur la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ dans le cerveau de différentes souches de souris (C57BL/6, DBA/2, C3H, BALB/c, FVB/N et 129/SvEMS) réputées pour posséder des différences au niveau des propriétés plastiques de leurs synapses ainsi qu'au niveau de leurs capacités d'apprentissage et de résistance aux dommages cérébraux induits par

le kainate et l'ischémie. Puisque diverses études ont révélées que les souris C57BL/6, en plus de présenter une persistance plus durable de l'expression de changements synaptiques, possèdent de meilleures capacités mnésiques et d'apprentissage que les souris DBA/2 (Gerlai, 1998; Matsuyama et coll., 1997; Upchruch et Wehner, 1988; Wehner et coll., 1990), nous avons supposé qu'une différence sensiblement importante de la régulation calcique des propriétés de liaison des récepteurs AMPA serait possiblement révélée entre ces deux souches de souris.

3 MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.1 Méthodologie expérimentale

3.1.1 Préparation du tissu cérébral

Des souris mâles de souche B6C3F1/Cr1BR (B6C3F1), C57Bl/6NCr1BR (C57Bl/6), C3H/HeNCr1BR (C3H), BALB/cAnNCr1BR (BALB/c), DBA/2NCr1BR (DBA/2), obtenues chez Charles River Canada (St-Constant, Québec), et de souches 129T2/SvEMS (129/SvEMS), FVB/NJ (FVB/N), obtenues chez Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine), furent placées sous un cycle jour/nuit de 12 heures, la nourriture et l'eau étant fournies à volonté. À l'âge de 4 mois, les souris étaient anesthésiées sous une cloche à l'aide de méthoxyflurane (METOFANE®; Janssen pharmaceutica) et sacrifiées par décapitation. Leurs cerveaux, rapidement prélevés, furent immédiatement congelés par immersion dans l'isopentane (2-méthylbutane) à -20°C, puis conservés à -70°C jusqu'au moment de la coupe. Des sections horizontales de 10 µm d'épaisseur, au niveau des hippocampes dorsaux, furent préparées dans un cryostat puis collées par décongélation brève sur des lames de verre enrobées d'une gélatine au sulfate de potassium chromique. Les sections furent conservées à -70°C jusqu'au moment de leur utilisation pour l'étude des effets d'un traitement calcique sur les propriétés de liaison des récepteurs glutamatergiques.

3.1.2 Traitement des coupes de cerveau

Des sections adjacentes furent décongelées rapidement et préincubées immédiatement, en présence ou non de différentes concentrations d'acétate de calcium et/ou d'inhibiteurs enzymatiques, dans 50 mL de tampon Tris-acétate (T/A) (100 mM, pH 7.4), contenant 100 μ M d'EGTA, durant 1 h à 0-4°C ou à 35°C. Après un lavage rapide dans du T/A glacé (100 mM, pH 7.4; 100 μ M d'EGTA), les coupes furent incubées avec différents ligands radioactifs. Trois des inhibiteurs utilisés, le bromophénacylbromide (BPB), l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA) et l'indométhacine, se solubilisent dans le diméthyle sulfoxide (DMSO). Les tampons de préincubation préparés pour les expériences effectuées avec ces inhibiteurs contenaient une concentration finale de DMSO de 0.1 % (v/v), et ce pour toutes les conditions expérimentales.

3.1.3 Principes et limitations du modèle expérimental

La congélation rapide de tissus biologiques pour la préparation de minces coupes à l'aide d'un cryostat permet, au contraire de la fixation chimique et du paraffinage, non seulement de conserver l'état naturel des échantillons biologiques et leur ultrastructure cellulaire (Hauser, 1977; Schellens et coll., 1992, 1995; Tokuyasu, 1980; Usuda et coll., 1990; Van Noorden et Frederiks, 1992), mais aussi la fonctionnalité de leurs systèmes enzymatiques (Holt et coll., 1992; Prentø, 1997; Sathananthan et coll., 1987; Song et coll., 1995; Usuda et coll., 1990; Van Noorden et Frederiks, 1992). Cependant, on ne peut exclure la possibilité que ces manipulations puissent entraîner une perturbation du rendement d'une partie ou de la totalité des systèmes enzymatiques, ce qui nécessiterait peut-être alors un stimulus de plus grande intensité, comparativement à une cellule vivante, afin de les activer. À cela s'ajoute

l'impossibilité de déterminer la quantité exacte de Ca^{2+} qui pénètre dans les cellules lors du traitement calcique des coupes, mais plusieurs éléments contribuent toutefois à la pénétration du Ca^{2+} extracellulaire dans les neurones. En effet, il a été démontré que la congélation-décongélation de divers tissus biologiques entraîne des perforations de la membrane cytoplasmique des cellules (Holt et coll., 1992; Ishiguro et Rubinsky, 1994; Pegg, 1987, Sathananthan et coll., 1987). De plus, comme le diamètre du corps cellulaire d'un neurone chez le rat et la souris est généralement plus grand que 10 microns (Cooper, 1981; Falls et coll., 1985; Ikegaya et coll., 2000; Roberts et Ribak, 1987; Takasu et Hashimoto, 1988; Tazaki et Suzuki, 1997), une partie des neurones contenus sur les coupes de tissu cérébral de 10 μm d'épaisseur devraient présenter un soma sectionné. Ainsi, la procédure expérimentale devrait rendre les cellules perméables au milieu extracellulaire et permettre au Ca^{2+} qui y est dissout d'avoir accès à l'élément postsynaptique. Enfin, le modèle est limité par la perte des propriétés électrophysiologiques des neurones et donc, de l'influence que peuvent avoir les variations de potentiels membranaires sur l'activité des systèmes enzymatiques et la régulation des propriétés des récepteurs glutamatergiques ionotropes (Abraham et Tate, 1997; Aztaty et Gustafsson, 1996; Cohen et Abraham, 1996; Hölscher et coll., 1999; Wang et Durkin, 1995; Wang et coll., 1997b). Cependant, par l'utilisation combinée de diverses variantes (concentration calcique variable, ajout d'inhibiteurs et/ou d'activateurs, etc. dans le tampon de préincubation) de la présente approche expérimentale (*i.e.* le traitement calcique de coupes de cerveaux congelés), et de techniques analytiques, telle l'autoradiographie quantitative (voir section 3.2), il est possible d'évaluer d'une façon sensiblement spécifique les effets du Ca^{2+} sur les propriétés de liaison des RGLU ionotropes et de cibler, pour chaque région cérébrale, les voies enzymatiques impliquées dans ce phénomène (Tocco et coll., 1992c).

3.2 Méthodologie Analytique

3.2.1 Épreuves de liaison

3.2.1.1 Étude des récepteurs AMPA

Suivant le traitement expérimental, les coupes furent incubées durant 45 min. à 4°C, dans du T/A (50 mM, pH 7.4; 100 µM d'EGTA) contenant 50 mM de thiocyanate de potassium, en présence de différentes concentrations de [³H]AMPA (activité spécifique de 53.1 Ci·mmol⁻¹; NEN Life Science Products, Boston, MA). La liaison non spécifique a été définie comme étant celle obtenue en présence de 5.0 mM de L-glutamate. Les coupes furent ensuite rincées par lavages successifs : 2 fois durant 10 s dans du tampon d'incubation glacé, une fois durant 5 s dans le même tampon dilué à 50%, suivi par trois brefs rinçages dans de l'eau distillée. Puis, elles furent rapidement enlevées par frottis avec un filtre GF/C pour évaluer la liaison spécifique du ligand par mesure de la radioactivité résiduelle à l'aide d'un compteur à scintillation liquide. D'autres coupes ont été séchées sous un jet d'air chaud en vue de leur utilisation en autoradiographie.

3.2.1.2 Étude des récepteurs NMDA

Suivant le traitement expérimental, les coupes furent incubées durant 45 min à 4°C avec 150 nM de [³H]glutamate (44.0 Ci·mmol⁻¹; NEN Life Science Products) ou de [³H]CPP (3-((±)-2-carboxypipérazin-4-yl)-propyl-1-phosphonate) (37.0 Ci·mmol⁻¹; NEN Life Science Products) dans du T/A (50 mM, pH 7.4; 100 µM d'EGTA). Toutefois, pour l'épreuve de liaison du [³H]glutamate, le tampon contenait aussi 5 µM d'AMPA, 2 µM d'acide kaïnique

et 20 μM de quisqualate dans le but de prévenir la liaison du ligand aux sites non-NMDA, et 100 μM de SITS (acide 4-acétanido-4'-isothiocyanato-stilbene-2,2'-disulfonique) afin de bloquer les sites présynaptiques de recapture du glutamate (Fykse et Fonnum, 1991; Roseth et coll., 1995; Waniewski et Martin, 1983). La liaison non spécifique pour les deux ligands a été définie comme étant celle obtenue en présence de 5.0 mM de glutamate et de 1 mM de NMDA. Les coupes furent ensuite rincées par lavages successifs : 2 fois durant 15 s dans du tampon d'incubation glacé, une fois durant 5 s dans le même tampon dilué à 50%, suivi par trois brefs rinçages dans de l'eau distillée. Puis, elles furent rapidement séchées sous un jet d'air chaud en vue de leur utilisation en autoradiographie.

3.2.2 Autoradiographie

Des films à émulsion d'argent sensible au tritium (Hyperfilm- ^3H ; Amersham) furent exposés pendant 12 à 30 jours en présence des coupes séchées et d'étalons de tritium (ARC, St.-Louis, MO). Les films furent développés à l'aide de développeur et de fixateur GBX de Kodak, puis analysés sur système d'analyse d'image (MCID ver 3.0; Imaging Research, St. Catharines, Ontario). Après leur mesure sur le système, les densités optiques au niveau de différentes régions cérébrales furent converties en unités radioactives à l'aide des bandes étalons présentes sur le film. Pour certaines expériences, les résultats furent transposés en courbes de saturations, et les valeurs de K_d et de B_{max} furent obtenues par régression non linéaire à hyperbole rectangulaire effectuée à l'aide d'un logiciel informatique (GraphPad Inplot, ver. 4.0, 1990; GraphPad Software). Des images des autoradiogrammes furent sauvegardées dans des fichiers informatiques et le montage pour la présentation fut réalisé à l'aide du logiciel Adobe Photoshop (ver 4.0.1). Le résultat final fut imprimé au laser sur papier Kodak à l'aide d'une imprimante Kodak ColorEase.

3.2.3 Analyses statistiques

Toutes les données représentent des moyennes \pm E.T.M. Toutes les analyses statistiques, sauf l'analyse de variance à deux facteurs (*two-way* ANOVA), ont été effectuées à l'aide du logiciel GraphPad InStat, ver. WIN 95/NT 3.01. Les *two-way* ANOVA ont été effectuées à l'aide du logiciel inerSTAT-a v1.3 (Mario H. Vargas, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, México; mhvargas@mailier.main.concyt.mx). Chacune des régions cérébrales étudiées ont été considérées séparément les unes des autres. De plus, sauf pour les Figures 7 et 8, ce sont les pourcentages de variation par rapport à une condition de référence qui ont été comparés. Par conséquent, seules les données issues de l'expérience comparant les effets combinés du Ca^{2+} et de la température (voir p. 47) ont été analysées à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs. Les données présentées aux Figures 7, 8, 11, 12, 13 et 14, sont considérées comme issues d'expériences à une variable dépendante (concentration du Ca^{2+} ou concentration de l'inhibiteur ou souche de souris) et ont été analysées par un ANOVA à un facteur (*one-way* ANOVA). Les *one-way* ANOVA étaient suivies d'un après-test analytique de Student-Newman-Keuls, et le *two-way* ANOVA, par l'après-test analytique de Student. Les valeurs $p < 0.05$ furent considérées comme étant un indicateur d'une différence significative entre les éléments statistiques comparés.

4 RÉSULTATS

4.1 Induction de changements par le calcium de la liaison aux récepteurs AMPA dans le cerveau de souris

Les effets d'une incubation de coupes de cerveaux congelés de souris B6C3F1 en présence de concentrations croissantes de Ca^{2+} sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA ont d'abord été évalués. Des sections horizontales de cerveaux de souris ont été préincubées dans du tampon T/A contenant différentes concentrations d'acétate de calcium (0.1 à 4.0 mM), et la liaison du [^3H]AMPA a été mesurée en comptant la radioactivité liée spécifiquement sur les sections récupérées par frottis. De façon surprenante, les résultats indiquent qu'il y a une diminution dépendante de la dose de Ca^{2+} de la liaison du [^3H]AMPA sur les sections de cerveaux (Fig. 5). Cette diminution atteint un maximum, à partir de 1.0 mM de Ca^{2+} , représentant environ 70% de la liaison obtenue avec la condition contrôle. Cet effet du Ca^{2+} sur les récepteurs AMPA semble être assuré par des processus enzymatiques dépendants du Ca^{2+} . En effet, la régulation à la baisse des propriétés de liaison des récepteurs AMPA s'est avérée dépendante de la température. Précisément, à une concentration de 1.0 mM, le Ca^{2+} a induit une réduction de $30 \pm 4\%$ ($\pm\text{E.T.M.}$) de la liaison spécifique du [^3H]AMPA dans les sections préincubées à 35°C , mais n'a eu aucun effet sur les sections préincubées à $0-4^\circ\text{C}$ ($4 \pm 4\%$; $n=6$, $*p < 0.05$, test- t de Student, $0-4^\circ\text{C}$ vs 35°C); *two-way* ANOVA [$F=16.3$, $p < 0.001$, effet du Ca^{2+}]. De plus, tel que rapporté précédemment, la liaison spécifique du [^3H]AMPA en absence de Ca^{2+} à 35°C s'est avérée plus faible que celle mesurée sur les coupes préincubées à $0-4^\circ\text{C}$ ($73 \pm 4\%$; $n=6$, $*p < 0.001$, test- t de Student, 35°C

vs 0-4°C; *two-way* ANOVA [$F=297.5$, $p < 0.05$; effet de la température]), un effet possiblement dû à l'action des protéases endogènes (Tocco et coll., 1992c).

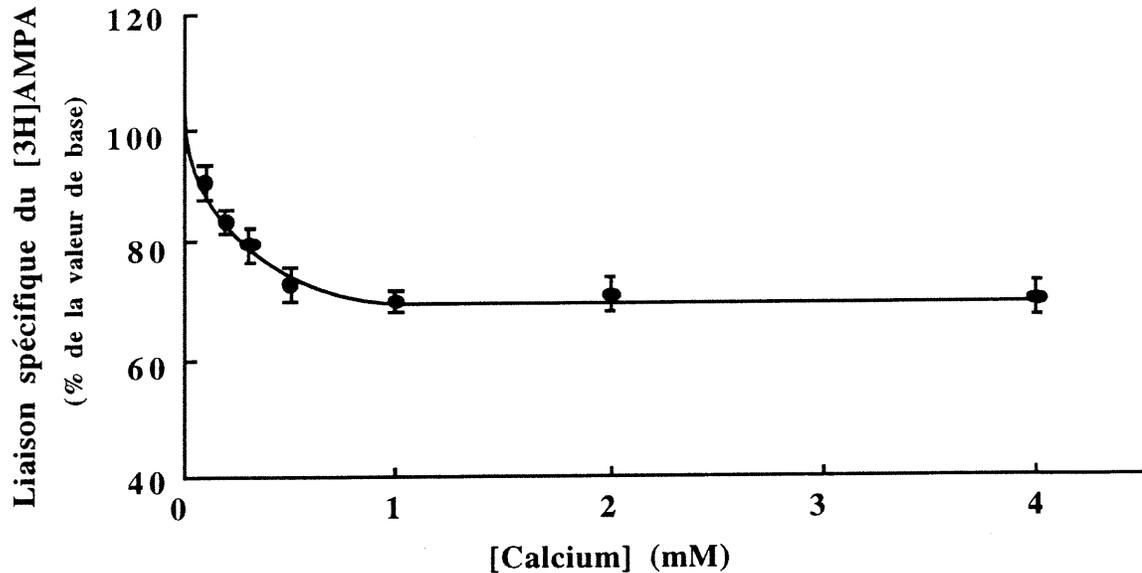


Figure 5 : Effet du traitement calcique sur la liaison globale du [³H]AMPA sur des sections horizontales de cerveaux congelés de souris. Des sections horizontales adjacentes de cerveaux de souris B6C3F1, prises au niveau des hippocampes dorsaux, ont été préincubées à 35°C durant 1h dans du tampon T/A en présence ou non de différentes concentrations (0.1 mM à 4.0 mM) d'acétate de calcium. Les sections ont ensuite été lavées puis préparées pour l'épreuve de liaison du [³H]AMPA tel que décrit à la section 3. La liaison spécifique a été déterminée à l'aide d'un compteur à scintillation liquide. Les résultats représentent la modulation de la liaison du [³H]AMPA induite par le calcium et sont exprimés en pourcentage de la liaison de base obtenue sur des coupes préincubées dans du tampon T/A vierge. Les données représentent les moyennes ± E.T.M. de valeurs obtenues chez au moins 5 souris avec 3 mesures différentes par animal.

Afin d'évaluer dans quelle mesure les effets du Ca^{2+} sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA varient dans les diverses régions cérébrales des coupes horizontales de cerveaux de souris, des autoradiographies de la liaison du [³H]AMPA sur ces coupes ont été effectuées. L'examen visuel des autoradiogrammes indique clairement que la préincubation des sections en présence de 1.0 mM de Ca^{2+} induit une diminution de la liaison aux récepteurs AMPA au niveau du cortex cérébral et du striatum (Fig. 6A et 6B). L'analyse quantitative de ces autoradiogrammes a révélé que le Ca^{2+} a induit une réduction d'environ 25% de la liaison du [³H]AMPA dans le cortex cérébral pariéto-temporal et le striatum (Fig. 7A).

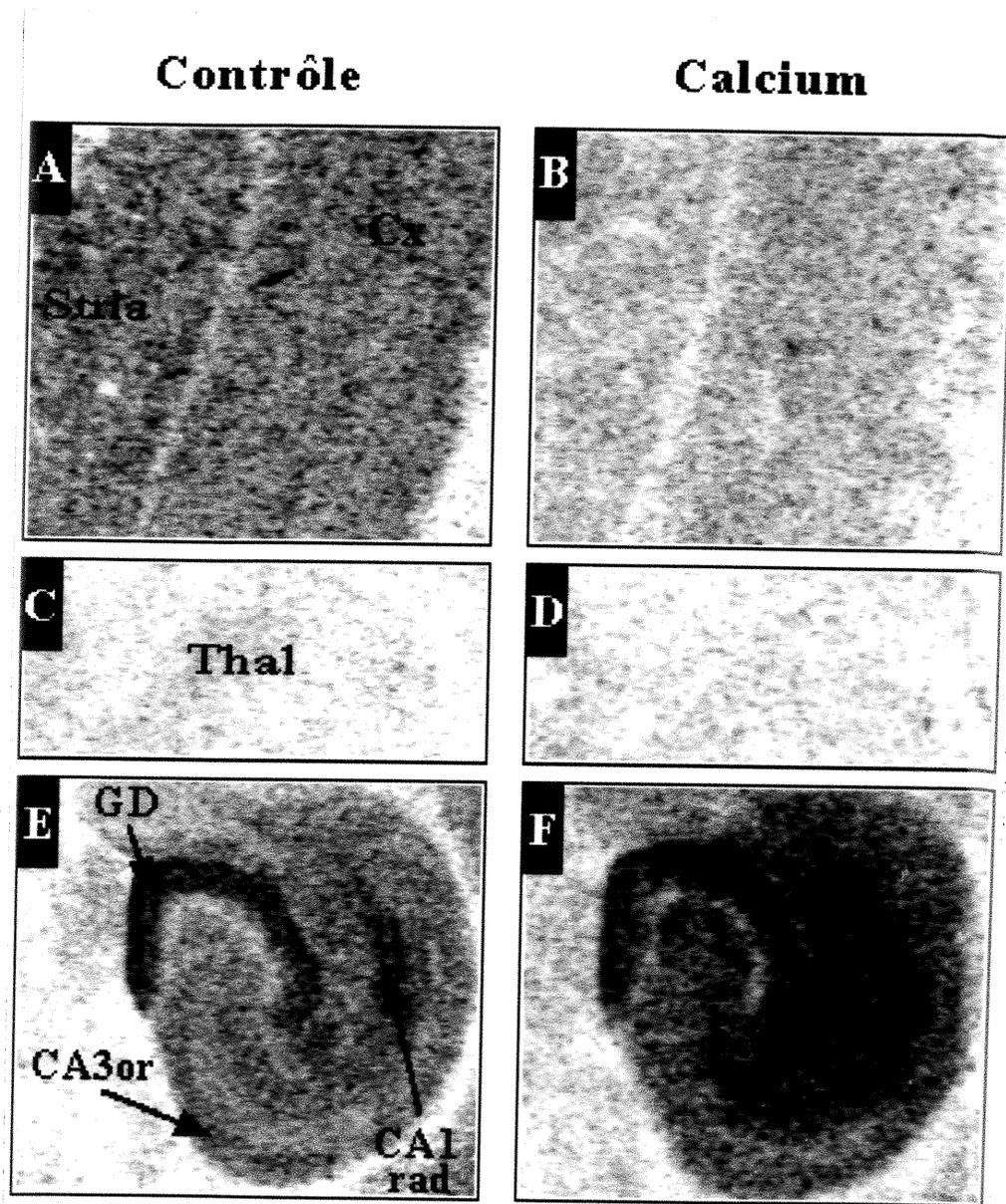


Figure 6 : Images digitalisées des autoradiogrammes de la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ dans différentes régions du cerveau de souris. Des sections horizontales adjacentes de cerveaux de souris B6C3F1, prises au niveau des hippocampes dorsaux, ont été préincubées à 35°C durant 1h dans du tampon T/A en présence ou non de 1.0 mM d'acétate de calcium. Les sections ont ensuite été lavées puis préparées pour l'épreuve de liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ tel que décrit à la section 3. Les images digitalisées des autoradiogrammes de la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ dans le cortex et le striatum (A et B), le thalamus (C et D) et l'hippocampe (E et F) sont présentées dans cette figure. Les résultats sont représentatifs des effets observés chez 6 souris B6C3F1 différentes. CA, corne d'Ammon; Cx, cortex; GD, *stratum moleculare* du gyrus dentelé; or, *stratum oriens*; rad, *stratum radiatum*; Stria, striatum; Thal, thalamus.

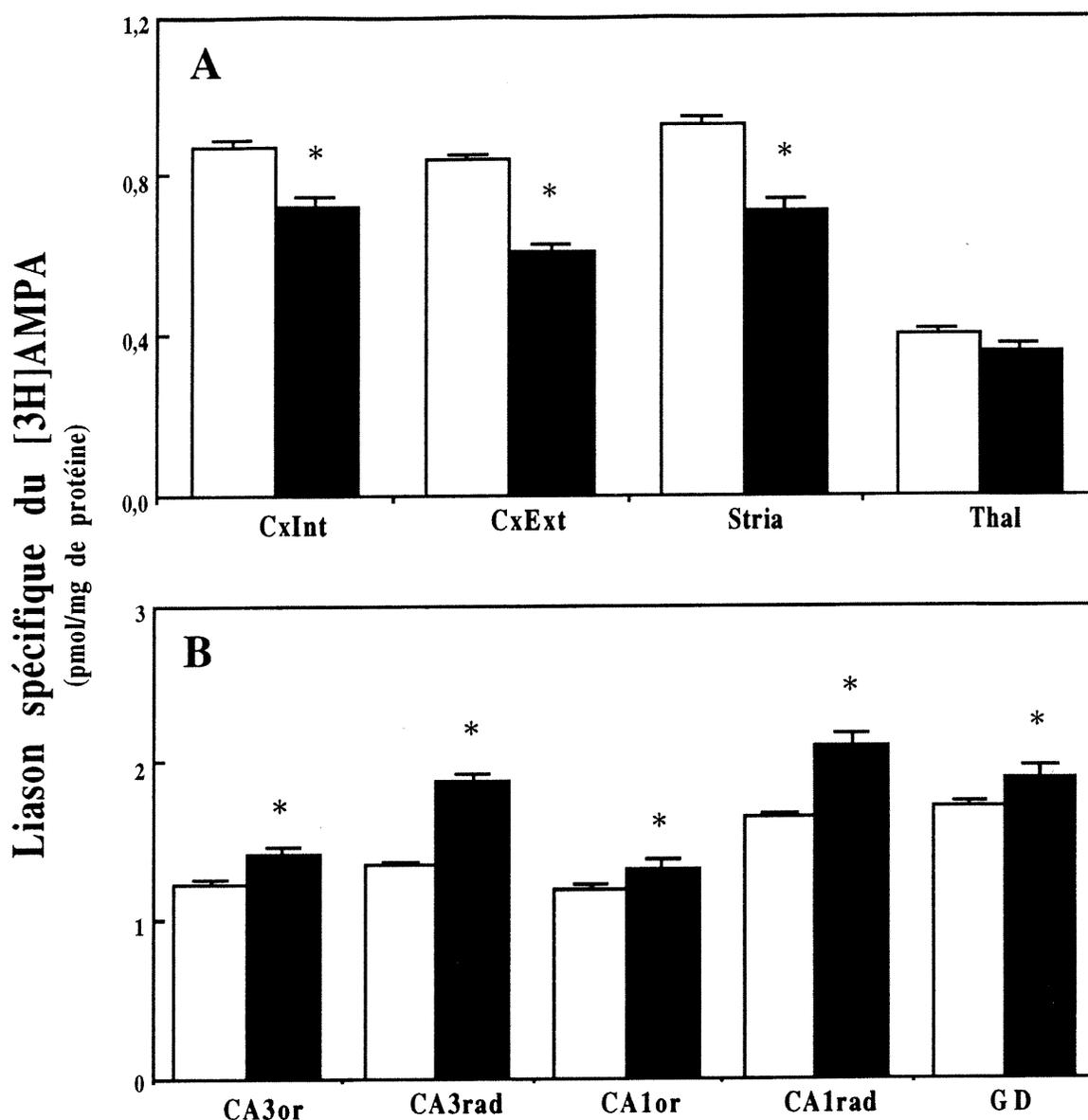


Figure 7 : Effet du traitement calcique sur la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ dans différentes régions du cerveau de souris. Des autoradiogrammes comme ceux présentés à la Figure 6 ont été analysés à l'aide d'un système d'analyse d'image. Les densités optiques au niveau des différentes régions de l'hippocampe (CA, corne d'Ammon; GD, *stratum moleculare* du gyrus dentelé; or, *stratum oriens*; rad, *stratum radiatum*), du cortex pariéto-temporal (CxExt, couches externes; CxInt, couches internes), du striatum (Stria) et du thalamus (Thal) ont été mesurées et converties en unité de liaison (pmol/mg de prot.). Les résultats ont été obtenus à partir de coupes contrôles (barres vides) et de coupes traitées avec 1.0 mM de Ca^{2+} (barres pleines). Les panneaux A et B représentent respectivement la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ dans les structures non hippocampales et hippocampales. Les données représentent les moyennes \pm E.T.M. de valeurs obtenues chez au moins 6 souris B6C3F1 différentes avec au moins 8 mesures par animal pour chacune des régions étudiées. * $p < 0.05$; one-way ANOVA avec l'après-test de Student-Newman-Keuls; Ca^{2+} vs contrôle.

Par contre, au niveau de l'hippocampe, le traitement calcique a induit une augmentation de la liaison du [³H]AMPA, et ce dans toutes les régions de cette structure comme le montre les Figures 6E et 6F. Les plus fortes augmentations sont confinées dans le *stratum radiatum* du CA₁ et du CA₃ (~30%) tandis que de plus faibles hausses sont apparues dans les *strata moleculare* du gyrus dentelé et *oriens* du CA₁ et du CA₃ (~13%) (Fig. 7B). Enfin, aucune modification significative de la liaison du [³H]AMPA suite au traitement calcique n'a été détectée au niveau du thalamus.

Par ailleurs, l'étude par autoradiographie quantitative des effets de ce même traitement calcique sur la liaison de ligands tritiés aux récepteurs NMDA, sur des sections de cerveaux congelés de souris, a été effectuée dans le but de préciser le degré de spécificité de ce traitement envers les récepteurs AMPA. La liaison de 100 nM de [³H]glutamate a été effectuée en présence de 1.0 μM de kainate, 5.0 μM d'AMPA et 10 μM de quisqualate pour empêcher la liaison non souhaitée aux récepteurs non NMDA, et en présence de 100 μM de SITS afin de bloquer les sites de recapture du système glutamatergique présynaptique. Sous ces conditions, la grande majorité de la liaison du [³H]glutamate représente la liaison aux récepteurs NMDA (Fykse et Fonnum, 1991; Monaghan et coll., 1985; Monaghan et Cotman, 1986; Roseth et coll., 1995; Waniewski et Martin, 1983). Les résultats obtenus à partir de coupes de six animaux différents montrent qu'aucun changement significatif de la liaison du [³H]glutamate n'a été induit par le traitement calcique pour l'ensemble des régions cérébrales analysées (Fig. 8A). Des résultats identiques ont été obtenus avec l'étude de liaison du [³H]CPP, un antagoniste tritié spécifique du site glutamatergique des récepteurs NMDA (Fig. 8B).

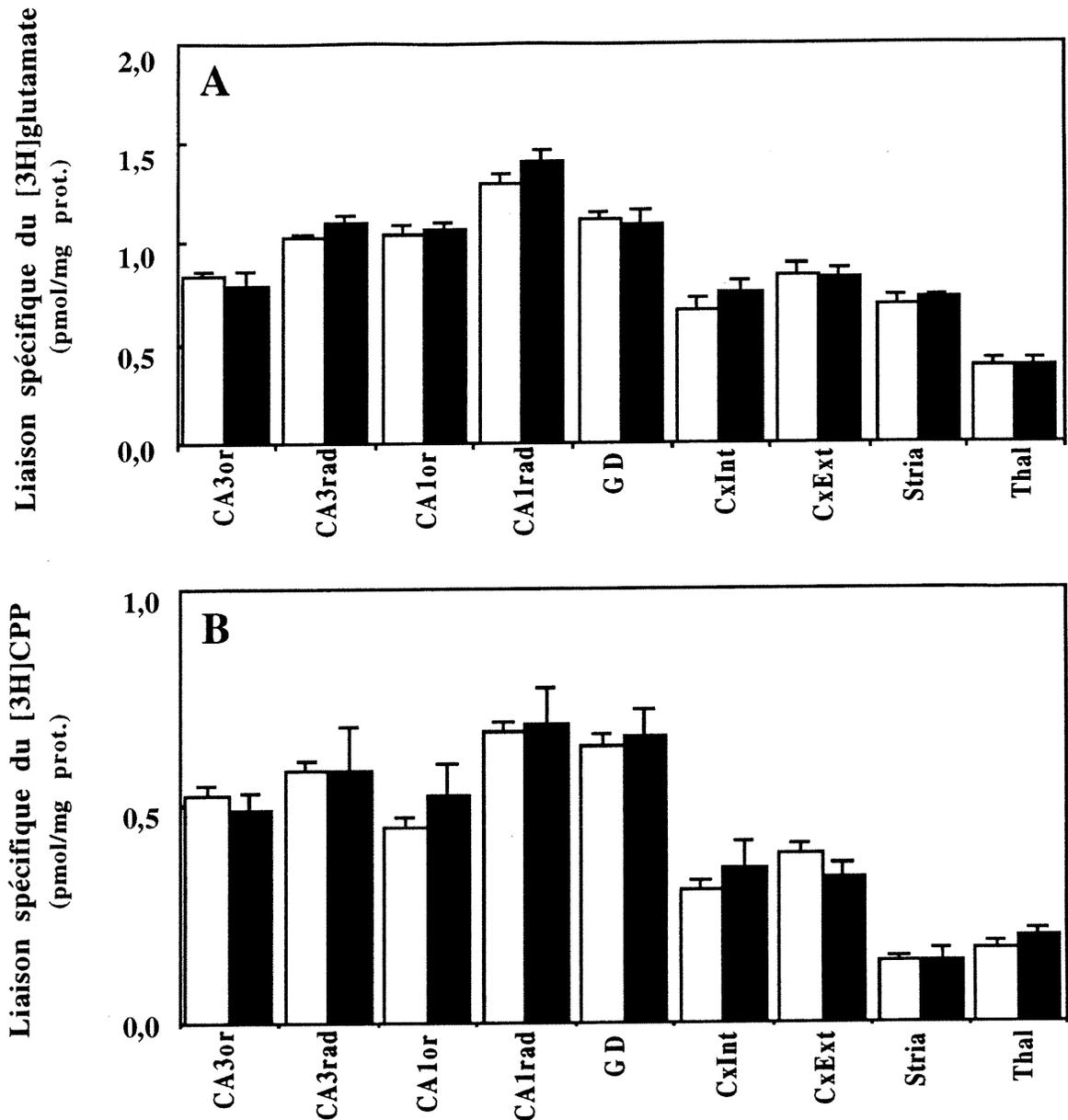


Figure 8 : Effet du traitement calcique sur la liaison du $[^3\text{H}]$ glutamate et du $[^3\text{H}]$ CPP aux sites NMDA dans différentes régions du cerveau de souris. Des sections horizontales adjacentes de cerveaux de souris B6C3F1, prises au niveau des hippocampes dorsaux, ont été préincubées à 35°C durant 1h dans du tampon T/A en présence (**barres pleines**) ou non (**barres vides**) de 1.0 mM d'acétate de calcium. Les sections ont ensuite été lavées puis préparées pour l'épreuve de liaison aux sites NMDA tel que décrit à la section 3. Les autoradiogrammes (non inclus) ont été analysés tel que décrit dans la légende de la Figure 7. Les résultats sont exprimés en pmol/mg de protéine. Les panneaux **A** et **B** représentent respectivement la liaison du $[^3\text{H}]$ glutamate et du $[^3\text{H}]$ CPP dans différentes structures cérébrales. Les données représentent les moyennes \pm E.T.M. de valeurs obtenues chez au moins 6 souris B6C3F1 différentes avec au moins 4 mesures par animal pour chacune des régions étudiées. Aucune différence significative entre les valeurs contrôles et calcium n'a été révélée pour l'ensemble des régions cérébrales étudiées.

4.2 Effets du calcium sur les propriétés de liaison à l'équilibre des récepteurs AMPA (K_d et B_{max}) dans le cerveau de souris

Afin de déterminer si les changements de la liaison du [3 H]AMPA induit par 1.0 mM de calcium sur les coupes de cerveaux congelés de souris sont le résultat d'une modification de l'affinité (représentée par le K_d) des récepteurs et/ou de leur nombre (B_{max}),⁴⁴ des expériences dites de saturation à l'équilibre ont été effectuées. Les représentations graphiques selon Scatchard de l'évolution de la saturation de la liaison du [3 H]AMPA dans le cortex pariéto-temporal (Fig. 9B) et dans le *stratum radiatum* de la région CA₁ de l'hippocampe (Fig. 10B) révèlent clairement un modèle de réception à un site de liaison. Une régression non linéaire par hyperbole rectangulaire des courbes de saturation (Fig. 9A et 10A) a établi un K_d de 112 ± 19 nM et un B_{max} de 3.2 ± 0.14 pmol/mg de protéine dans le cortex des coupes contrôles (voir tableau III pour un résumé des valeurs). Pour les coupes traitées avec 1.0 mM de calcium, le B_{max} est resté inchangé dans cette région (3.41 ± 0.14 pmol/mg prot.; Fig. 9A), tandis que l'affinité des récepteurs AMPA s'est révélée être diminuée d'environ 45% ($K_d = 243^* \pm 33$ nM; $\bar{x} \pm$ E.T.M. de 6 expériences; * $p < 0.01$, test- t de Student; calcium vs contrôle). Les résultats obtenus dans le *stratum radiatum* de la région CA₁ de l'hippocampe ont révélé, contrairement au cortex, que l'augmentation de la liaison du [3 H]AMPA n'est pas due à un changement de l'affinité des récepteurs AMPA (contrôle : $K_d = 154 \pm 26$ nM; calcium : $K_d = 179 \pm 14$ nM; $\bar{x} \pm$ E.T.M. de 6 expériences). En effet, la Fig. 10B montre clairement le changement du B_{max} dans cette région de l'hippocampe provoqué par le traitement des coupes

⁴⁴ Le K_d , exprimé en unité de moles par litre, est la constante de dissociation à l'équilibre et représente la concentration à laquelle le ligand occupe la moitié des sites de liaison à l'équilibre. Plus l'affinité du récepteur envers un ligand est élevée, plus la valeur du K_d est faible. Le B_{max} représente le nombre total de sites de liaison. La liaison spécifique d'un ligand est fonction à la fois de sa concentration ([L]) et de ces deux paramètres : liaison spécifique = $(B_{max} \cdot [L]) / (K_d + [L])$. Pour un guide sur les données de radioliasion, voir Motulsky, 1996.

de cerveaux de souris avec 1.0 mM de Ca^{2+} . (contrôle : $B_{\max} = 7.2 \pm 0.34$; calcium : $11.9^* \pm 0.3$ pmol/mg prot.; $\bar{x} \pm \text{E.T.M.}$ de 6 expériences; * $p < 0.01$, test- t de Student; calcium vs contrôle). Il est important de mentionner ici que les sites de hautes affinités n'ont pas été détectés lors de ces expériences, et ceci est probablement dû à la préincubation des sections à 35°C. En effet, les sites de haute affinité pour l'AMPA représentent, tel que mentionné dans l'introduction (section 1.2.1), les récepteurs cytoplasmiques, et il a été démontré que ces derniers sont facilement éliminés par une telle préincubation (Standley et coll., 1994, 1998a).

TABLEAU III : Valeurs des K_d et des B_{\max} calculées à partir de la liaison du [^3H]AMPA

	Cortex pariéto-temporal		<i>CA₁ radiatum</i>	
	K_d (nM)	B_{\max} (pmol/mg prot.)	K_d (nM)	B_{\max} (pmol/mg prot.)
Contrôle	112 ± 19	3.2 ± 0.14	154 ± 26	7.2 ± 0.34
Calcium	243* ± 33	3.41 ± 0.14	179 ± 14	11.9* ± 0.3

Valeurs des K_d et des B_{\max} , tirées d'une régression non linéaire par hyperbole rectangulaire, des courbes de saturation de la liaison du [^3H]AMPA, sur des coupes de cerveaux congelés de souris, similaires à celles présentées aux Fig. 9A et 10A. Les données représentent les moyennes \pm E.T.M. de 6 expériences; * $p < 0.01$, test- t de Student; calcium vs contrôle.

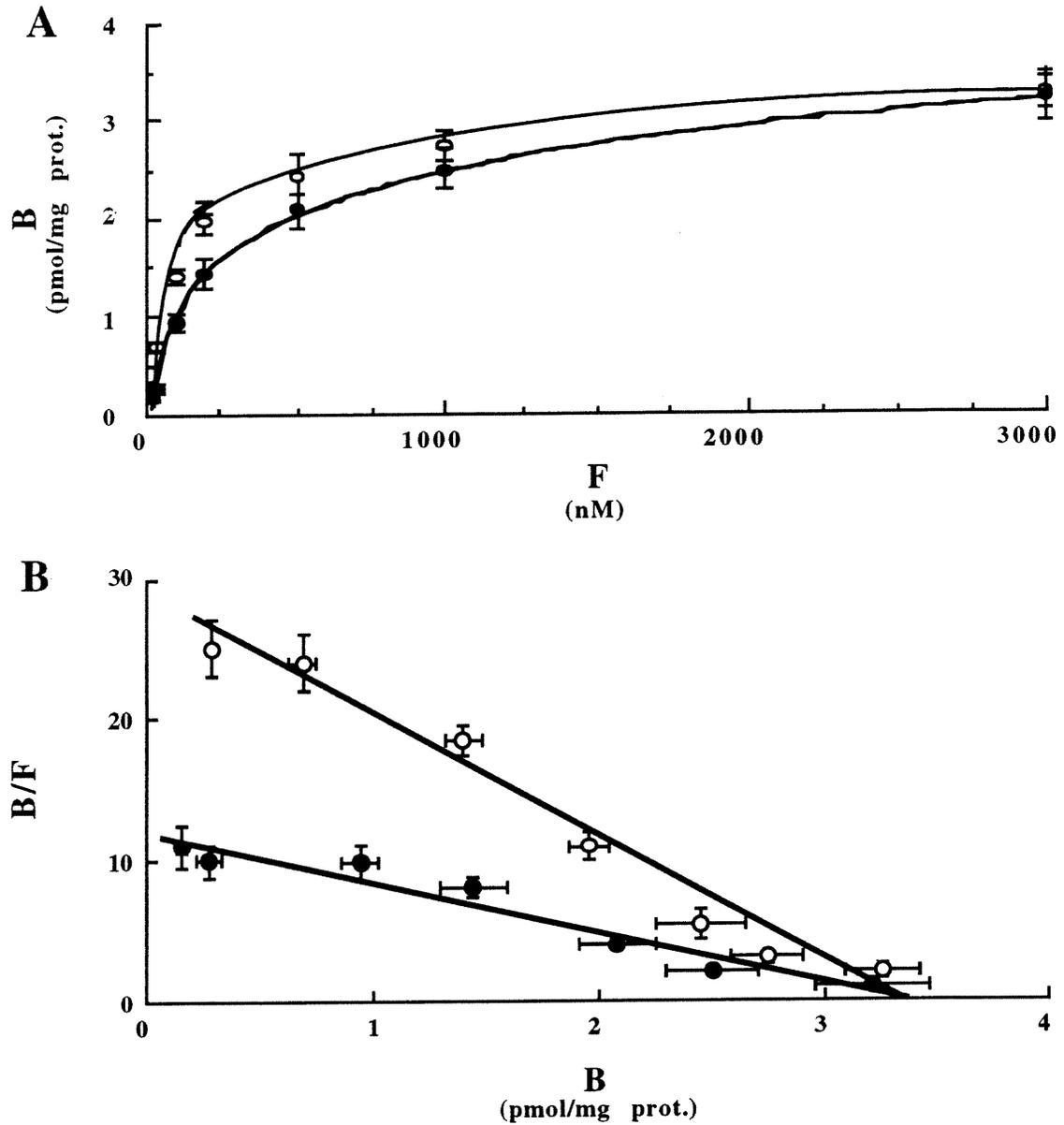


Figure 9 : Effets du calcium sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA dans le cortex du cerveau de souris. Des sections horizontales adjacentes de cerveaux de souris B6C3F1, prises au niveau des hippocampes, dorsaux ont été préincubées à 35°C durant 1h dans du tampon T/A avec (**cercles pleins**) ou sans (**cercles vides**) acétate de calcium (1.0 mM). La liaison du [³H]AMPA (B, pmol/mg de prot.) a été déterminée par l'utilisation de concentrations de ligand (F) allant de 20 nM jusqu'à 3 μM, et mesurée par autoradiographie quantitative tel que décrit dans la légende de la Fig. 7. Les expériences ont été effectuées avec six animaux différents. **A**) Courbes de saturation représentatives de celles obtenues par analyse de la liaison du [³H]AMPA dans le cortex pariéto-temporal (CxExt et CxInt confondus) des différents animaux. Une régression non linéaire par hyperbole rectangulaire effectuée sur ces courbes a permis d'extraire les valeurs de K_d et de B_{max} présentées dans le Tableau III. **B**) Représentation graphique de Scatchard des données moyennes \pm E.T.M. permettant de visualiser la variation de l'affinité des récepteurs AMPA dans le cortex cérébral.

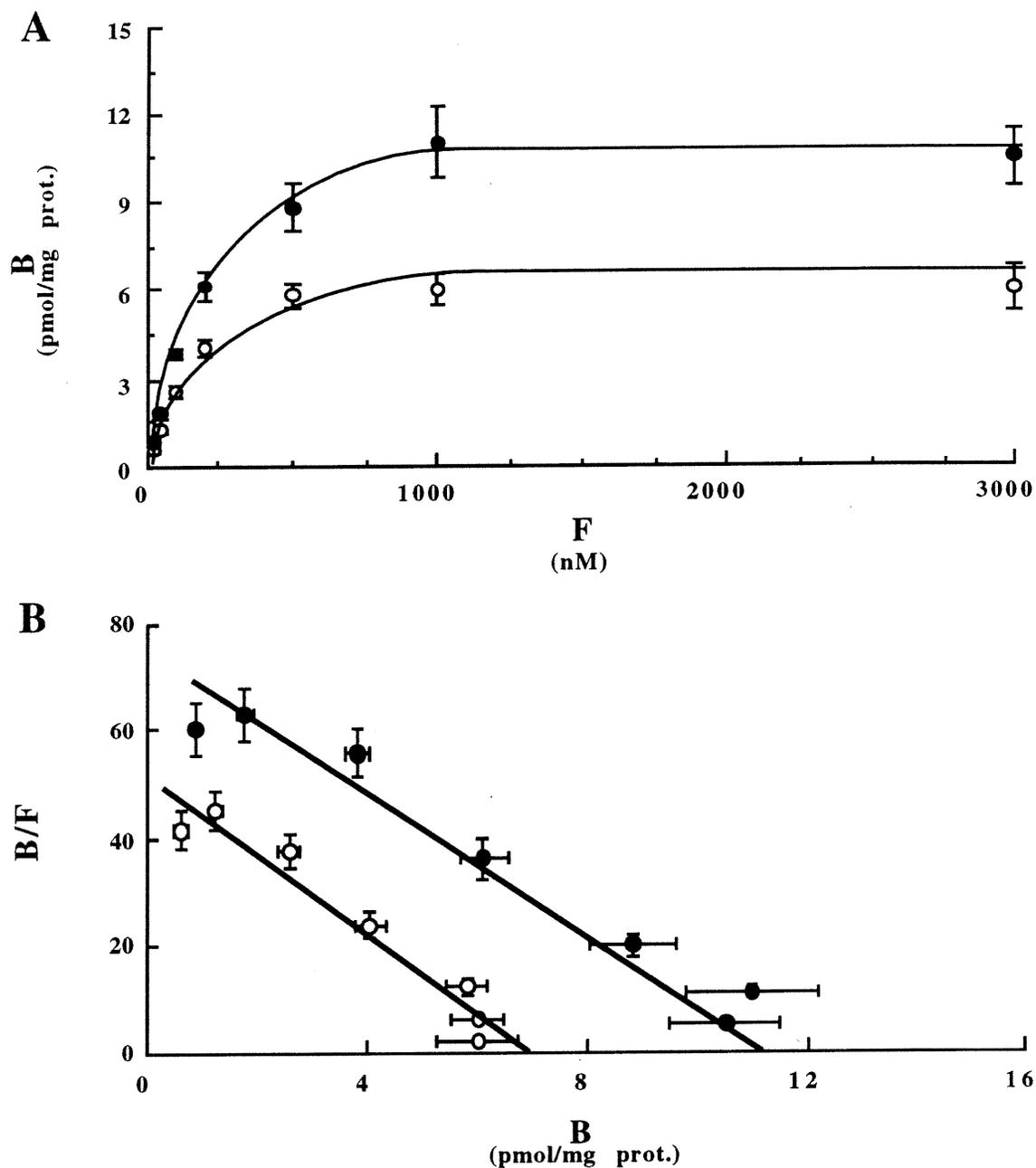


Figure 10 : Effets du calcium sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA dans l'hippocampe du cerveau de souris. Les mêmes expériences que celles décrites dans la légende de la Figure 9 ont servi à produire les graphiques présentés dans cette figure (**cercles vides**, condition contrôle; **cercles pleins**, condition calcium). **A**) Courbes de saturation représentatives de celles obtenues par analyse de la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ dans la région CA_1 *radiatum* de l'hippocampe des différents animaux. Une régression non linéaire par hyperbole rectangulaire effectuée sur ces courbes a permis d'extraire les valeurs de K_d et de B_{max} présentées dans le Tableau III. **B**) Représentation graphique de Scatchard des données moyennes \pm E.T.M. permettant de visualiser la variation du nombre maximal de sites de liaison des récepteurs AMPA dans la région CA_1 *radiatum* de l'hippocampe.

4.3 Effets de l'inhibition de la voie lipoxygénase sur la régulation calcique des propriétés de liaison des récepteurs AMPA dans le cerveau de souris

Les mécanismes exacts recrutés par le calcium qui permettent de réguler les propriétés de liaison des récepteurs AMPA dans les coupes de cerveaux congelés de souris restaient à être identifiés. Afin de combler, du moins en partie, cette lacune, une série d'expériences permettant d'évaluer les effets de différents inhibiteurs enzymatiques sur les changements de la liaison du [³H]AMPA induits par le calcium sur les sections de cerveaux congelés de souris a été effectuée. Considérant que les produits dérivés de la voie 12-lipoxygénase (12-LPO) du métabolisme de l'acide arachidonique (AA) semblent impliqués dans la régulation à la baisse de la liaison aux récepteurs AMPA (Chabot et coll., 1998), il s'imposait de vérifier si certains inhibiteurs du métabolisme de l'AA pouvaient affecter la régulation calcique de ces récepteurs dans les sections de cerveaux congelés de souris. Les résultats présentés ci-après ont été obtenus avec un inhibiteur de la PLA₂ (bromophénacylbromide, BPB), deux inhibiteurs de la voie LPO (baicaléine et acide nordihydroguaiarétique, NDGA) et un inhibiteur de la voie cyclooxygénase (indométhacine) du métabolisme de l'AA (voir Fig. 4). La Fig. 11A montre que la préincubation de sections horizontales de cerveaux congelés de souris avec 40 µM de baicaléine, un puissant inhibiteur de la voie 12-LPO, a eu pour effet de réduire significativement la baisse de la liaison de [³H]AMPA provoquée par le traitement calcique dans le cortex et le striatum. Cependant, la hausse de la liaison de [³H]AMPA observée dans l'hippocampe suite au traitement calcique n'a pas été significativement affectée par la présence de cet inhibiteur (Fig. 11B). Des effets similaires ont été obtenus avec un autre inhibiteur de la voie LPO, le NDGA (Fig. 12A), de même qu'avec un inhibiteur de la PLA₂, le BPB (Fig.

12B). Enfin, la préincubation des sections avec l'indométhacine, un inhibiteur de la voie cyclooxygénase (COOX), n'a pas induit d'effets significatifs sur la baisse ni sur la hausse de la liaison du [³H]AMPA induites par le Ca²⁺ dans les différentes régions analysées (Fig. 13).

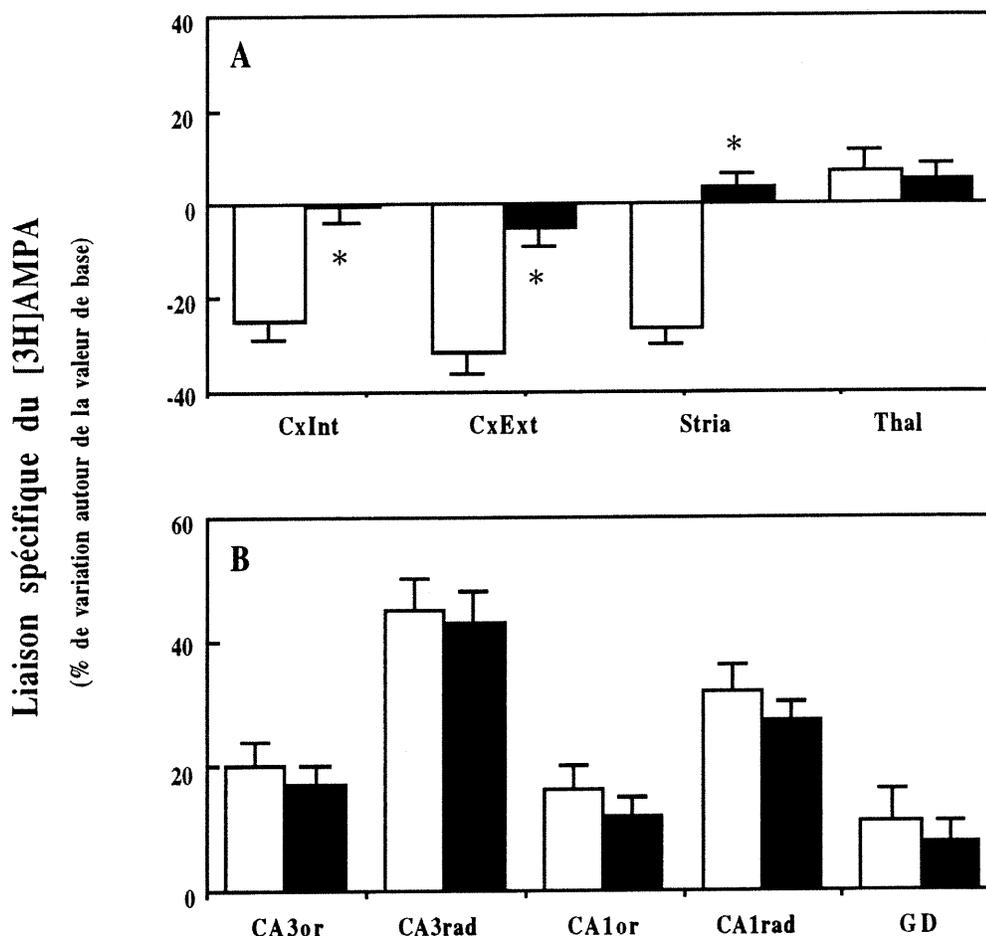


Figure 11 : Effet de la baicaléine sur la modulation calcique de la liaison du [³H]AMPA dans différentes régions du cerveau de souris. Des sections horizontales adjacentes de cerveau de souris B6C3F1, prises au niveau des hippocampes dorsaux, ont été préincubées à 35°C durant 1h dans du tampon T/A avec 1.0 mM d'acétate de calcium en l'absence (**barres vides**) ou en présence (**barres pleines**) de 40 µM de baicaléine. Les sections ont ensuite été lavées puis préparées pour l'épreuve de liaison aux sites AMPA tel que décrit à la section 3. Les autoradiogrammes (non inclus) ont été analysés tel que décrit dans la légende de la Figure 7. Les résultats représentent la modulation, induite par le Ca²⁺, de la liaison du [³H]AMPA et sont exprimés en pourcentage de variation de la liaison de base déterminée sur des sections préincubées en absence de Ca²⁺. Les panneaux **A** et **B** représentent respectivement la liaison du [³H]AMPA dans les structures non hippocampales et hippocampales. Les données représentent les moy. ± E.T.M. d'au moins 4 mesures par animal chez 6 souris différentes. **p* < 0.05; *one-way* ANOVA avec l'après-test de Student-Newman-Keuls; baicaléine vs contrôle.

Liaison spécifique du [3H]AMPA
(% de variation autour de la valeur de base)

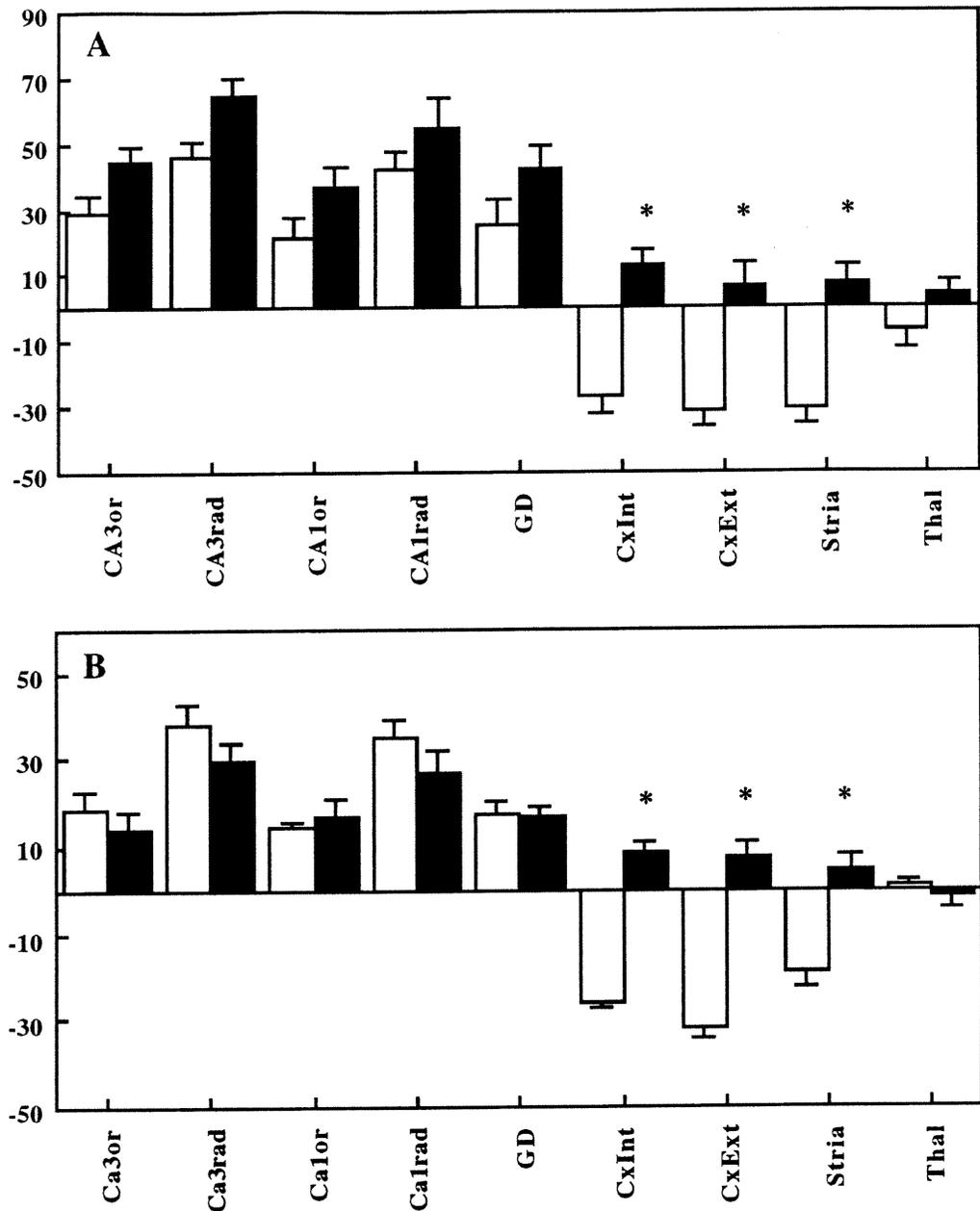


Figure 12 : Effet du NDGA et du BPB sur la modulation calcique de la liaison du [3H]AMPA dans différentes régions du cerveau de souris. Des sections horizontales adjacentes de cerveaux de souris B6C3F1, prises au niveau des hippocampes dorsaux, ont été préincubées à 35°C durant 1h dans du tampon T/A avec 1.0 mM d'acétate de Ca²⁺ en l'absence (**barres vides**) ou en présence (**barres pleines**) de 40 µM de NDGA (A) ou de 10 µM de BPB (B), tous deux solubilisés dans le DMSO (0.1% v/v final). Les coupes ont ensuite été utilisées tel que décrit dans la légende de la Fig. 11. Les résultats représentent la modulation, induite par le Ca²⁺, de la liaison du [3H]AMPA, et sont exprimés en pourcentage de variation de la liaison de base déterminée sur des sections préincubées en absence de Ca²⁺. Les données représentent les moy. ± E.T.M. d'au moins 4 mesures par animal chez 6 souris différentes. **p* < 0.05; *one-way* ANOVA avec l'après-test de Student-Newman-Keuls; inhibiteur vs contrôle.

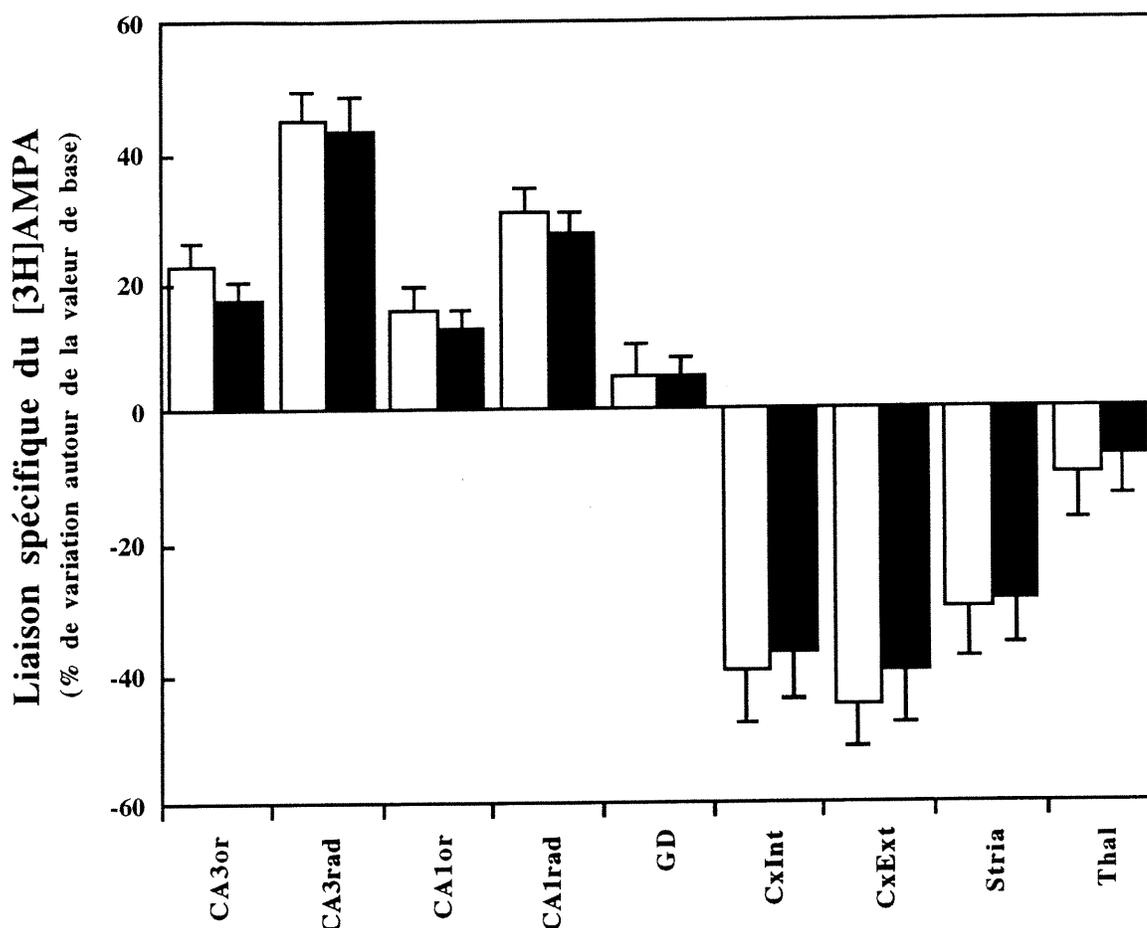


Figure 13 : Effet de l'indométhacine sur la modulation calcique de la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ dans différentes régions du cerveau de souris. Des sections horizontales adjacentes de cerveaux de souris B6C3F1, prises au niveau des hippocampes dorsaux, ont été préincubées à 35°C durant 1h dans du tampon T/A avec 1.0 mM d'acétate de calcium en l'absence (**barres pleines**) ou en présence (**barres vides**) de 100 μM d'indométhacine, solubilisé dans le DMSO (0.1% v/v final). Les coupes ont ensuite été utilisées tel que décrit dans la légende de la Figure 11. Les résultats représentent la modulation, induite par le Ca^{2+} , de la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ et sont exprimés en pourcentage de variation de la liaison de base déterminée sur des sections préincubées en absence de Ca^{2+} . Les données représentent les moyennes \pm E.T.M. d'au moins 4 mesures par animal chez 6 souris différentes. Aucune différence significative entre les valeurs contrôles et calcium n'a été révélée pour l'ensemble des régions cérébrales étudiées.

4.4 Étude des effets du traitement calcique sur la liaison du [³H]AMPA sur des coupes de cerveaux congelés de différentes souches de souris

À la lumière des précédents résultats, il restait à vérifier si un niveau de sensibilité différentiel intersouche des récepteurs AMPA aux effets du Ca²⁺ pouvait être considéré comme un des facteurs à la base des variations des capacités mnésiques, des capacités de résistance aux dommages cérébraux induits expérimentalement ainsi que des propriétés plastiques des synapses glutamatergiques observées entre différentes souches de souris couramment utilisées en laboratoire (voir section 2.1). Pour arriver à cette fin, les effets du traitement calcique (1.0 mM) sur la liaison du [³H]AMPA sur des sections horizontales de cerveaux congelés, prélevées sur des souris de telles souches (C57BL/6, C3H, BALB/c, DBA/2, 129/SvEMS et FVB/N), ont été déterminés par autoradiographie quantitative. Les résultats indiquent que la modulation calcique des propriétés de liaison des récepteurs AMPA, observée dans chacune des régions cérébrales étudiées, sauf le thalamus, varie de façon significative (*one-way* ANOVA; $p < 0.05$; $F > 3.1$) d'une souche à l'autre (Fig. 14). Une analyse de corrélation (test de Pearson; $r^2 = 0.7145$, $p < 0.05$) entre les niveaux de modulation calcique (exprimés en pourcentage de la valeur de base) de la liaison du [³H]AMPA, mesurés dans le cortex (CxExt et CxInt confondus) et l'hippocampe (GD, CA₁ et CA₃ *oriens* et *radiatum* confondus) respectivement, révèle que, chez une souche particulière, plus le niveau de modulation à la hausse est élevé dans l'hippocampe, plus celui de la modulation à la baisse dans le cortex est faible (Fig. 15). En particulier, les souches présentant les plus faibles niveaux de modulation calcique hippocampale, et, par conséquent, les plus forts niveaux de modulation calcique corticale, sont, en ordre décroissant : DBA/2 (107% vs 70%), 129/SvEMS (109% vs 74%),

BALB/c (115% vs 75%), C3H (126% vs 76%), FVB/N (125% vs 86%) et C57BL/6 (130% vs 89%). Il est intéressant de noter ici que le profil de modulation calcique des souris B6C3F1 (121% vs 77%; voir section 4.1) ressemble à celui des souris C3H.

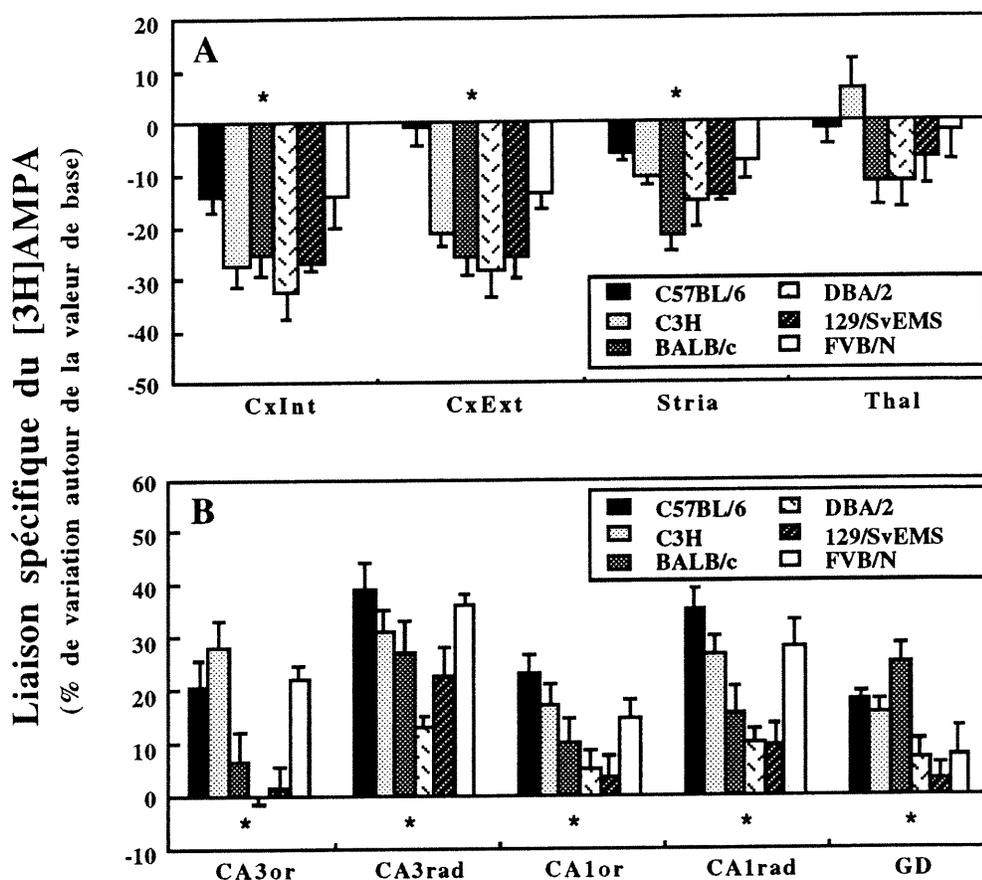


Figure 14 : Comparaison de la modulation calcique de la liaison du [³H]AMPA entre différentes souches de souris au niveau de diverses régions cérébrales. Des sections horizontales adjacentes de cerveaux de souris de différentes souches, au niveau des hippocampes dorsaux, ont été préincubées à 35°C durant 1h dans du tampon T/A avec ou sans acétate de calcium (1.0 mM). Les coupes ont ensuite été utilisées tel que décrit dans la légende de la Figure 11. Les panneaux A et B montrent respectivement la liaison du [³H]AMPA dans les structures non hippocampales et hippocampales. Les résultats représentent la modulation, induite par le Ca²⁺, de la liaison du [³H]AMPA et sont exprimés en pourcentage de variation de la liaison de base déterminée sur des sections préincubées en absence de Ca²⁺. Les données représentent les moyennes ± E.T.M. d'au moins 4 mesures par animal chez 6 souris différentes par souche. **p* < 0.05; est indicatif d'une différence significative de l'effet du Ca²⁺ entre les souches pour une même région cérébrale; *one-way* ANOVA (*F* > 3.1).

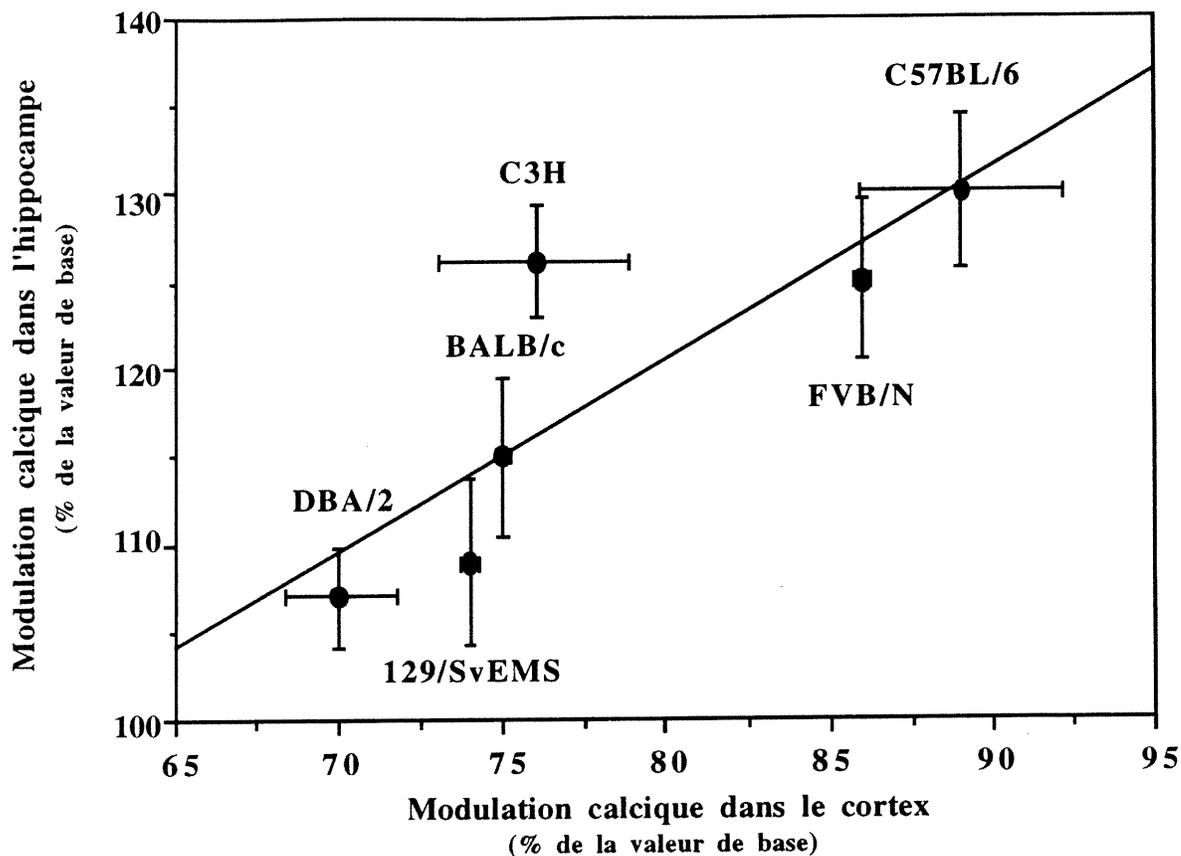


Figure 15 : Étude de corrélation sur les niveaux de modulation calcique de la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ dans le cortex et l'hippocampe de cerveaux de différentes souches de souris. Les données qui sont présentées à la Figure 14 ont été compilées pour l'hippocampe (GD, CA₁ et CA₃ *oriens* et *radiatum*) et le cortex pariéto-temporal (CxInt et CxExt) de façon séparée pour chacune des 6 souches de souris. Les valeurs moyennes \pm E.T.M. obtenues ont été transposées en abscisse et en ordonnée, respectivement pour le cortex et l'hippocampe, et soumises à un test de corrélation linéaire (test de Pearson; coefficient de détermination (r^2) = 0.7145, p = 0.034). Les résultats représentent la modulation régionale moyenne, induite par le Ca^{2+} , de la liaison du $[^3\text{H}]\text{AMPA}$ et sont exprimés en pourcentage de variation de la liaison de base déterminée sur des sections préincubées en absence de Ca^{2+} . L'analyse statistique a révélé une corrélation négative significative entre le niveau de modulation calcique à la hausse dans l'hippocampe et celui de la modulation calcique à la baisse dans le cortex.

5 DISCUSSION

Ces résultats montrent que le Ca^{2+} a des effets sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA qui sont différents d'une région cérébrale à l'autre : la liaison est augmentée dans l'hippocampe, diminuée dans le cortex et le striatum, et inchangée dans le thalamus. De plus, ces effets semblent être spécifiques aux récepteurs AMPA puisque le traitement calcique des sections n'a pas induit de changements de la liaison du [^3H]glutamate ni du [^3H]CPP aux récepteurs NMDA. L'analyse des courbes de saturation de la liaison du [^3H]AMPA a révélé que la hausse de cette liaison induite par le Ca^{2+} dans la région CA_1 *radiatum* de l'hippocampe est due à un changement dans le nombre maximal de sites de liaison (B_{max}), tandis que la baisse de la liaison induite par le Ca^{2+} observée dans le cortex est le résultat d'une diminution de l'affinité (exprimée par le K_d) des récepteurs AMPA envers le ligand. Cette régulation calcique à la baisse de l'affinité des récepteurs AMPA dans le cortex et le striatum semble impliquer l'activation de la PLA_2 et de la voie lipoxgénase du métabolisme de l'AA puisqu'elle est bloquée par des inhibiteurs de ces systèmes enzymatiques. De plus, les effets du Ca^{2+} sur la liaison du [^3H]AMPA dans différentes régions cérébrales varient d'une souche de souris à l'autre. L'étude comparative entre les souches a révélé que le niveau de modulation à la hausse des propriétés de liaison des récepteurs AMPA induite par le Ca^{2+} dans l'hippocampe est négativement corrélé au niveau de la modulation calcique à la baisse retrouvée dans le cortex. Ainsi, les récepteurs AMPA de l'hippocampe de souris de souche C57BL/6 sont les plus facilement régulés à la hausse, tandis que ceux du cortex des souris de souche DBA/2 présentent les plus forts niveaux de modulation calcique à la baisse.

5.1 Variation des effets du calcium sur les récepteurs AMPA entre différentes régions cérébrales chez la souris

L'ensemble des résultats obtenus pour l'hippocampe chez la souris est compatible avec les études précédentes qui montrent qu'un traitement par le Ca^{2+} de coupes de cerveaux congelés de rat induit une hausse de la liaison du [^3H]AMPA sur ces dernières (Chabot et coll., 1997; Gagné et coll., 1996, 1998; Tocco et coll., 1992c). Cependant, le patron de régulation observé dans le cortex et le striatum de la souris est très différent de celui retrouvé chez le rat. En effet, dans ce modèle, le Ca^{2+} n'induit pas une baisse de la liaison du [^3H]AMPA dans le cortex ni dans le striatum, tandis que chez la souris, il génère une baisse de cette liaison pour les mêmes structures, un effet qui n'a jamais été observé auparavant. La raison de ces différences entre espèces murines et entre régions cérébrales dans la régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA reste à déterminer. Toutefois, les capacités mnésiques, les propriétés plastiques ainsi que la vulnérabilité à l'ischémie cérébrale et à l'excitotoxicité cellulaire induite par le KA (voir la section 2.1) sont différentes entre diverses espèces de rats et de souris au niveau de ces deux structures cérébrales. De plus, pour une même espèce, les propriétés des phénomènes de plasticité synaptique observables dans le cerveau sont largement différentes d'une région à l'autre (Izquierdo et Medina, 1993; Linden et Connor, 1995; Lovinger et Tyler, 1996; Maren et Baudry, 1995; Tsumoto, 1992; Zhuo et Hawkins, 1995). Or, plusieurs possibilités sont envisageables pour expliquer ces différences de régulation des récepteurs AMPA observées entre espèces murines, d'une part, et entre chacune des multiples structures cérébrales d'une même espèce, d'autre part.

D'abord, il se peut que ces variations de l'effet du Ca^{2+} sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA soient le reflet de différences, entre espèces murines et entre régions

cérébrales, au niveau de la structure même des récepteurs. En effet, les techniques de clonage moléculaire ont montré que d'importantes propriétés fonctionnelles des récepteurs AMPA sont régies par leur composition en sous-unités (voir la section 1.2.1). Par exemple, la région CA₃ de l'hippocampe exprime majoritairement les variantes flip des sous-unités, tandis que dans la région CA₁ et le gyrus dentelé, c'est la forme flop qui prédomine (Monyer et coll., 1991; Sommer et coll., 1990). Une étude récente a également établi que les cellules pyramidales des couches externes du cortex ne renferment presque exclusivement que les variantes flip, alors que les variantes flop sont confinées dans les cellules non pyramidales (Lambolez et coll., 1996). Ainsi, il est possible que les changements opposés que le Ca²⁺ induit sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA entre les diverses régions soient le résultat d'une expression différentielle des sous-unités. D'ailleurs, plusieurs études démontrent que les sous-unités des récepteurs AMPA et leurs variantes d'épissage exhibent un patron développemental postnatal différent (Monyer et coll., 1991; Pellegrini-Giampietro et coll., 1991; Stanley et coll., 1995, 1998b) et que les lipases dépendantes du calcium réduisent la liaison aux récepteurs AMPA dans les stades de développement postnataux, contrairement à une augmentation à la maturité (Baudry et coll., 1991; Chabot et coll., 1996).

Par ailleurs, il se peut que ces différences de régulations calciques des récepteurs AMPA soient attribuables à une activation régionale différentielle des enzymes dépendantes du Ca²⁺ connues pour moduler les propriétés de liaisons de ces récepteurs. En effet, des études ont démontré que les lipases dépendantes du Ca²⁺, telles les phospholipases C (PLC) et A₂, peuvent être impliquées dans la régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA (voir section 2.1) (en revue par Baudry et coll., 1993; Baudry et Massicotte, 1992; Dev et Henley, 1998; Lynch, 1998). En particulier, la liaison du [³H]AMPA peut être modulée de façon

bidirectionnelle par le traitement de synaptoneurosomes de rat avec différentes concentrations de PLA₂ : les faibles concentrations génèrent une baisse, et les fortes concentrations, une hausse de la liaison du [³H]AMPA. De plus, la direction de cette régulation des récepteurs AMPA par la PLA₂ semble être déterminée par des processus cellulaires distincts, associés à l'activation de l'enzyme, puisque seule la réduction de la liaison du [³H]AMPA est provoquée par l'accumulation de métabolites de l'AA produits par la voie lipoxigénase (Chabot et coll., 1998). Or, les résultats présentés dans ce mémoire indiquent que la baisse de la liaison du [³H]AMPA, induite par le calcium et observée dans le cortex et le striatum, est bloquée par la présence d'inhibiteurs de PLA₂ et de lipoxigénase. On peut dès lors postuler que la variation des effets calciques sur la liaison du [³H]AMPA observée d'une région cérébrale à l'autre peut être en partie reliée à des niveaux de modulation différents des récepteurs AMPA par les métabolites de la voie lipoxigénase. Une telle interprétation cadre bien avec une étude biochimique indiquant que la PLA₂ induit des changements opposés sur la liaison du [³H]AMPA, soit respectivement une baisse ou une hausse, lorsqu'ajoutée à des préparations de membranes corticales ou hippocampales (Dev et coll., 1998). Néanmoins, la Figure 12 nous montre que ni le NDGA ni le BPB n'ont eu d'effets significatifs sur la hausse de la liaison du [³H]AMPA induite par le Ca²⁺ dans l'hippocampe. Il est donc possible que le présent modèle expérimental ne soit pas assez sensible pour détecter les effets de ces inhibiteurs sur la modulation calcique observée dans cette structure. Il se peut toutefois, si les métabolites de la voie lipoxigénase sont en partie responsable d'une modulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA, que leurs effets soient conditionnels à une activité enzymatique non présente dans les neurones de l'hippocampe ou encore qu'ils soient freinés par un autre système enzymatique peu ou pas actif dans les neurones du cortex et du striatum.

Enfin, ces différences observées entre l'hippocampe et le cortex ou le striatum peuvent être attribuables au phénotype d'expression des sous-unités des récepteurs AMPA qui varie en fonction de la région cérébrale et du type de neurone (Bahn et Wisden, 1996; Hampson et coll., 1992; Jonas et coll., 1994; Kharazia et coll., 1996; Leranth et coll., 1996; Monyer et coll., 1991; Petralia et Wenthold, 1992; Sommer et coll., 1990).

En dehors de la PLA₂ et des métabolites de la voie lipoxigénase, d'autres enzymes dépendantes du calcium risquent donc d'être impliquées dans la régulation calcique des récepteurs AMPA. En effet, des études ont démontré que la régulation à la hausse de la liaison du [³H]AMPA induite par le Ca²⁺ sur des coupes de cerveaux congelés de rat est en partie médiée par la calpaïne endogène, une protéase dépendante du calcium dont l'activation entraîne la coupure de GluR1 au niveau de son domaine C-terminal (Bi et coll., 1994, 1996, 1997; Tocco et coll., 1992c). Étant donné que plusieurs sites de phosphorylation sont retrouvés dans la région voisinant les sites de coupures du domaine C-terminal de GluR1 (Hollmann et coll., 1994; Roche et coll., 1996), il est fort possible que la régulation protéolytique des récepteurs AMPA induite par le calcium soit le résultat d'une interaction complexe entre kinases, phosphatases et calpaïne (Bi et coll., 1997). De plus, comme cette régulation protéolytique est associée à une hausse de la liaison du [³H]AMPA, il n'est pas exclu qu'elle puisse être, en plus de la PLC, en partie responsable de l'effet du calcium sur les propriétés liaison des récepteurs AMPA observé dans l'hippocampe de souris et de rats. Bref, dans chacune des régions cérébrales, de multiples systèmes enzymatiques sont potentiellement activés par le calcium et leurs actions sont susceptibles d'entraîner une modification des propriétés des récepteurs AMPA. Néanmoins, avant d'en arriver à établir une charte régionale précise des processus enzymatiques intervenant dans la régulation calcique de ces récepteurs,

d'autres études seront nécessaires afin d'identifier les métabolites en cause et les multiples autres enzymes (phospholipases, protéases, kinases, phosphatases) potentiellement impliquées dans ce phénomène.

5.2 Variation des effets du calcium sur les récepteurs AMPA de diverses régions cérébrales entre différentes souches de souris

L'étude comparative des effets du traitement calcique sur la liaison du [³H]AMPA sur des coupes de cerveaux de différentes souches de souris s'est révélée extrêmement intéressante (voir section 4.4). En effet, les résultats de cette étude montrent que les souris C57BL/6 sont caractérisées par des facteurs cellulaires, qui restent à être définis d'ailleurs, favorisant la modulation à la hausse des propriétés de liaison des récepteurs AMPA au niveau de l'hippocampe. Inversement, les neurones des souris DBA/2 démontrent, d'après les résultats présentés dans ce mémoire, la plus faible capacité à produire une telle régulation à la hausse induite par le Ca²⁺. Or, il est connu que la performance des souris C57BL/6 dans le labyrinthe aqueux de Morris ou dans le T-CAT, des tâches permettant d'évaluer la qualité de la mémorisation spatiale (Gerlai, 1998; Morris, 1981) dont le siège nerveux serait formé par l'hippocampe et le cortex frontal (e.g. Barnes, 1988; Sutherland et coll., 1983), est de beaucoup supérieure à celle obtenue avec des souris DBA/2 (Gerlai, 1998; Upchurch et Wehner, 1988; Wehner et coll., 1990). De plus, une récente étude a démontré que la PLT hippocampale, une fois induite, est exprimée de façon beaucoup plus persistante chez les souris C57BL/6 que les DBA/2 (Matsuyama et coll., 1997). Fait intéressant, les souris C57BL/6 sont les plus vulnérables, parmi différentes souches de souris, dont les DBA/2, les

BLAB/c et les C3H, à l'ischémie cérébrale par comparaison du taux de survivance et du degré de mort neuronale associés à ce traumatisme (Yang et coll., 1997). Dans cette étude, les souris DBA/2 démontraient le plus haut degré de survivance avec pratiquement aucun signe de mort neuronale dans les régions cérébrales étudiées suivant la période ischémique. Il est donc tentant de suggérer qu'un fort potentiel de régulation calcique à la hausse des propriétés de liaison des récepteurs AMPA au niveau de l'hippocampe soit une cause directe d'une plus grande activité excitotoxique provoquée par l'ischémie ou d'autres traumatismes métaboliques, tel l'hypoglycémie (voir Lees, 1996). Néanmoins, des facteurs autres que les mécanismes de régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA, tel le niveau de développement du réseau vasculaire irriguant le cerveau (cercle de Willis), semblent être déterminant dans le degré de sensibilité des neurones à l'ischémie cérébrale conféré à une espèce animale particulière (Yang et coll., 1997).

Par ailleurs, l'un des facteurs cellulaires potentiellement impliqué dans ce processus pathologique hypothétique est le degré d'activité de la protéine kinase C (PKC) au sein des neurones. En effet, l'activité corticale et hippocampale de la PKC chez les souris C57BL/6 est supérieure à celle retrouvée chez les souris DBA/2 (Wehner et coll., 1990), et l'activation *in vivo* de cette enzyme par des activateurs, délivrés par injection chez des souris BALB/c, permet à ces dernières d'exécuter plus facilement des tâches mnésiques dans un labyrinthe radial (Noguès et coll., 1996). Comme la PLT est associée à l'activation de différentes kinases, dont la PKC (Malenka, 1994b; Tokuda et Hatase, 1998; Wang et Kelly, 1996), et à la régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA (Bernard et coll., 1994; Maren et coll., 1993; Mushleh et coll., 1997; Tocco et coll., 1992b), il est fort possible que des variations intersouches dans le degré d'activation de la PKC, ou d'autres kinases induites par

le Ca^{2+} , soient en partie responsables des variations dans la modulation calcique de la liaison du [^3H]AMPA observées entre les différentes souches de souris utilisées pour les travaux dont fait l'objet le présent mémoire. Il sera donc intéressant, lors de prochaines expériences, de comparer, entre chacune de ces différentes souches de souris, les niveaux d'induction de l'activité de la PKC endogène ainsi que le degré des changements de l'état de phosphorylation des sous-unités des récepteurs AMPA induits par le traitement calcique.

En somme, il semble raisonnable de proposer que les variations au niveau des capacités mnésiques et des propriétés plastiques des synapses, retrouvées entre diverses souches et espèces murines, sont en partie le résultat d'une régulation calcique différentielle interspèce et intersouche des récepteurs AMPA. Du moins, la variation des effets du Ca^{2+} , observée entre diverses souches de souris et rapportée dans le présent ouvrage, sur la liaison du [^3H]AMPA dans différentes régions cérébrales représente un argument important en faveur de cette hypothèse. D'autres expériences pourront permettre de mieux définir, sur une base cellulaire et moléculaire, ces variations interspèces de la régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA, et, par conséquent, les mécanismes cellulaires sous-tendant les phénomènes de mémorisation et de plasticité des synapses glutamatergiques prenant place au sein du cerveau. Éventuellement, ces expériences pourront peut-être aider à cibler, en partie du moins, les mécanismes cellulaires déficients sous-tendant les faibles capacités mnésiques, observées chez des déficients mentaux de naissance, et apparaissant au cours de diverses conditions neuropathologiques, telle la maladie d'Alzheimer.

5.3 Liens entre la plasticité synaptique et la régulation calcique des propriétés de liaison des récepteurs AMPA

Indépendamment des détails intimes des mécanismes impliqués dans la variation régionale des effets du calcium sur la liaison du [³H]AMPA sur des coupes de cerveaux de souris, les résultats de ces travaux de maîtrise ont le potentiel de fournir une meilleure compréhension des mécanismes sous-tendant les phénomènes de plasticité synaptique. Par exemple, il est possible que la hausse du nombre de récepteurs induite par le Ca²⁺ dans l'hippocampe joue un rôle dans le phénomène physiologique des synapses silencieuses qu'on associe à la PLT (voir section 2.1). En effet, l'expression de la PLT pourrait impliquer, entre autre au niveau de la région CA₁ de l'hippocampe, le recrutement de nouveaux récepteurs AMPA précédemment absents de la membrane postsynaptique ou physiologiquement «sourds» (Durand et coll., 1996; Gomperts et coll., 1998; Isaac et coll., 1995; Liao et coll., 1995; Lledo et coll., 1998; Malenka et Nicoll, 1997; Musleh et coll., 1997; Nishimune et coll., 1998; Petralia et coll., 1999). Particulièrement, c'est l'intervention des mécanismes d'endocytose et d'exocytose qui, déclenchés par l'activation ou l'inhibition de certains facteurs tels la protéine de fusion sensible au N-éthylmaleimide (NSF), l'adaptine et la clathrine, sous-tendrait ce phénomène de recrutement (Lledo et coll., 1998; Nishimune et coll., 1998; Shi et coll., 1999; en revue par Turrigiano, 2000). Or, cette hypothèse qui assume l'apparition d'un nombre significatif de nouveaux récepteurs AMPA durant la potentialisation synaptique est renforcée par les études qui ont démontré que la PLT est associée à une hausse de la liaison aux récepteurs AMPA (voir section 2.1) (Bernard et coll., 1994; Maren et coll., 1993; Musleh et coll., 1997; Tocco et coll., 1992b). Bref, cette hypothèse est compatible avec l'augmentation induite par le traitement calcique du nombre de sites de liaison du [³H]AMPA

observée lors des présents travaux dans la région CA₁ *radiatum* de l'hippocampe de coupes de cerveaux congelées de souris B6C3F1.

Par ailleurs, il est maintenant connu que les récepteurs AMPA possèdent deux types de sites de liaison, chacun ayant des caractéristiques de liaison et une distribution subcellulaire différentes (voir section 1.2.1). Or, il est possible que les changements des propriétés des récepteurs AMPA induits par le calcium (ou la PLT) soient en partie régis par une modulation de la distribution de ces sites au niveau des compartiments intracellulaires, et donc fonction de leur disponibilité au niveau de la membrane postsynaptique. Cette idée est compatible avec de récentes études indiquant : 1) que les sous-unités des récepteurs AMPA peuvent co-immunoprécipiter avec une protéine impliquée dans la formation de vésicules d'internalisation, l'adaptine-2 ou AP-2 (Ju et coll., 1999); et 2) que les récepteurs AMPA subissent un cycle rapide d'intégration/extraction à la membrane postsynaptique (Lüscher et coll., 1999). Toutefois, il reste à déterminer si les changements de la liaison du [³H]AMPA, induits par diverses manipulations expérimentales ou associées à des phénomènes tant physiologiques que pathologiques, sont le résultat d'une modification dans la distribution relative des récepteurs AMPA entre les membranes synaptiques et intracellulaires.

Par opposition à la PLT, la DLT est, quant à elle, associée à une diminution des propriétés de liaison des récepteurs AMPA (Hauge et coll., 1998), un effet concordant avec la diminution de leurs fonctions observée lors de l'expression de cette forme de plasticité synaptique (Carroll et coll., 1999; Kandler et coll., 1998; Lee et coll., 1998; Malenka et Nicoll, 1998; Vickery et Bindman, 1997). Fait intéressant, des études récentes indiquent que la modification de l'équilibre entre les mécanismes d'endocytose et d'exocytose seraient impliqués dans cette diminution de l'activité des récepteurs AMPA, mais d'une façon opposée

à ce qui est retrouvé avec la LTP (Man et coll., 2000; Nishimune et coll., 1998; Wang et Linden, 2000; en revue par Turrigiano, 2000). Indépendamment de ces résultats, des évidences expérimentales suggèrent également que les métabolites générés par la voie lipoxygénase seraient impliqués dans l'expression de la DLT. En effet, ces métabolites produisent divers effets cellulaires, telles l'hyperpolarisation membranaire ou l'inhibition de la protéine kinase II Ca^{2+} /calmoduline dépendante (CaMKII), des effets retrouvés lors d'une dépression de la fonction synaptique. Or, les travaux présentés dans ce mémoire ont permis de démontrer que la régulation calcique à la baisse de la liaison du [^3H]AMPA observée dans le cortex et le striatum de cerveaux de souris est affectée par un inhibiteur de la lipoxygénase. Par conséquent, ces résultats suggèrent la possibilité que la DLT exprimée dans ces régions (Linden et Connor, 1995; Lovinger et Tyler, 1996; Tsumoto, 1992; Zhuo et Hawkins, 1995) pourrait en partie être régie par une régulation à la baisse des fonctions des récepteurs AMPA par les métabolites dérivés de la voie lipoxygénase de l'acide arachidonique (AA).

À ce jour, les mécanismes par lesquels les métabolites de l'AA viendraient réduire les propriétés de liaison des récepteurs AMPA ne sont pas encore connus. Néanmoins, plusieurs études indiquent que les récepteurs AMPA peuvent être régulés par un processus complexe de réactions de phosphorylation/déphosphorylation (Malenka, 1994b; Tokuda et Hatase, 1998; Wang et Kelly, 1996). D'autres ont démontré que, dans les neurones, les métabolites de l'AA générés par la voie lipoxygénase contrôlent l'activité des protéines kinases, dont la CaMKII, qui elles-mêmes exercent un contrôle bidirectionnel sur l'activité de la PLA_2 (Piomelli et coll., 1989; Piomelli et Greengard, 1990). Il reste donc à déterminer si la régulation à la baisse des propriétés de liaison des récepteurs AMPA associés au traitement calcique dans le cortex et le striatum sont l'effet des métabolites de la voie lipoxygénase sur les différentes protéines kinases neuronales.

5.4 Influence possible du calcium extracellulaire sur les propriétés de liaison des récepteurs AMPA

Mis à part l'activation de processus cellulaires par augmentation de la $[Ca^{2+}]_i$ dans le neurone comme mécanisme responsable, du moins en partie, de la modulation des propriétés de liaisons des récepteurs AMPA, on ne peut exclure l'influence possible d'une variation de la concentration extracellulaire de Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_e$) sur les propriétés de liaison de ces récepteurs. En effet, il est possible d'induire, dans les synapses hippocampales en condition *ex vivo*, une PLT de la transmission synaptique seulement par une augmentation légère de la $[Ca^{2+}]_e$ (de 2 mM à 4 mM) (Cheng et coll., 1994; McGuinness et coll., 1991; Melchers et coll., 1987; Popov et coll., 1988; Reymann et coll., 1986). Fait intéressant, cette PLT induite par le Ca^{2+} (Ca-PLT) implique le recrutement de mécanismes cellulaires similaires à ceux impliqués dans la PLT induite par une stimulation électrique (ST-PLT). En effet, son induction peut être bloquée par l'inhibition de la protéine kinase C (Cheng et coll., 1994) et nécessite l'intervention de la calmoduline (Popov et coll., 1988), une protéine nécessaire à l'activation de la protéine kinase calcium-calmoduline dépendante (CaMKII). Dans un même ordre d'idée, une DLT de la fonction synaptique dans le cortex, induite par une élévation de la $[Ca^{2+}]_e$ (passant de 2 mM à 4 mM), a aussi été rapportée (Artola et coll., 1996). Toutefois, au contraire d'une ST-PLT et d'une ST-DLT des synapses glutamatergiques, la Ca-PLT et la Ca-DLT semblent pouvoir se développer et s'exprimer sans l'intervention des récepteurs glutamatergiques (Grover et Tyler, 1990b; Reymann et coll., 1986).

Or, de récentes études ont mis en évidence la présence de récepteurs-détecteurs de Ca^{2+} extracellulaire (CaR) dans plusieurs structures cérébrales, dont l'hippocampe (Chattopadhyay et coll., 1997; Hebert et Brown, 1995; Ruat et coll., 1995). Il semble qu'il existe plusieurs

types de ce genre de récepteurs, dont certains appartiendraient à la famille des RGLUm, et certaines études suggèrent qu'ils pourraient être impliqués dans la modulation de la fonction synaptique (Ruat et coll., 1995; Vassilev et coll., 1997; Ye et coll., 1996, 1997). De plus, les CaR sont liés à l'activation de la PLC (Brown et coll., 1995), une enzyme qui, d'une part, est impliquée dans l'expression de la PLT par l'intermédiaire des RGLUm (Aronica et coll., 1991; Hölsher et coll., 1999; Riedel et Reymann, 1996), et, d'autre part, est liée à une régulation à la hausse de la liaison du [³H]AMPA sur des préparations membranaires de rats (Bernard et coll., 1995; Chabot et coll., 1998; Massicotte et coll., 1990a). Par conséquent, on peut supposer que, pour certaines régions cérébrales, ces CaR pourraient être en partie impliqués dans la régulation calcique des propriétés de liaison des récepteurs AMPA dont fait état le présent mémoire. L'évaluation des effets d'inhibiteurs de PLC et d'antagonistes des CaR sur la régulation calcique de la liaison de [³H]AMPA sur des coupes de cerveaux congelés de souris pourrait permettre, du moins dans le cadre des limites imposées par cette méthodologie (voir section 3.1.3), de vérifier cette hypothèse.

5.5 Les propriétés de liaison des récepteurs NMDA peuvent également être régulées par le calcium

Les résultats des travaux présentés dans ce mémoire indiquent que la liaison du [³H]glutamate et du [³H]CPP aux récepteurs NMDA n'est pas modifiée par le traitement calcique. Néanmoins, on ne peut conclure que ces récepteurs ne sont pas régulés par l'action du calcium. En effet, des études électrophysiologiques ont démontré que l'augmentation de la $[Ca^{2+}]_i$ observée dans le neurone suite à l'activation des récepteurs NMDA, entraîne, par des

modifications biochimiques, une diminution de leur temps d'ouverture moyen (Legendre et coll., 1993; Mayer et Westbrook, 1985; Medina et coll., 1994; Zilberter et coll., 1991). Selon de récentes études, cette inactivation dépendante du Ca^{2+} de l'activité des récepteurs NMDA est associée à la liaison de Ca^{2+} -calmoduline sur une région du domaine C-terminal de NR1 située près de la membrane plasmique (Ehlers et coll., 1996; Zhang et coll., 1998). Il est intéressant de noter que le site de liaison de l' α -actinine-2, une protéine s'associant à l'actine du cytosquelette, a été localisé près de cet endroit (Wyszynski et coll., 1997; voir section 1.3). Ainsi, il est possible que la liaison du complexe Ca^{2+} -calmoduline à NR1 déloge l' α -actinine-2 de cette sous-unité, libérant par le fait même les récepteurs NMDA du cytosquelette. Un tel mécanisme, pouvant être favorisé par une dépolymérisation de l'actine induite par le Ca^{2+} (Rosenmund et Westbrook, 1993a, 1993b), pourrait entraîner une diminution de l'efficacité synaptique en empêchant les récepteurs NMDA de demeurer confinés et regroupés au sein de la densité post synaptique. Enfin, le complexe Ca^{2+} -calmoduline est aussi nécessaire à l'activation de la CaMKII. Par conséquent, il est fort possible qu'un complexe Ca^{2+} /calmoduline/CaMKII puissent venir se lier à NR1 et, par l'action de CaMKII, modifier l'état de phosphorylation de cette sous-unité. Un tel mécanisme pourrait également jouer un rôle important dans l'inactivation dépendante du Ca^{2+} des récepteurs NMDA.

Par ailleurs, il a été récemment démontré que l'activation *in situ* de la calpaïne par le calcium sur des coupes de cerveaux congelés de rat induit une coupure de NR2 au niveau de son domaine C-terminal (Bi et coll., 1998). Dans cette étude, le traitement calcique, tel qu'observé avec la souris (voir Fig. 8A), n'a pas induit de modification de la liaison du [^3H]glutamate aux récepteurs NMDA. Toutefois, la coupure de NR2 par la calpaïne induite par le même traitement calcique a été associée à une diminution significative (~40% plus faible

par rapport au contrôle) de la liaison du [³H]TCP (1-[1-(2-thiethyl)-cyclohexyl]3,4-piperidine), un antagoniste spécifique des récepteurs NMDA se liant à l'intérieur du canal ionique. Ainsi, bien que le Ca²⁺ n'affecte pas la liaison du [³H]glutamate ou du [³H]CPP aux récepteurs NMDA, ces récepteurs subissent une régulation calcique de leurs propriétés qui est médiée par l'action de la calpaine et de la calmoduline. Bref, l'évaluation des effets du calcium en présence ou non d'inhibiteurs de la calpaine et de la CaMKII sur la liaison du [³H]TCP dans différentes régions cérébrales du cerveau de souris pourrait permettre de mieux caractériser cette régulation calcique des récepteurs NMDA.

6 CONCLUSION

En perspective, le patron régional des effets du Ca^{2+} sur la liaison du [^3H]AMPA dans le cerveau de souris suggère que les récepteurs AMPA peuvent être régulés par une multitude de facteurs indépendants d'une région cérébrale à l'autre. L'éventuelle construction d'une charte régionale des processus de régulation des propriétés de liaison des récepteurs AMPA, par l'utilisation du modèle expérimental pharmaco-biochimique utilisé lors de ces travaux de maîtrise, devrait aider considérablement à élucider les mécanismes cellulaires sous-tendant les phénomènes de plasticité synaptique observés dans chacune des structures cérébrales. Cependant, afin de déterminer à quel niveau chacun de ces processus cellulaires participent à l'induction, le développement, l'expression et le maintien à long terme des changements de l'activité synaptique, il faudra obligatoirement effectuer un parallèle avec des études qui seront effectuées en électrophysiologie, sur des coupes de tissu cérébral maintenu en vie artificiellement. De plus, il sera intéressant de vérifier si la structure moléculaire des récepteurs AMPA est changée et, advenant le cas, de déterminer quelles sous-unités sont en cause, quelles modifications elles ont subies et quels sont les mécanismes impliqués. Par ailleurs, le modèle expérimental susmentionné s'avérera certainement utile pour cibler les déficiences biochimiques présentes chez différents modèles murins caractérisés par une neurodégénérescence associée à une perte de capacités mnésiques, telle la maladie d'Alzheimer. Finalement, ce modèle pourra également permettre de mieux comprendre, sur la base de la régulation calcique des propriétés de liaison des récepteurs AMPA, pourquoi les propriétés plastiques des synapses ainsi que les capacités d'apprentissage et de résistance aux dommages cérébraux varient entre différentes souches de souris telles les C57BL/6, DBA/2, C3H, BALB/c, FVB/N et 123/SvEMS.

RÉFÉRENCES

Abréviations utilisées

Acad. Sci. Paris, Sci. v./L. Sci. : Académie des sciences de Paris, Science de la vie / Life Sciences
Acta Anat. : Acta Anatomica
Acta Physiol. Scand. : Acta Physiologica Scandinavica
Am. J. Psychiatry : American Journal of Psychiatry
Anat. Rec. : Anatomical Record
Ann. NYAS : Annals of the New York Academy of Sciences
Ann. Rev. Neurosci. : Annual Review of Neuroscience
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. : Annual Review of Pharmacology and Toxicology
Ann. Rev. Physiol. : Annual Review of Physiology
Ann. Rev. Psychol. : Annual Review of Psychology
Behav. Brain Res. : Behavioral Brain Research
Behav. Brain Sci. : Behavioral and Brain Sciences
Behav. Gen. : Behavior Genetics
Behav. Neural Biol. : Behavioral and Neural Biology
Biochem. Biophys. Res. Commun. : Biochemical and Biophysical Research Communications
Biochem. J. : Biochemical Journal
Biol. Reprod. : Biology of Reproduction
Biophysical J. : Biophysical Journal
Brain Res. : Brain Research
Brain Res. Bull. : Brain Research Bulletin
Brain Res. Rev. : Brain Research Reviews
Brazilian J. Med. Biol. Res. : Brazilian Journal of Medical and Biological Research
Brit. J. Pharmacol. : British Journal of Pharmacology
Bull. Tokyo Dent. Coll. : Bulletin of Tokyo Dental College
Clin. Chim. Acta : Clinica Chimica Acta
Conc. Neurosci. : Concepts in Neurosciences
CRC Crit. Rev. Neurobiol. : CRC Critical Reviews in Neurobiology
Curr. Opin. Cell Biol. : Current Opinion in Cell Biology
Curr. Opin. Neurobiol. : Current Opinion in Neurobiology
Dev. Brain Res. : Developmental Brain Research
Epilepsy Res. : Epilepsy Research
Eur. J. Endocrinol. : European Journal of Endocrinology
Eur. J. Neurosci. : European Journal of Neuroscience
Eur. J. Pharmacol.- Mol. Pharmacol. Sec. : European Journal of Pharmacology – Molecular Pharmacology
section
Exp. Brain Res. : Experimental Brain Research
FEBS Lett. : FEBS Letter
Fundam. Clin. Pharmacol. : Fundamental and Clinical Pharmacology
Gamete Res. : Gamete Research
Histochem. Cell Biol. : Histochemistry and Cell Biology
Histochem. J. : Histochemical Journal
Intl. Rev. Neurobiol. : International Review of Neurobiology
J. Biol. Chem. : The Journal of Biological Chemistry
J. CBF & M : Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism
J. Clin. Neurophysiol. : Journal of Clinical Neurophysiology
J. Comp. Neurol. : Journal of Comparative Neurology

J. Histochem. Cytochem. : *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*
J. Mol. Biol. : *Journal of Molecular Biology*
J. Neurochem. : *Journal of Neurochemistry*
J. Neurocytol. : *Journal of Neurocytology*
J. Neurophysiol. : *Journal of Neurophysiology*
J. Neurosci. : *Journal of Neuroscience*
J. Physiol. (Lond.) : *Journal of Physiology (London)*
J. Physiol. (Paris) : *Journal of Physiology (Paris)*
Learn. Mem. : *Learning & Memory*
Life Sci. : *Life Sciences*
Mammal. Gen. : *Mammalian Genome*
Mol. Neurobiol. : *Molecular Neurobiology*
Mol. Pharmacol. : *Molecular Pharmacology*
Mount Sinai J. Med. : *Mount Sinai Journal of Medicine*
Nature Neurosci. : *Nature Neuroscience*
Neurobiol. Learn. Mem. : *Neurobiology of Learning and Memory*
Neurochem. Int. : *Neurochemistry International*
Neuropharmacol. : *Neuropharmacology*
Neurosci. : *Neuroscience*
Neurosci. Biobehav. Rev. : *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*
Neurosci. Lett. : *Neuroscience Letters*
Neurosci. Res. : *Neuroscience Research*
Otolaryngol. Head Neck Surg. : *Otolaryngology – Head and Neck Surgery*
Pflügers Arch. Ges. Physiol. : *Pflügers archiv für die Gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere*
Pharmacol. Rev. : *Pharmacological Reviews*
Pharmacol. Ther. : *Pharmacology and Therapeutics*
Physiol. Rev. : *Physiological Reviews*
PNAS : *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*
Proc. Roy. Soc. B. : *Proceedings of the Royal Society for Experimental Biology and Medicine*
Proc. Roy. Soc. Lond. : *Proceedings of the Royal Society of London*
Prog. Neurobiol. : *Progress in Neurobiology*
Rev. Neurosci. : *Reviews in the Neurosciences*
Soc. Neurosci. Abstr. : *Society for Neuroscience Abstract*
Somatosens. Res. : *Somatosensory Research*
Symp. Soc. Exp. Biol. : *Symposia of the Society for Experimental Biology*
Trends Neurosci. : *Trends in Neurosciences*
Trends Pharmacol. : *Trends in Pharmacology*
Trends Pharmacol. Sci. : *Trends in Pharmacological Sciences*

Abraham W.C., et Tate W.P. (1997) Metaplasticity: a new vista across the field of synaptic plasticity. *Prog. Neurobiol.*, 52:303-323.

Alomone Labs (1999) Site internet www.alomone.com.
(<http://www.alomone.com/WhatsNewFiles/PDZdomainscontainingproteins.html>)

Aronica E., Frey U., Wagner M., Schroeder H., Krug M., Ruthrich H., Catania M.V., Nicoletti F. et Reymann, K.G. (1991) Enhanced sensitivity of "metabotropic" glutamate receptors after induction of long-term potentiation in rat hippocampus. *J. Neurochem.*, 57(2):376-383.

Artola A., Hensch T. et Singer, W. (1996) Calcium-induced long-term depression in the visual cortex of the rat in vitro. *J. Neurophysiol.*, 76(2):984-994.

Aztély F. et Gustafsson B. (1996) Ionotropic glutamate receptors: their possible role in the expression of hippocampal synaptic plasticity. *Mol. Neurobiol.*, 12(1):1-11.

Bacq Z.M. (1980) La réception adrénérgique, dans *La transmission neuromusculaire. Les médiateurs et le milieu intérieur*. Fondation Singer-Polignac, Masson, Paris, pp. : 169-193.

Bahn S., Volk B. et Wisden W. (1994) Kainate receptor gene expression in the developing rat brain. *J. Neurosci.*, 14:5525-5547.

Bahn S. et Wisden W. (1996) A map of non-NMDA receptor subunit expression in the vertebrate brain derived from in situ hybridization histochemistry, dans Monaghan D.T. et Wenthold R.J. *The Ionotropic Glutamate Receptors*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. : 149-187.

Barnes C.A. (1988) Spatial learning and memory processes: the search for their neurobiological mechanisms in the rat. *Trends Neurosci.*, 11:163-169.

Barone F.C., Knudsen D.J., Nelson A.H., Feuerstein G.Z. et Willette R.N. (1993) Mouse strain differences in susceptibility to cerebral ischemia are related to cerebral vascular anatomy. *J. CBF & M*, 13(4):683-692.

Barria A., Derkach V. et Soderling T. (1997) Identification of the Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II regulatory phosphorylation site in the α -amino-3-hydroxyl-5-méthyl-4-isoxazole-propionate-type glutamate receptor. *J. Biol. Chem.*, 272(52):32727-32730.

Baudry M. et Lynch G. (1993) Long-term potentiation: biochemical mechanisms. Dans Baudry M., Thompson R.F. et Davis J.L. *Synaptic Plasticity: Molecular and Functional Aspects*. MIT Press, Cambridge, pp. : 87-116.

Baudry M. et Massicotte G. (1992) Physiological and pharmacological relationships between long-term potentiation and mammalian memory. *Conc. Neurosci.*, 3(1):79-98.

Baudry M., Massicotte G. et Hauge S. (1991) Opposite effects of PLA₂ on 3H-AMPA binding in adult and neonatal membranes. *Dev. Brain Res.*, 61:265-267.

Baudry M., Thompson R.F. et Davis J.L. (1993) *Synaptic plasticity: molecular, cellular and functional aspects*. MIT Press, Cambridge.

Bear M.F. et Abraham W.C. (1996) Long-term depression in hippocampus. *Ann. Rev. Neurosci.*, 19:437-462.

Bennett J.A. et Dingledine R. (1995) Topology profile for a glutamate receptor: three transmembrane domains and a channel-lining reentrant membrane loop. *Neuron*, 14:373-384.

Bernard J., Chabot C., Gagné J., Baudry M. et Massicotte G. (1995) Melittin increases AMPA receptor affinity in rat brain synaptoneurosomes. *Brain Res.*, 671:195-200.

- Bernard J., Lahsaini A. et Massicotte G. (1994) Potassium-induced long-term potentiation in area CA1 of the hippocampus involves phospholipase activation. *Hippocampus*, 4:1447-1453.
- Bettler B., Boulter J., Hermans-Borgmeyer I., O'Shea-Greenfield A., Deneris E.S., Moll C., Borgmeyer U., Hollmann M. et Heinemann S. (1990) Cloning of a novel glutamate receptor subunit, GluR5: expression in the nervous system during development. *Neuron*, 5:583-595.
- Bettler B., Egebjerg J., Sharma G., Pecht G., Hermans-Borgmeyer I., Moll C., Stevens C.F. et Heinemann S. (1992) Cloning of a putative glutamate receptor: a low affinity kainate-binding subunit. *Neuron*, 8:257-265.
- Bi X., Chang V., Molnar E., McIlhinney R.A.J. et Baudry M. (1996) The C-terminal domain of GluR1 subunit is a target for calpain-mediated proteolysis. *Neurosci.*, 73:903-906.
- Bi X., Chen J., Dang S., Wenthold R.J., Tocco G. et Baudry M. (1997) Characterization of calpain-mediated proteolysis of GluR1 subunits of α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate receptors in rat brain. *J. Neurochem.*, 68:1484-1494.
- Bi X., Rong Y., Chen J., Dang S., Wang Z., Baudry M. (1998a) Calpain-mediated regulation of NMDA receptor structure and function. *Brain Res.*, 790:245-253.
- Bi X., Standley S. et Baudry M. (1998b) Posttranslational regulation of ionotropic glutamate receptors and synaptic plasticity. *Intl. Rev. Neurobiol.*, 42:227-284.
- Bi X., Tocco G. et Baudry M. (1994) Calpain-mediated regulation of AMPA receptors in adult rat brain. *Neuroreport*, 6:61-64.
- Bliss T.V.P. et Collingridge G.L. (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361:31-39.
- Bliss T.V.P. et Gardner-Medwin A.R. (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol. (Lond.)*, 232:357-374.
- Bliss T.V.P. et Lømo W.T. (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol. (Lond.)*, 232:331-356.
- Bochet P., Audinat E., Lambolez B., Crépel F., Rossier J., Iino M., Tsuzuki K. et Ozawa S. (1994) Subunit composition at the single-cell level explains functional properties of a glutamate-gated channel. *Neuron*, 12:383-388.
- Bockaert J., Pin J. et Fagni L. (1993) Metabotropic glutamate receptors: an original family of G protein-coupled receptors. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 7:473-485.
- Boulter J., Hollmann M., O'Shea-Greenfield A., Hartley M., Deneris E., Maron C. et Heinemann S. (1990) Molecular cloning and functional expression of glutamate receptor subunit genes. *Science*, 249(4972):1033-1037.
- Bowe M.A. et Nadler J.V. (1990) Developmental increase in the sensitivity to magnesium of NMDA receptors on CA1 hippocampal pyramidal cells. *Dev. Brain Res.*, 56(1):55-61.
- Bowie D., Bähring R. et Mayer M.L. (1999) Block of kainate and AMPA receptors by polyamines and insect toxins, dans Jonas P. et Monyer H. *Handbook of Experimental Pharmacology: Ionotropic Glutamate Receptors in the CNS*. Springer-Verlag, Berlin.
- Brown E.M., Pollak M. et Hebert S.C. (1995) Molecular mechanisms underlying the sensing of extracellular Ca^{2+} by parathyroid and kidney cells. *Eur. J. Endocrinol.*, 132(5):523-531.

- Burnashev N., Monyer H., Seeburg P.H., et Sakmann B. (1992a) Divalent ion permeability of AMPA receptor channels is dominated by the edited form of a single subunit. *Neuron*, 8:189-198.
- Burnashev N., Schoepfer R., Monyer H., Ruppberg J.P., Günther W., Seeburg P.H. et Sakmann B. (1992b) Control by asparagine residues of calcium permeability and magnesium blockade in the NMDA receptor. *Science (Wash. DC)*, 257:1415-1419.
- Cabral J.H., Petosa C., Sutcliffe M.J., Raza S., Byron O., Poy F., Marfatia S.M., Chishti A.H., Liddington R.C. (1996) Crystal structure of a PDZ domain. *Nature*, 382:649-652.
- Capogna M. (1998) Presynaptic facilitation of synaptic transmission in the hippocampus. *Pharmacol. Ther.*, 77(3):203-223.
- Carroll R.C., Lissin D.V., von Zastrow M., Nicoll R.A. (1999) Rapid redistribution of glutamate receptors contributes to long-term depression in hippocampal cultures. *Nature Neurosci.*, 2(5):454-460.
- Carrier G.O. (1986) Evolution of the dual adrenergic receptor concept : Key to past misteries and modern therapy, dans Parnham M.C. et Bruinvels J., *Discoveries in Pharmacology*, III. Elsevier, , Amsterdam - New York - Oxford, pp. : 203-224.
- Catania M.V., Hollingsworth Z., Penney J.B. et Young A.B. (1993) Phospholipase A₂ modulates different subtypes of excitatory amino acid receptors: autoradiographic evidence. *J. Neurochem.*, 60:236-245.
- Chabot C., Bernard J., Normandin M., Ohayon M., Baudry M. et Massicotte G. (1996) Developmental changes in depolarization-mediated AMPA receptor modifications and potassium-induced long-term potentiation. *Dev. Brain Res.*, 93:70-75.
- Chabot C., Gagné J., Giguère C., Bernard J., Baudry M. et Massicotte G. (1998) Bidirectional modulation of AMPA receptor properties by exogenous phospholipase A₂ in the hippocampus. *Hippocampus*, 8:299-309.
- Chabot C., Massicotte G., Milot M., Trudeau F., Gagné J. (1997) Impaired modulation of AMPA receptors by calcium-dependent processes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Brain Res.*, 768:249-256.
- Changeux J.-P. (1980) Les expériences de Claude Bernard sur le curare et les données actuelles sur la transmission cholinergique., dans *La transmission neuromusculaire. Les médiateurs et le milieu intérieur*. Fondation Singer-Polignac, Masson, Paris, pp. : 71-87.
- Changeux J.-P., Kasai M. et Lee C.Y. (1970) The use of snake venom toxin to characterize the cholinergic receptor protein. *PNAS*, 67:1241-1247.
- Chattopadhyay N., Legradi G., Bai M., Kifor O., Ye C., Vassilev P.M., Brown E.M. et Lechan R.M. (1997) Calcium-sensing receptor in the rat hippocampus : a developmental study. *Dev. Brain Res.*, 100(1):13-21.
- Chen C. et Tonegawa S. (1997) Molecular genetic analysis of synaptic plasticity, activity-dependent neural development, learning, and memory in the mammalian brain. *Ann. Rev. Neurosci.*, 20:157-184.
- Cheng G., Rong X.W. et Feng T.P. (1994) Block of induction and maintenance of calcium-induced LTP by inhibition of protein kinase C in postsynaptic neuron in hippocampal CA1 region. *Brain Res.*, 646(2):230-234.
- Cho K.O., Hunt C.A. et Kennedy M.B. (1992) The rat brain postsynaptic density fraction contains a homolog of the Drosophila discs-large tumor suppressor protein. *Neuron*, 9:929-942.
- Choi D.W. (1988) Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*, 1:623-634.
- Choi D.W. (1998) Antagonizing excitotoxicity: A therapeutic strategy for stroke? *Mount Sinai J. Med.*, 65 : 133-138.

- Choi D.W. et Rothman S.M. (1990) The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic-ischemic neuronal death. *Ann. Rev. Neurosci.*, 13:171-182.
- Ciabarra A.M., Sullivan J.M., Gahn L.G., Pecht G., Heinemann S. et Sevarino K.A. (1995) Cloning and characterization of chi-1: A developmentally regulated member of a novel class of the ionotropic glutamate receptor family. *J. Neurosci.*, 15(10):6498-6508.
- Cohen A.S. et Abraham W.C. (1996) Facilitation of long-term potentiation by prior activation of metabotropic glutamate receptor. *J. Neurophysiol.*, 76(2):953-962.
- Collingridge G.L. et Lester R.A. (1989) Excitatory amino acid receptors in the vertebrate central nervous system. *Pharmacol. Rev.*, 41(2):143-210.
- Conn P.J. et Pin J.-P. (1997) Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 37:205-237.
- Constantine-Paton M., Cline H.T. et Debski E. (1990) Patterned activity, synaptic convergence, and the NMDA receptor in developing visual pathways. *Ann. Rev. Neurosci.*, 13:129-154.
- Cooper M.H. (1981) Neurons of the hypoglossal nucleus of the rat. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 89(1):10-15.
- Craig A.M., Blackstone C.D., Haganir R.L. et Banket G. (1993) The distribution of glutamate receptors in cultured rat hippocampal neurons: postsynaptic clustering of AMPA-selective subunits. *Neuron*, 10:1055-1068.
- Crusio W.E., Schwegler H., et Lipp H.-P. (1987) Radial-maze performance and structural variation of the hippocampus in mice: a correlation with mossy fibre distribution. *Brain Res.*, 125:182-185.
- Curtis D.R., Phillis J.W. et Watkins J.-C. (1961) Cholinergic and non-cholinergic transmission in the spinal chord. *J. Physiol.*, 158:296-323.
- Curtis D.R., Phillis J.W. et Watkins J.-C. (1959) Chemical excitation of spinal neurons. *Nature*, 183:611-612.
- Curtis D.R. et Watkins J.C. (1961) The chemical excitation of spinal neurons by certain amino acids. *J. Physiol.*, 166:1-14.
- Curtis D.R. et Watkins J.C. (1960) Acidic amino acids with strong excitatory actions on mammalian neurones. *J. Physiol. (Lond.)*, 166:1-14.
- Cziko G (1995) *Without Miracles - Universal Selection Theory and the Second Darwinian Revolution*. Bradford Book, MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
- Daniel H., Hemart N., Jaillard D. et Crépel F. (1992) Coactivation of metabotropic glutamate receptors and of voltage-gated calcium channels induces long-term depression in cerebellar Purkinje cells in vitro. *Exp. Brain Res.*, 90:327-331.
- Das S., Sasaki Y.F., Rothe T., Premkumar L.S., Takasu M., Crandall J.E., Dikkes P., Conner D.A., Rayudu P.V., Cheung W., Vincent Chen H.-S., Lipton S.A. et Nakanishi N. (1998) Increased NMDA current and spine density in mice lacking the NMDA receptor subunit NR3A. *Nature (London)*, 393(6683):377-381.
- Davies S.N., Lester R.A., Reymann K.G. et Collingridge G.L. (1989) Temporally distinct pre- and post-synaptic mechanisms maintain long-term potentiation. *Nature*, 338:500-503.
- Davis M., Rainnie D. et Cassel M. (1994) Neurotransmission in rat amygdala related to fear and anxiety. *Trends Neurosci.*, 17:208-214.

- Davis S. et Laroche S. (1998) A molecular biological approach to synaptic plasticity and learning. *Acad. Sci. Paris, Sci. v/L. Sci.*, 321:97-107.
- Desmond N.L. et Weinberg R.J. (1998) Enhanced expression of AMPA receptor protein at perforated axospinous synapses. *NeuroReport*, 9:857-860.
- Dev K.K. et Henley J.M. (1998) The regulation of AMPA receptor-binding sites. *Mol. Neurobiol.*, 17:33-58.
- Dev K.K., Honoré T. et Henley J.M. (1995) Phospholipase A₂ down-regulates the affinity of [³H]AMPA binding to rat cortical membranes. *J. Neurochem.*, 65:184-191.
- Dev K.K., Honoré T. et Henley J.M. (1998) Different effects of phospholipase A₂ on agonist binding to hippocampal, cortical and recombinant homomeric α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptors. *Neurosci. Lett.*, 246 :25-28.
- Dev K.K., Petersen V., Honoré T. et Henley J.M. (1996) Pharmacology and regional distribution of the binding of 6-[³H]nitro-7sulphamoylbezo(F)quinoxaline-2-3-dione to rat brain. *J. Neurochem.*, 67:2609-2612.
- Dickenson A.H. (1990) A cure for wind up: NMDA receptor antagonists as potential analgesics. *Trends Pharmacol. Sci.*, 11:307-309.
- Dingledine R., Boland L.M., Chamberlin N.L., Kawasaki K., Kleckner, N.W., Traynelis S.F. et Verdoorn T.A. (1988) Amino acid receptors and uptake systems in the mammalian central nervous system. *CRC Crit. Rev. Neurobiol.*, 4:1-96.
- Dingledine R., Borges K., Bowie D. et Traynelis S.F. (1999) The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol. Rev.*, 51(1):7-61.
- Dingledine R., McBain C.J. et McNamara J.O. (1990) Excitatory amino acid receptors in epilepsy. *Trends Pharmacol.*, 11:334-338.
- Doble A. (1995) Excitatory amino acid receptors and neurodegeneration. *Thérapie*, 50:319-337.
- Dong H., O'Brien R.J., Fung E.T., Lanahan A.A., Worley P.F. et Huganir (1997) GRIP: A synaptic PDZ domain-containing protein that interacts with AMPA receptors. *Nature*, 386:279-284.
- Doyle D.A., Lee A., Lewis J., Kim E., Sheng M. et MacKinnon R. (1996) Crystal structure of a complexed and peptide-free membrane protein-binding domain: Molecular basis of peptide recognition by PDZ. *Cell*, 85:1067-1076.
- Dunwiddie T. et Lynch G. (1978) Long-term potentiation and depression of synaptic responses in the rat hippocampus: localization and frequency dependency. *J. Physiol.*, 276:353-367.
- Dupont, J.-C. (1999) *Histoire de la neurotransmission*. Presses Universitaires de France (Science, Histoire et Société), Paris, 305 pages.
- Durand G.M., Kovalchuk Y. et Konnerth A. (1996) Long-term potentiation and functional synapse induction in developing hippocampus. *Nature*, 381:71-75.
- Eccles J.C. (1982) The synapse from electrical to chemical transmission. *Ann. Rev. Physiol.*, 5:325-539.
- Ehlers M.D., Zhang S., Bernhardt J.P. et Huganir R.L. (1996) Inactivation of NMDA receptors by direct interaction of calmodulin with the NR1 subunit. *Cell*, 84:745-755.
- Ehrlich P. (1900). On immunity: With special reference to cell life. *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 66(432):424-448.

- Elliott T.R. (1904) On the action of adrenalin. *J. Physiol. (Lond.)*, 31:20P.
- Falls W.M., Rice R.E. et VanWagner J.P. (1985) The dorsomedial portion of trigeminal nucleus oralis (Vo) in the rat: cytology and projections to the cerebellum. *Somatosens. Res.*, 3(2):89-118.
- Fana F. (1997a) Site internet [www.sdsc.edu](http://www.sdsc.edu/Kinases/pkr/3D/xray/sh3/sh3domain.html).
(<http://www.sdsc.edu/Kinases/pkr/3D/xray/sh3/sh3domain.html>)
- Fana F. (1997b) Site internet www.sdsc.edu.
(<http://www.sdsc.edu/Kinases/pkr/3D/xray/sh3/src.html>)
- Feldberg W. et Gaddum J.H. (1934) The chemical transmitter at synapses in a sympathetic ganglion. *J. Physiol.*, 81:305-319.
- Ferraro T.N., Golden G.T., Smith G.G. et Berrettini W.H. (1995) Differential susceptibility to seizures induced by systemic kainic acid treatment in mature DBA/2J and C57BL/6J mice. *Epilepsia*, 36(3):301-307.
- Ferraro T.N., Golden G.T., Smith G.G., Schork N.J., St.-Jean P., Ballas C., Choi H. et Berrettini W.H. (1997) Mapping murine loci for seizure response to kainic acid. *Mammal. Gen.*, 8(3):200-208.
- Fisher R.S. (1989) Animal models of the epilepsies. *Brain Res. Rev.*, 13(3):245-278.
- Foster A.C., Mena E.E., Monaghan D.T., et Cotman C.W. (1981) Synaptic localization of kainic acid binding sites. *Nature (Lond.)*, 289:73-75.
- Foster T.C., Gagné J. et Massicotte G. (1996) Mechanism of altered synaptic strength due to experience: relation to long-term potentiation. *Brain Res.*, 736:243-250.
- Frégnac Y. (1994) Les mille et une vies de la synapse de Hebb. *La Recherche*, 25:788-790.
- Fujii M., Hara H., Meng W., Vonsattel J.P., Huang Z. et Moskowitz M.A. (1997) Strain-related differences in susceptibility to transient forebrain ischemia in SV-129 and C57black/6 mice. *Stroke*, 28(9):1805-1810; discussion, p. 1811.
- Fykse E.M. et Fonnum F. (1991) Transport of gamma-aminobutyrate and L-glutamate into synaptic vesicles. Effect of different inhibitors on the vesicular uptake of neurotransmitters and on the Mg²⁺-ATPase. *Biochem J.*, 276(Pt 2):363-367.
- Gagné J., Gélinas S., Martinoli M.-G., Foster T.C., Ohayon M., Thompson R.F., Baudry M., Massicotte G. (1998) AMPA receptor properties in adult rat hippocampus following environmental enrichment. *Brain Res.*, 799:16-25.
- Gagné J., Giguère C., Tocco G., Ohayon M., Thompson R.F., Baudry M. et Massicotte G. (1996) Effect of phosphatidylserine on the binding properties of glutamate receptors in brain sections from adult and neonatal rats. *Brain Res.*, 740(1-2):337-345.
- Gagné J., Milot M., Gélinas S., Lahsaini A., Trudeau F., Martinoli M.-G. et Massicotte G. (1997) Binding properties of glutamate receptors in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Diabetes*, 46:841-846.
- Gallo V., Upso L., Hayes W.P., Vyklicky L., Winters C.A. et Buonanno A. (1992) Molecular cloning and developmental analysis of a new glutamate receptor isoform in cerebellum. *J. Neurosci.*, 12:1010-1023.
- Gerlai R. (1998) A new continuous alternation task in T-maze detects hippocampal dysfunction in mice – A strain comparison and lesion study. *Behav. Brain Res.*, 95:91-101.
- Gomperts S.N., Rao A., Craig A.M., Malenka R.C. et Nicoll R.A. (1998) Postsynaptically silent synapses in single neuron cultures. *Neuron*, 21:1443-1451.

- Gomulicki B.R. (1953) The development and present status of the trace theory of memory. *British Journal of Psychology Monograph Supplements* (Vol. 29). Cambridge University Press, Cambridge, England.
- Grover L.M. et Teyler T. (1990a) Two components of long-term potentiation induced by different patterns of afferent activation. *Nature*, 347:477-479.
- Grover L.M. et Teyler T.J. (1990b) Differential effects of NMDA receptor antagonist APV on tetanic stimulation-induced and calcium-induced potentiation. *Neurosci. Lett.*, 113(3):309-314.
- Hansel C., Artola A. et Singer W. (1996) Different threshold levels of postsynaptic $[Ca^{2+}]_i$ have to be reached to induce LTP and LTD in neocortical pyramidal cells. *J. Physiol. (Paris)*, 90:317-319.
- Hampson D.R., Huang X.P., Oberdorfer M.D., Goh J.W., Auyeung A. et Wenthold R.J. (1992) Localization of AMPA receptors in the hippocampus and cerebellum of the rat using an anti-receptor monoclonal antibody. *Neurosci.*, 50(1):11-22.
- Hauge S.A., Tracy J.A., Baudry M. et Thompson R.F. (1998) Selective changes in AMPA receptors in rabbit cerebellum following classical conditioning of the eyelid-nictating membrane response. *Brain Res.*, 803:9-18.
- Hauser R.E. (1977) A fast and simple method for the preparation of histologic cryostat sections for ultrastructural investigation. *J. Histochem. Cytochem.*, 25:311-315.
- Hebb D.O. (1949) *The Organization of Behavior*. John Wiley & Sons, New York.
- Hebert S.C. et Brown E.M. (1995) The extracellular calcium receptor. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 7(4):484-492.
- Hemart N., Daniel H., Jaillard D. et Crépel F. (1994) Properties of glutamate receptors are modified during long-term depression in rat cerebellar Purkinje cells. *Neurosci. Res.*, 19:213-221.
- Henley J.M. (1995) Subcellular localization and molecular pharmacology of distinct populations of $[^3H]$ -AMPA binding sites in rat hippocampus. *Brit. J. Pharmacol.*, 115:295-301.
- Herb A., Burnashev N., Werner P., Sakmann B., Wisden W. et Seeburg P.H. (1992) The KA-2 subunit of excitatory amino acid receptors shows widespread expression in brain and forms ion channels with distantly related subunits. *Neuron*, 8:775-785.
- Higuchi M., Single F.N., Köhler M., Sommer B., Sprengel R. et Seeburg P.H. (1993) RNA editing of AMPA receptor subunit GluR-B: a base-paired intron-exon structure determines position and efficiency. *Cell*, 75:1361-1370.
- Hirai H., Kirsh J., Laube B., Betz H. et Kuhse J. (1996) The glycine binding site of the N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR1: identification of novel determinants of co-agonist potentiation in the extracellular M3-M4 loop region. *PNAS*, 93:6031-6036.
- Hollmann M., Maron C. et Heinemann S. (1994) N-Glycosylation site tagging suggests a three transmembrane domain topology for the glutamate receptor GluR1. *Neuron*, 13:1331-1343.
- Hollmann M., O'Shea-Greenfield A., Rogers S.W. et Heinemann S. (1989) Cloning by functional expression of a member of the glutamate receptor family. *Nature (London)*, 342:643-648.
- Hölscher C., Gigg J. et O'Mara S.M. (1999) Metabotropic glutamate receptor activation and blockade: their role in long-term potentiation, learning and neurotoxicity. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 23:399-410.
- Holt W.V., Head M.F. et North R.D. (1992) Freeze-induced membrane damage in ram spermatozoa is manifested after thawing: observations with experimental cryomicroscopy. *Biol. Reprod.*, 46(6):1086-1094.

- Honoré T. et Drejer J. (1988) Chaotropic ions affect the conformation of quisqualate receptors in rat cortical membranes. *J. Neurochem.*, 51:457-461.
- Honoré T., Drejer J. et Nielsen M. (1986) Calcium discriminates two [³H]kainate binding sites with different molecular target sizes in rat cortex. *Neurosci. Lett.*, 65:47-52.
- Honoré T. et Nielsen M. (1985) Complex structure of quisqualate-sensitive glutamate receptors in rat cortex. *Neurosci. Lett.*, 54:27-32.
- Houamed, K.M., Kuijper J.L., Gilbert T.L., Haldeman B.A., O'Hara P.J., Mulvihill E.R., Almers W. et Hagen F.S. (1991) Cloning, expression, and gene structure of a G-protein-coupled glutamate receptor from rat brain. *Science*, 252:1318-1321.
- Hume R.I., Dingledine R. et Heinemann S.F. (1991) Identification of a site in glutamate receptor subunits that controls calcium permeability. *Science (Washington DC)*, 253:1028-1031.
- Iino M., Ozawa S. et Tsuzuki K. (1990) Permeation of calcium through excitatory amino acid receptor channels in cultured rat hippocampal neurones. *J. Physiol. (Lond.)*, 424:151-165.
- Ikegaya Y., Itsukaichi-Nishida Y., Ishihara M. Tanaka D. et Matsuki N. (2000) Distance of target search of isolated rat hippocampal neuron is about 150 microm. *Neurosci.*, 97(2):215-217.
- Insel T.R., Miller L.P. et Gelhard R.E. (1990) The ontogeny of excitatory amino acid receptors in rat forebrain-I. *N-methyl-D-aspartate and quisqualate receptors*. *Neurosci.*, 35:31-43.
- Irie M., Hata Y., Takeuchi M., Ichtchenko K., Toyoda A., Hirao K., Takai Y., Rosahl T.W. et Sudhof T.C. (1997) Binding of neuroligins to PSD-95. *Science*, 277:1511-1515.
- Isaac J.T.R., Nicoll R.A. et Malenka R.C. (1995) Evidence for silent synapses: Implications for the expression of LTP. *Neuron*, 15:427-434.
- Ishiguro H. et Rubinsky B. (1994) Mechanical interactions between ice crystals and red blood cells during directional solidification. *Cryobiology*, 31:483-500.
- Ito M. (1989) Long-term depression. *Ann. Rev. Neurosci.*, 12:85-102.
- Ito M. (1994) La plasticité des synapses. *La Recherche*, 25:778-785.
- Izquierdo I. et Medina J.H. (1993) Role of the amygdala, hippocampus and entorhinal cortex in memory consolidation and expression. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 26:573-589.
- Jack J.J., Redman S.J. et Wong K. (1981) Modifications to synaptic transmission at group Ia synapses on cat spinal motoneurons by 4-aminopyridine. *J. Physiol.*, 321:111-126.
- James W. (1890) *Psychology : briefer course*. Harvard University Press, Cambridge.
- Javitt D.C. et Zukin S.R. (1991) Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, 148:1301-1308.
- Johansen T.H., Chaudhary A. et Verdoorn T.A. (1995) Interactions among GYKI-52466, cyclothiazide, and aniracetam at recombinant AMPA and kainate receptors. *Mol. Pharmacol.*, 48:946-955.
- Johnson J.W. et Ascher P. (1987) Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature (England)*, 325(6104):529-531.

- Jonas P. et Burnashev N. (1995) Molecular mechanisms controlling calcium entry through AMPA-type glutamate receptor channels. *Neuron*, 15:987-990.
- Jonas P., Racca C., Sakmann B., Seeburg P. et Monyer H. (1994) Differences in Ca^{2+} permeability of AMPA-type glutamate receptor channels in neocortical neurones caused by differential GluR-B subunit expression. *Neuron*, 12(6):1281-1289.
- Ju W., Man H., Lin J., Sheng M. et Wang Y.T. (1999) Rapid regulation of surface expression of AMPA receptors by clathrin-mediated receptor endocytosis. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 25:1238(496.10).
- Kaczmarek L., Kossut M. et Skangiel-Kramska J. (1997) Glutamate receptors in cortical plasticity: Molecular and cellular biology. *Physiol. Rev.*, 77(1):217-255.
- Kandler K., Lawrence C.K. et Kauer J.A. (1998) Focal photolysis of caged glutamate produces long-term depression of hippocampal glutamate receptors. *Nature Neurosci.*, 1(2): 119-123.
- Kauer J.A., Malenka R.C. et Nicoll R.A. (1988) A persistent postsynaptic modification mediates long-term potentiation in the hippocampus. *Neuron*, 1:911-917.
- Kaupmann K., Huggel K., Heid J., Flor P.J., Bischoff S., Mickel S.J., McMaster G., Angst C., Bittiger H., Froestl W. et Bettler B. (1997) Expression cloning of GABA_B receptors uncovers similarity to metabotropic glutamate receptors. *Nature*, 386:239-246.
- Keinänen K., Wisden W., Sommer B., Werner P., Herb A., Verdoorn T.A., Sakmann B. et Seeburg P.H. (1990) A family of AMPA-selective glutamate receptors. *Science*, 249:556-560.
- Kennedy M.B. (1997) The postsynaptic density at glutamatergic synapses. *Trends Neurosci.*, 20:264-268.
- Kharaziga V.N., Wenthold R.J. et Wienberg R.J. (1996). GluR1-immunopositive interneurons in rat neocortex. *J. Comp. Neurol.*, 368(3):399-412.
- Kharaziga V.N. et Wienberg R.J. (1996). Tangential synaptic distribution of NMDA and AMPA receptors in rat neocortex. *Neurosci. Lett.*, 238:41-44.
- Kiskin N.I., Krishtal O.A. et Tsyndrenko A.Ya. (1986) Excitatory amino acid receptors in hippocampal neurons: kainate fails to desensitize them. *Neurosci. Lett.*, 63:225-230.
- Kistner U., Wenzel B.M., Veh R.W., Cases L.C., Garner A.M., Appeltauer U., Voss B., Gundelfinger E.D. et Garner C.C. (1993) SAP90, a rat presynaptic protein related to the product of the Drosophila tumor suppressor gene *dlg-A*. *J. Biol. Chem.*, 268:4580-4583.
- Köhler M., Burnashev N., Sakmann B. et Seeburg P.H. (1993) Determinants of Ca^{2+} permeability in both TM1 and TM2 of high affinity kainate receptor channels: diversity by RNA editing. *Neuron*, 10:491-500.
- Köhler M., Kornau H.-C. et Seeburg P.H. (1994) The organization of the gene for the functionally dominant α -amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazole-4-propionic acid receptor subunit GluR-B. *J. Biol. Chem.*, 269 :17367-17370.
- Kondo M., Sumino R. et Okado H. (1997) Combinations of AMPA receptor subunit expression in individual cortical neurons correlate with expression of specific calcium-binding proteins. *J. Neurosci.*, 17:1570-1581.
- Kurschner V.C., Petrucci R.L., Golden G.T., Berrettini W.H. et Ferraro T.N. (1998) Kainate and AMPA receptor binding in seizure-prone and seizure-resistant inbred mouse strains. *Brain Res.*, 780(1):1-8.
- Lambolez B., Ropert N., Perrais D., Rossier J. et Hestrin S. (1996) Correlation between kinetics and RNA splicing of AMPA receptors in neocortical neurons. *PNAS*, 93:1797-1802.

- Langley J.N. (1906) On nerve-endings and on special excitable substances in cells. *Proc. Roy. Soc. B.*, 78:170-194.
- Legendre P., Rosenmund C. et Westbrook G.L. (1993) Inactivation of NMDA channels in cultured hippocampal neurons by intracellular calcium. *J. Neurosci.*, 13:674-684.
- Leranth C., Szeideemann Z., Hsu M. et Buzsaki G. (1996) AMPA receptors in the rat and primate hippocampus: a possible absence of GluR2/3 subunits in most interneurons. *Neuroscience*, 70:631-652.
- Laube B., Hirai H., Sturgess M., Betz H. et Kuhse J. (1997) Molecular determinants of agonist discrimination by NMDA receptor subunits: analysis of the glutamate binding site on the NR2B subunit. *Neuron*, 18:493-503.
- Lee H., Kameyama K., Huganir R.L. et Bear M.F. (1998) NMDA induces long-term synaptic depression and dephosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors in hippocampus. *Neuron*, 21:1151-1162.
- Lees G.J. (1996) Therapeutic potential of AMPA receptor ligands in neurological disorders. *CNS Drugs*, 5:51-74.
- Leranth C., Szeideemann Z., Hsu M. et Buzsaki G. (1996) AMPA receptors in the rat and primate hippocampus: a possible absence of GluR2/3 subunits in most interneurons. *Neuroscience*, 70:631-652.
- Levenes C., Daniel H. et Crépel F. (1998) Long-term depression of synaptic transmission in the cerebellum: cellular and molecular mechanisms revisited. *Prog. Neurobiol.*, 55:79-91.
- Levine R.R. (1996) *Pharmacology: Drug Actions and Reactions*. – 5th ed. The Parthenon Publishing Group, New York - London, 569 pages, pp.: 36-37.
- Liao D., Hessler N.A. et Malinow R. (1995) Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA₁ region of hippocampal slice. *Nature*, 375:400-404.
- Lin D., Binns K., Warner N., Nash P., Donaldson I., Fawcett J., Baskin B., Kubiseski T. et Pawson T. (2000) *Cell Signaling Technology Catalog, Reference section on Protein Domains*. New England Biolabs company. Tiré du site internet www.mshri.on.ca (<http://www.mshri.on.ca/pawson/research1.html>).
- Linden D.J. et Connor J.A. (1995) Long-term synaptic depression. *Ann. Rev. Neurosci.*, 18:319-357.
- Linden D.J., Sheu F.S., Murakami K. et Routtenberg A. (1987) Enhancement of long-term potentiation by cis-unsaturated fatty acid: relation to protein kinase C and phospholipase A₂. *J. Neurosci.*, 7:3783-3792.
- Lipp H.-P., Schwegler H., Heimrich B. et Driscoll P. (1988) Infrapyramidal mossy fibers and two-way avoidance learning: developmental modification of hippocampal circuitry and adult behavior of rats and mice. *J. Neurosci.*, 8(6):1905-1921.
- Lissin D.V., Carroll R.C., Nicoll R.A., Malenka R.C. et von Zastrow M. (1999) Rapid, activation-induced redistribution of ionotropic glutamate receptors in cultured hippocampal neurons. *J. Neurosci.*, 19(4):1263-1272.
- Lissin D.V., Gomperts S.N., Carroll R.C., Christine C.C., Kalman D., Kitamura M., Hardy S., Nicoll R.A., Malenka R.C. et von Zastrow M. (1998) Activity differentially regulates the surface expression of synaptic AMPA and NMDA glutamate receptors. *PNAS*, 12:7097-7102.
- Lledo P.-M., Zhang X., Südhof T.C., Malenka R.C. et Nicoll R.A. (1998) Postsynaptic membrane fusion and long-term potentiation. *Science*, 279:399-403.
- Loewi O. (1918) Über Spontanerholung des Froscheherzens bei unzureichender Kationenspeisung, II : Ein Beitrag zur Wirkung der Alkalien auf das Herz. *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, 170:677-695.

- Loewi O. (1924) Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung, V : Die Übertragbarkeit der negativ chrono- und dromotropen Vaguswirkung. *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, 204:629-640.
- Loewi O et Lieb H. (1919) Über Spontanerholung des Froscheherzens bei unzureichender Kationenspeisung, III : Quantitative mikroanalytische Untersuchungen. Über die Ursache der Calciumabgabe von seiten des Herzens. *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, 173:152-157.
- Loewi O. et Navratil E. (1924) Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung, VI : Der Angriffspunkt des Atropins. *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, 206:123-134.
- Loewi O. et Navratil E. (1926a) Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung, X : Über das Schicksal des Vagusstoffes. *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, 214:678-688.
- Loewi O. et Navratil E. (1926b) Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung, XI : Über den Mechanismus der Vaguswirkung Von Physostigmin und Ergotamin. *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, 214:689-696.
- Lomeli H., Mosbacher J., Melcher T., Höger T., Geiger J.R.P., Kuner T., Monyer H., Higuchi M., Bach A. et Seeburg P.H. (1994) Control of kinetic properties of AMPA receptor channels by nuclear RNA editing. *Science (Washington DC)*, 266:1709-1713.
- Lomeli H., Sprengel R., Laurie D.J., Kohr G., Herb A., Seeburg P.H. et Wisden W. (1993) The rat delta-1 et delta-2 subunits extend the excitatory amino acid receptor family. *FEBS Lett.*, 315:318-322.
- Lomeli H., Wisden W., Köhler M., Keinänen K., Sommer B. et Seeburg P.H. (1992) High-affinity kainate and domoate receptors in rat brain. *FEBS Lett.*, 307:139-143.
- Lovinger D.M., Akers R.F., Nelson R.B., Barnes C.A., McNaughton B.L. et Routtenberg A. (1985) A selective increase in phosphorylation of protein F1, a protein kinase C substrate, directly related to three day growth of long-term synaptic enhancement. *Brain Res.*, 343:205-211.
- Lovinger D.M. et Tyler E. (1996) Synaptic transmission and modulation in the neostriatum. *Intl. Rev. Neurobiol.*, 39:77-111.
- Lüscher C., Xia H.H., Beattie E.C., Carroll R.C., von Zastrow M., Malenka R.C., Nicoll R.A. (1999) Role of AMPA receptor cycling in synaptic transmission and plasticity. *Neuron*, 24:649-658.
- Lynch G. (1998) Memory and the brain : Unexpected chemistries and a new pharmacology. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 70:82-100.
- Lynch G.S., Dunwiddie T. et Gribkoff V. (1977) Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature*, 266:737-739.
- Lynch G, Larson J., Kelso S., Barrionuevo S. et Schottler F. (1983). Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature*, 305:719-721.
- MacDermott A.B. Mayer M.L., Westbrook G.L., Smith S.J. et Barker J.L. (1986) NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones. *Nature*, 321:519-522.
- Mackler S.A. et Eberwine J.H. (1993) Diversity of glutamate receptor subunit mRNA expression within live hippocampal CA₁ neurons. *Mol. Pharmacol.*, 44:308-315.
- Malenka R. (1994a) Multiple forms of NMDA-dependent synaptic plasticity in the hippocampus. Dans Baudry M. et Davis J.L. *Long-Term Potentiation*. MIT Press, Cambridge, MA, pp. : 121-141.
- Malenka R.C. (1994b) Synaptic plasticity in the hippocampus: LTP and LTD. *Cell*, 78:535-538.

- Malenka R.C., Kauer J.A., Zucker R.S. et Nicoll R.A. (1988) Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science*, 242:81-84.
- Malenka R.C. et Nicoll R.A. (1993) NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends Neurosci.*, 16:521-527.
- Malenka R.C. et Nicoll R.A. (1997) Silent synapses speak up. *Neuron*, 19:473-476.
- Malenka R.C. et Nicoll R.A. (1998) Long-term depression with a flash. *Nature Neurosci.*, 1(2):89-90.
- Malgaroli A. (1999) Silent synapses: I can't hear you! Could you please speak aloud? *Nature Neurosci.*, 2(1):3-5.
- Malinow R. et Mainen Z.F. (1997) Long-term potentiation in the CA1 hippocampus. *Science*, 271:1604-1606.
- Malinow R. et Miller J.P. (1986) Postsynaptic hyperpolarization during conditioning reversibly blocks induction of long-term potentiation. *Nature*, 320:529-530.
- Man H.-Y., Lin J.W., Ju W.H., Ahmadian G., Liu L., Becker L.E., Sheng M et Wang Y.T. (2000) Regulation of AMPA receptor-mediated synaptic transmission by clathrin-dependent receptor internalization. *Neuron*, 25:649-662.
- Manabe T. (1998) Two forms of hippocampal long-term depression, the counterpart of long-term potentiation. *Rev. Neurosci.*, 8:179-193.
- Maren S. et Baudry M. (1995) Properties and mechanisms of long-term synaptic plasticity in the mammalian brain: relationships to learning and memory. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 63:1-18.
- Maren S., Tocco G., Standley S., Baudry M. et Thompson R.F. (1993) Postsynaptic factors in the expression of long-term potentiation (LTP): increased glutamate receptor binding following LTP induction in vivo. *PNAS*, 90:9654-9658.
- Martinez J.L., Jr. et Derrick B.E. (1996) Long-term potentiation and learning. *Ann. Rev. Psychol.*, 47:173-203.
- Massicotte G. et Baudry M. (1990) Modulation of DL- α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate (AMPA)/ quisqualate receptors by phospholipase-A₂ treatment. *Neurosci. Lett.*, 118:245-248.
- Massicotte G., Bernard J. et Baudry M. (1992) Postnatal changes in AMPA receptor regulation by phospholipase A₂ treatment of synaptic membranes: temporally differential affects on agonist and antagonist binding. *Dev. Brain Res.*, 66:203-238.
- Massicotte G., Kessler M., Lynch G. et Baudry M. (1990a) N-methyl-D-aspartate and quisqualate/AMPA receptors : differential regulation by phospholipase C treatment. *Mol. Pharmacol.*, 32:278-285.
- Massicotte G., Oliver M.W., Lynch G. et Baudry M. (1990b) Effect of bromophenacylbromide, a phospholipase A₂ inhibitor, on the induction and maintenance of LTP in hippocampal slices. *Brain Res.*, 537:49-53.
- Massicotte G., Vanderklish P., Lynch G. et Baudry M. (1991) Modulation of AMPA/quisqualate receptors by phospholipase A₂: a necessary step in long-term potentiation? *PNAS*, 88:1893-1897.
- Masu M., Tanabe Y., Tsuchida K., Shigemoto R. et Nakanishi S. (1991) Sequence and expression of a metabotropic glutamate receptor. *Nature*, 349:760-765.
- Matsuyama S., Namgung U. et Routtenberg A. (1997) Long-term potentiation persistence greater in C57BL/6 than DBA/2 mice: predicted on basis of protein kinase C levels and learning performance. *Brain Res.*, 763:127-130.

- Mayer M.L. et Westbrook G.L. (1987a) Permeation and block of N-methyl-D-aspartic acid receptor channels by divalent cations in mouse cultured central neurons. *J. Physiol.(Lond.)*, 394:501-527.
- Mayer M.L. et Westbrook G.L. (1987b) The physiology of excitatory amino acids in the vertebrate central nervous system. *Prog. Neurobiol.*, 28:197-276.
- Mayer M.L. et Westbrook G.L. (1985) The action of N-methyl-D-aspartate on mouse spinal neurons in culture. *J. Physiol.(Lond.)*, 361:65-90.
- Mayer M.L., Westbrook G.L. et Guthrie P.B. (1984) Voltage-dependent block by Mg^{2+} of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature*, 309:261-263.
- McBain C.J. et Mayer M.L. (1994) N-methyl-D-aspartic acid receptor structure and function. *Physiol. Rev.*, 74:723-760.
- McGuinness N., Anwyl R. et Rowan M. (1991) The effect of external calcium on the N-methyl-D-aspartate induced short-term potentiation in the rat hippocampal slice. *Neurosci. Lett.*, 131(1):13-16.
- Medina I., Filippova N., Barbin G., Ben-Ari Y. et Bregestivski P. (1994) Kainate-induced activation of NMDA currents via an elevation of intracellular Ca^{2+} in hippocampal neurons. *J. Neurophysiol.*, 72:456-465.
- Melchers B.P., Pennartz C.M. et Lopez da Silva F.H. (1987) Differential effects of elevated extracellular calcium concentration on field potentials in dentate gyrus and CA1 of the rat hippocampal slice preparation. *Neurosci. Lett.*, 77(1):37-42.
- Meldrum B. (1991) Excitotoxicity and epileptic brain damage. *Epilepsy Res.*, 10:55-61.
- Meldrum B. et Garthwaite J. (1990) Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends Pharmacol. Sci.*, 11:379-387.
- Miller L.P., Johnson R.E., Gelhard R.E. et Insel T.R. (1990) The ontogeny of excitatory amino acid receptors in the rat forebrain-II. Kainic acid receptors. *Neurosci.*, 35:45-51.
- Mishina M., Sakimura K., Mori H., Kushiya E., Harabayashi M., Uchino S. et Nagahari K. (1991) A single amino acid residue determines the Ca^{2+} permeability of AMPA-selective glutamate receptor channels. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 180:813-821.
- Monaghan D.T., Bridges R.J. et Cotman C.W. (1989) The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology and distinct properties in the function of the central nervous system. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 29:365-402.
- Monaghan D.T. et Cotman C.W. (1986) Identification and properties of N-methyl-D-aspartate receptors in rat brain synaptic plasma membranes. *PNAS*, 83(19):7352-7356.
- Monaghan D.T. et Cotman C.W. (1982) The distribution of [3H]kainic acid binding sites in rat CNS as determined by autoradiography. *Brain Res.*, 252:91-100.
- Monaghan D.T., Yao D. et Cotman C.W., (1985) L-[3H]Glutamate binds to kainate-, NMDA- and AMPA-sensitive binding sites: an autoradiographic analysis. *Brain Res.*, 340(2):378-383.
- Monaghan D.T., Yao D. et Cotman C.W., (1984) Distribution of [3H]AMPA binding sites in rat brain as determined by quantitative autoradiography. *Brain Res.*, 324:160-164.
- Monyer H., Seeburg P.H. et Wisden W. (1991) Glutamate-operated channels: developmentally early and mature forms arise by alternative splicing. *Neuron*, 6:799-810.

- Mori H. et Mishina M. (1995) Review : Neurotransmitter receptors VIII, Structure and function of the NMDA receptor channel. *Neuropharmacol.*, 34:1219-1237.
- Morris R.G.B. (1981) Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn. Motiv.*, 12:239-260.
- Moriyoshi K., Masu M., Ishii T., Shigemoto R., Mizuno M. et Nakanishi S. (1991) Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor. *Nature (London)*, 354:31-37.
- Mosbacher J., Shoepfer R., Monyer H., Burnashev N., Seeburg P.H. et Ruppertsberg J.P. (1994) A molecular determinant for submillisecond desensitization in glutamate receptors. *Science (Washington DC)*, 266:1059-1062.
- Moser M.B., Trommald M. et Anderson P., An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses. *PNAS*, 91:12673-12675.
- Motulsky H. (1996) *The GraphPad Guide to Analysing Radioligand Binding Data*. GraphPad Software Inc., San Diego, CA, 36 pages. (<http://www.graphpad.com>)
- Muller D., Joly M. et Lynch G. (1998) Contributions of quisqualate and NMDA receptors to the induction and expression of LTP. *Science*, 242:1694-1697.
- Musleh W., Bi X., Tocco G., Yaghoubi S. et Baudry M. (1997) Glycine-induced long-term potentiation is associated with structural and functional modifications of α -amino-3-hydroxyl-5-méthyl-4-isoxazolepropionic acid receptors. *PNAS*, 94 :9451-9456.
- Nadler J.V. (1981) Kainic acid as a tool for the study of temporal lobe epilepsy. *Life Sci.*, 29(20):2031-2042.
- Nakanishi N., Schneider N.A. et Axel R. (1990) A family of glutamate receptor genes: evidence for the formation of heteromultimeric receptors with distinct channel properties. *Neuron*, 5(5):569-581.
- Nakanishi S. (1992) Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. *Science*, 258:597-603.
- Nayak A. et Browning M.D. (1999) Presynaptic and postsynaptic mechanisms of long-term potentiation. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies, Third Edition : Advances in Neurology*, Vol. 79 (Chapter 43):645-658.
- Nicoll R.A. et Malenka R.C. (1995) Contrasting properties of two forms of long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 377:115-118.
- Nielsen E.O., Drejer J., Cha J.J., Young A.B. et Honoré T. (1990) Autoradiographic characterization and localization of quisqualate binding sites in rat brain using the antagonist [³H]CNQX: comparison with [³H]AMPA binding sites. *J. Neurochem.*, 54:686-695.
- Niethammer M., Valtschanoff J.G., Kapoor T.M., Allison D.W., Weinberg T.M., Craig A.M. et Sheng M. (1998) CRIPT, a novel postsynaptic protein that binds to the third PDZ domain of PSD-95/SAP90. *Neuron*, 20:693-707.
- Nishimune A., Isaac J.T.R., Molnar E., Noel J., Nash R., Tagaya M., Collingridge G.L., Nakanishi S. et Henley J.M. (1998) NSF binding to GluR2 regulates synaptic transmission. *Neuron*, 21:87-97.
- Noguès X., Jaffard R. et Micheau J. (1996) Investigations on the role of hippocampal protein kinase C on memory processes: pharmacological approach. *Behav. Brain Res.*, 75:139-146.
- Nowack L., Bregestovski P., Ascher P., Herbert A. et Prochiantz A. (1984) Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307:462-465.

- O'Brien R.J., Lau L.-F. et Huganir R.L. (1998) Molecular mechanisms of glutamate receptor clustering at excitatory synapses. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 8:364-369.
- O'Dell T.J. et Kandel E.R. (1994) Low-frequency stimulation erases LTP through an NMDA receptor-mediated activation of protein phosphatases. *Learn. Mem.*, 1:129-139.
- Ogita K., Sakamoto T., Han D., Azuma Y. et Yoneda Y. (1994) Discrimination by added ions of ligands at ionotropic excitatory amino acid receptors insensitive to N-methyl-D-aspartate in rat brain using membrane binding techniques. *Neurochem. Int.*, 24:379-388.
- Okada D., Yamagishi S. et Sugiyama H. (1989) Differential effects of phospholipase inhibitors in long-term potentiation in the rat hippocampal mossy fiber synapses and Schaffer/commissural synapses. *Neurosci. Lett.*, 100:141-146.
- Olney J.W. (1978) Neurotoxicity of excitatory amino acids. *Dans* McGeer E.G., Olney J.W et McGeer P.L. *Kainic acid as a tool in neurobiology*. Raven Press, New York, pp. : 95-112.
- Olsen R.W., Szamraj O. et Houser C.R. (1987) [³H]AMPA binding to glutamate receptor subpopulations in rat brain. *Brain Res.*, 402:243-254.
- Ozawa S., Haruyuki K. et Keisuke T. (1998) Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Prog. Neurobiol.*, 54:581-618.
- Palade G.E. et Palay S.L. (1954) Electron microscopy observations of interneuronal and neuromuscular synapses. *Anat. Rec.*, 118:3-35.
- Parascandola J. (1986) The development of receptor theory, *dans* Parnham M.C. et Bruinvels J. *Discoveries in Pharmacology*, III. Elsevier, Amsterdam - New York - Oxford, pp. : 129-156.
- Partin K.M. et Mayer M.L. (1996) Negative allosteric modulation of wild-type and mutant AMPA receptors by GYKI 53655. *Mol. Pharmacol.*, 49:142-148.
- Pegg D.E. (1987) Mechanisms of freezing damage. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 41:363-378.
- Pelligrini-Giampietro D.E., Bennett M.V.L. et Zukin R.S. (1991) Differential expression of three glutamate receptor genes in developing rat brain: an *in situ* hybridization study. *PNAS*, 88:4157-4161.
- Petralia R.S., Esteban J.A., Wang Y.-X., Partridge J.G., Zhao H.-M., Wenthold R.J. et Malinow R. (1999) Selective acquisition of AMPA receptors over postnatal development suggests a molecular basis for silent synapses. *Nature Neurosci.*, 2(1):31-36.
- Petralia R.S. et Wenthold R.J. (1992) Light and electron immunocytochemical localization of AMPA-selective glutamate receptors in the rat brain. *J. Comp. Neurol.*, 318:329-354.
- Piomelli D. et Greengard P. (1991) Bidirectional control of phospholipase A2 activity by Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II, cAMP-dependent protein kinase, and casein kinase II. *PNAS*, 88:6770-6774.
- Piomelli D., Wang J.K., Sihra T.S., Nairn A.C., Czernik A.J. et Greengard P. (1989) Inhibition of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II by arachidonic acid and its metabolites. *PNAS*, 86:8550-8554.
- Ponting C.P., Phillips C., Davies K.E. et Blake D.J. (1997) PDZ domains: targeting signaling molecules to sub-membranous sites. *BioEssays*, 19:469-479.
- Popov N.S., Reymann K.G., Schulzeck K., Schulzeck S. et Matthies H. (1988) Alterations in calmodulin content in fractions of rat hippocampal slices during tetanic- and calcium-induced long-term potentiation. *Brain Res. Bull.*, 21(2):201-206.

- Prentø P. (1997) The effects of freezing, storage, and thawing on cell compartment integrity and ultrastructure. *Histochem. Cell Biol.*, 108 :543-547.
- Ramón y Cajal S. (1894) La fine structure des centres nerveux. *Proc. Roy. Soc. Lond.*, B 55:444-468.
- Ramón y Cajal S. (1909-1911) *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Paris, Maloine, 2 vol.
- Randle J.C.R, Biton C. et Lepagnol J.M. (1993) Allosteric potentiation by diazoxide of AMPA receptor currents and synaptic potentials. *Eur. J. Pharmacol.- Mol. Pharmacol. Sec.*, 247:257-265.
- Raymond L.A., Blackstone C.D. et Huganir R.L. (1993) Phosphorylation and modulation of recombinant GluR6 glutamate receptors by cAMP-dependent protein kinase. *Nature*, 361:637-641.
- Represa A., Tremblay E. et Ben-Ari Y. (1987) Kainate binding sites in the hippocampal mossy fibers: localization and plasticity. *Neurosci.*, 20:739-748.
- Reymann K.G., Matthies H.K., Frey U., Vorobyev V.S. et Matthies, H. (1986) Calcium-induced long-term potentiation in the hippocampal slice : characterization of the time course and conditions. *Brain Res. Bull.*, 17(3):291-296.
- Riedel G. et Reymann K.G. (1996) Metabotropic glutamate receptors in hippocampal long-term potentiation and learning and memory. *Acta Physiol. Scand.*, 157:1-19.
- Roberts R.C. et Ribak C.E. (1987) An electron microscopic study of GABAergic neurons and terminals in the central nucleus of the inferior colliculus of the rat. *J. Neurocytol.*, 16(3):333-345.
- Roche K.W., O'Brien R.J., Mammem A.L., Bernhardt J. et Huganir R.L. (1996) Characterization of multiple phosphorylation sites on the AMPA receptor GluR1 subunit. *Neuron*, 16:1179-1188.
- Rosenmund C. et Westbrook G.L. (1993a) Calcium-induced actin depolymerization reduces NMDA channel activity. *Neuron*, 10:805-814.
- Rosenmund C. et Westbrook G.L. (1993b) Rundown of N-methyl-D-aspartate channels during whole-cell recording in rat hippocampal neurons: Role of Ca²⁺ and ATP. *J. Physiol.*, 470:705-729 [erratum publié dans *J. Physiol (Lond.)*, 1994, 475(3):547-548].
- Roseth S., Fykse E.M. et Fonnum F. (1995) Uptake of L-glutamate into rat brain synaptic vesicles: effect of inhibitors that bind specifically to the glutamate transporter. *J. Neurochem.*, 65(1):96-103.
- Rothman S.M. et Olney J.W. (1987) Excitotoxicity and the NMDA receptor. *Trends Neurosci.*, 10:299-302.
- Royle S.J., Collins F.C., Rupniak H.T., Barnes J.C. et Anderson R. (1999) Behavioural analysis and susceptibility to CNS injury of four inbred strains of mice. *Brain Res.*, 816(2):337-349.
- Ruat M., Molliver M.E., Snowman A.M. et Snyder S.H. (1995) Calcium sensing receptor : molecular cloning in rat and localization to nerve terminals. *PNAS*, 92(8):3161-3165.
- Sathananthan A.H., Trounson A. et Freeman L. (1987) Morphology and fertilizability of frozen human oocytes. *Gamete Res.*, 16(4):343-354.
- Saugstad J.A., Segerson T.P., Westbrook G.L. (1995) Modulation of ion channels and synaptic transmission by metabotropic glutamate receptors. *Dans : Thompson W., Excitatory amino acids and synaptic transmission*. Academic Press, New York.

- Schauwecker P.E. et Steward O. (1997) Genetic determinants of susceptibility to excitotoxic cell death: implications for gene targeting approaches. *PNAS*, 94:4103-4108.
- Schellens J.P.M., Vreeling-Sindelarova H., Van den Munckhof R.J.M. et Frederiks W.M. (1995) Electron microscopical study of a cytosolic enzyme in unfixed cryostat: demonstration of glycogen phosphorylase activity in rat liver and heart tissue. *Histochem. J.*, 27:609-614.
- Schellens J.P.M., Frederiks W.M., Van Noorden C.J.F., Vreeling-Sindelarova H., Marx F. et McMillan P.J. (1992) The use of unfixed cryostat sections for electron microscopic study of D-amino acid oxidase activity in rat liver. *J. Histochem. Cytochem.*, 40:1975-1979.
- Schoepp D.D., Jane D.E. et Monn J.A. (1999) Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacol.*, 38:1431-1476.
- Schulz P.E. (1997) Long-term potentiation involves increases in the probability of neurotransmitter release. *PNAS*, 94(11):5888-5893.
- Schwegler H., Crusio W.E., Lipp H.-P. et Heimrich B. (1988) Water-maze learning in the mouse correlates with variation in hippocampal morphology. *Behav. Gen.*, 18(2):153-165.
- Schwegler H. et Lipp H.-P. (1983) Hereditary covariations of neuronal circuitry and behavior: correlations between the proportions of hippocampal synaptic fields in the regio inferior and two-way avoidance in mice and rats. *Behav. Brain Res.*, 7:1-38.
- Seeburg P.H. (1996) The role of RNA editing in controlling glutamate receptor channel properties. *J. Neurochem.*, 66(1):1-5.
- Sheardown M.L., Nielsen E.Ø., Hansen A.J., Jacobsen P. et Honoré T. (1990) 2,3-Dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(F)quinoxaline: a neuroprotectant for cerebral ischemia. *Science*, 247:571-574.
- Sheldon R.A., Sedik C. et Ferriero D.M. (1998) Strain-related brain injury in neonatal mice subjected to hypoxia-ischemia. *Brain Res.*, 810(1-2):114-122.
- Shi S.H., Hayashi Y., Petralia R.S., Zaman S.H., Wenthold R.J., Svoboda K. et Malinow R. (1999) Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation. *Science*, 284:1811-1816.
- Shigemoto R., Kinoshita A., Wada E., Nomura S., Ohishi H., Takada M., Flor P.J., Neki A., Abe T., Nakanishi S. et Mizuno N. (1997) Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *J. Neurosci.*, 17:7503-7522.
- Shoep D.D., Jane D.E. et Monn J.A. (1999) Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacol.*, 38:1431-1476.
- Shors T.J. et Matzel L.D. (1997) Long-term potentiation: what's learning got to do with it? *Behav. Brain Sci.*, 20:597-655.
- Soloviev M.M. et Barnard E.A. (1997) *Xenopus* oocytes express a unitary glutamate receptor endogenously. *J. Mol. Biol.*, 273:14-18.
- Sommer B., Keinänen K., Verdoorn T.A., Wisden W., Burnashev N., Herb A., Köhler M., Takagi T., Sakmann B. et Seeburg P.H. (1990) Flip and flop: a cell-specific functional switch in glutamate-operated channels of the CNS. *Science*, 249:1580-1585.
- Sommer B., Köhler M., Sprengel R. et Seeburg P.H. (1991) RNA editing in brain controls a determinant of ion flow in glutamate-gated channels. *Cell*, 67:11-19.

- Somogyi P., Tamas G., Lujan R. et Buhl E.H. (1998) Salient features of synaptic organisation in the cerebral cortex. *Brain Res. Rev.*, 27:113-135.
- Song J., Bosh K.S., Tigchelaar W., Van Den Munckhof R.J.M., Schellens J.P.M., Van Noorden C.J.F. et Frederiks W.M. (1995) Demonstration of 5'-nucleotidase activity in unfixed cryostat sections of rat liver using a combined light- and electron-microscope procedure. *Histochem. J.*, 27:914-922.
- Srivastava S., Osten P., Vilim F.S., Khatri L., Inman G.J., States B., Daly C., DeSouza S., Abagyan R., Valtschanoff J.G., Weinberg R.J. et Ziff E.B. (1998) Novel anchorage of GluR2/3 to the postsynaptic density by the AMPA receptor-binding protein ABP. *Neuron*, 21(3):581-591.
- Standley S., Irvin N. et Baudry M. (1994) Differential subcellular localization of two populations of glutamate/AMPA receptors in the rat telencephalon. *Neurochem. Int.*, 25:287-293.
- Standley S., Tocco G., Wagle N. et Baudry M. (1998a) High- and low-affinity alpha-[3H]amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid ([3H]AMPA) binding sites represent immature and mature forms of AMPA receptors and are composed of differentially glycosylated subunits. *J Neurochem.*, 70(6):2434-2445.
- Standley S., Wagle N. et Baudry M. (1998b) Developmental changes in subcellular AMPA/GluR receptor populations in rat forebrain. *Dev. Brain Res.*, 107(2):277-283.
- Stern-Bach Y., Bettler B., Hartley M., Sheppard P.O., O'Hara P.J. et Heinemann S.F. (1994) Agonist selectivity of glutamate receptors is specified by two domains structurally related to bacterial amino acid-binding proteins. *Neuron*, 13(6):1345-1357.
- Strader C.D., Fong T.M., Graziano M.P. et Tota M.R. (1995) The family of G-protein-coupled receptors. *FASEB J.*, 9:745-754.
- Sutherland R.J., Kolb B. et Whishaw I.Q. (1982) Spatial mapping: definitive disruption by hippocampal or medial frontal cortical damage in the rat. *Neurosci. Lett.*, 31:271-276.
- Sutherland R.J., Whishaw I.Q. et Kolb B. (1983) A behavioral analysis of spatial localization following electrolytic-, kainate- or colchicine-induced damage to the hippocampal formation in the rat. *Behav. Brain Res.*, 7:133-153.
- Szatkowski M. et Attwell D. (1994) Triggering and execution of neuronal death in brain ischemia: two phases of glutamate release by different mechanisms. *Trends Neurosci.*, 9:359-365.
- Takasu N. et Hashimoto P.H. (1988) Morphological identification of an interneuron in the hypoglossal nucleus of the rat: a combined Golgi-electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.*, 271(3):461-471.
- Takeuchi A. et Takeuchi N. (1963) Glutamate-induced depolarisation in crustacean muscle. *Nature*, 198:490-491.
- Tang C.-M., Dichter M. et Morad M. (1989) Quisqualate activates a rapidly inactivating high conductance ionic channel in hippocampal neurons. *Science (Washington DC)*, 243:1474-1477.
- Tanzi E. (1893) I fatti e le induzioni nell'odierna istologia del sistema nervoso. *Riv. Sper. Freniatr. Med. Leg. Alienazioni Ment. Soc. Ital. Psichiatria*, 19:419-472.
- Tazaki Y. et Suzuki T. (1997) A morphological study for isolation of a single rat trigeminal motoneuron. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, 38(4):303-306.
- Thornberg S.A. and Saklad S.R. (1996) A review of NMDA receptors and the phencyclidine model of schizophrenia. *Pharmacotherapy*, 16:82-93.

- Tocco G., Annala A.J., Baudry M. et Thompson R.F. (1992a) Learning of a hippocampal-dependent conditioning task changes the binding properties of AMPA receptors in rabbit hippocampus. *Behav. Neural. Biol.*, 58:222-231.
- Tocco G., Devgan K.K., Hauge S.A., Weiss C., Baudry M. et Thompson R.F. (1991) Classical conditioning selectively increases AMPA receptor binding in rabbit hippocampus. *Brain Res.*, 559:331-336.
- Tocco G., Maren S., Shors T., Baudry M. et Thompson R.F. (1992b) Long-term potentiation is associated with increased [³H]AMPA binding in rat hippocampus. *Brain Res.*, 573:228-234.
- Tocco G., Massicotte G., Standley S., Thompson R.F. et Baudry M. (1992c) Effect of temperature and calcium on the binding properties of the AMPA receptor in frozen rat brain sections. *Eur. J. Neurosci.*, 4:1093-1103.
- Tocco G., Massicotte G., Standley S., Thompson R.F. et Baudry M. (1992d) Phospholipase A₂-induced changes in the affinity of the AMPA receptor: an autoradiographic study. *Neuroreport*, 3:515-518.
- Tokuda M. et Hatase O. (1998) Regulation of neuronal plasticity in the central nervous system by phosphorylation and dephosphorylation. *Mol. Neurobiol.*, 17:137-156.
- Tokuyasu K.T. (1980) Immunocytochemistry on ultrathin frozen sections. *Histochem. J.*, 12:381-403.
- Tong G., Malenka R.C. et Nicoll R.A. (1996) Long-term potentiation in cultures of single hippocampal granule cells: a presynaptic form of plasticity. *Neuron*, 16:1147-1157.
- Tower D.B. (1957) Glutamic acid and gamma-aminobutyric acid in seizures. *Clin. Chim. Acta*, 2:397-402.
- Trussel L.O., Thio L.L., Zorumski C.F. et Fishbach G.D. (1988) Rapid desensitization of glutamate receptors in vertebrate central neurons. *PNAS*, 85:2834-2838.
- Tsumoto T. (1992) Long-term potentiation and long-term depression in the neocortex. *Prog. Neurobiol.*, 39(2):209-228.
- Turrigiano G.G. (2000) AMPA receptors unbound: membrane cycling and synaptic plasticity. *Neuron*, 26:5-8.
- Turrigiano G.G., Leslie K.R., Desai N.S., Rutherford L.C. et Nelson S.B. (1998) Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature*, 391:892-896.
- Uchino S., Sakimura K., Nagahari K. et Mishina M. (1992) Mutations in a putative agonist binding region of the AMPA-selective glutamate receptor channel. *FEBS Lett.*, 308:253-257.
- Upchurch M. et Wehner J.M. (1988) Differences between inbred strains of mice in Morris water maze performance. *Behav. Gen.*, 18(1):55-68.
- Usuda N., Ma H., Hanai T., Yokota S., Hashimoto T. et Nagata T. (1990) Immuno-electron microscopy of tissues processed by rapid freezing and freeze-substitution fixation without chemical fixatives: application to catalase in rat liver hepatocytes. *J. Histochem. Cytochem.*, 38:617-23.
- Van Noorden C.J.F. et Frederiks W.M. (1992) *Enzyme Histochemistry. A Laboratory Manual of Current Methods*. Oxford University Press, England.
- Vassilev P.M., Mitchel J., Vassilev M., Kanazirska M. et Brown E.M. (1997) Assessment of frequency-dependent alterations in the level of extracellular Ca²⁺ in the synaptic cleft. *Biophysical J.*, 72(5):2103-2116.
- Vickery R.M. et Bindman L.J. (1997) Long-lasting decreases of AMPA responses following postsynaptic activity in single hippocampal neurons. *Synapse*, 25:103-106.

- Wang J. et Kelly P.T. (1996) The balance between postsynaptic Ca^{2+} -dependent protein kinase and phosphatase activities controlling synaptic strength. *Learn. Mem.*, 3:170-181.
- Wang J.-H., Ko G.Y.P. et Kelly P.T. (1997a) Cellular and molecular bases of memory: synaptic and neuronal plasticity. *J. Clin. Neurophysiol.*, 14(4):264-293.
- Wang T.Y. et Linden D.J. (2000) Expression of cerebellar long-term depression requires postsynaptic clathrin-mediated endocytosis. *Neuron*, 25:635-647.
- Wang Y. et Durkin J.P. (1995) α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, but not *N*-methyl-D-aspartate, activates mitogen-activated protein kinase through G-protein $\beta\gamma$ subunits in rat cortical neurons. *J. Biol. Chem.*, 276:22783-87.
- Wang Y., Small D.L., Stanimirovic D.B., Morley P. et Durkin J.P. (1997b) AMPA receptor-mediated regulation of a G_i -protein in cortical neurons. *Nature (Lond)*, 389:502-504.
- Wang Z. et Chow S.Y. (1994) Effect of kainic acid on unit discharge in CA1 area of hippocampal slice of DBA and C57 mice. *Epilepsia*, 35(5):915-921.
- Waniewski R.A. et Martin D.L. (1983) Selective inhibition of glial versus neuronal uptake of L-glutamic acid by SITS. *Brain Res.*, 268(2):390-394.
- Waser P.G. (1986) The cholinergic receptor, dans Parnham M.C. et Bruinvels J. *Discoveries in Pharmacology*, II. Elsevier, Amsterdam - New York - Oxford, pp. : 203-224.
- Watkins J.C., Krogsgaard-Larsen P. et Honore T. (1990) Structure activity relationships in the development of excitatory amino acid receptor agonists and competitive antagonists. *Trends Pharmacol. Sci.*, 11:25-33.
- Waxham M.N. (1999) Neurotransmitter receptors, dans Zigmond M.J., Bloom F.E., Landis S.C., Roberts J.L. et Squire L.R. *Fundamental Neuroscience*. Academic Press, San Diego, p.: 235-267.
- Wehner J.M., Sleight S. et Upchurch M. (1990) Hippocampal protein kinase C activity is reduced in poor spatial learners. *Brain Res.*, 523:181-187.
- Weisskopf M.G. et Nicoll R. (1995) Presynaptic changes during mossy fiber LTP revealed by NMDA receptor-mediated synaptic responses. *Nature*, 376:256-259.
- Wenthold R.J., Trumpp V.A., Zhu W.S. et Petralia R.S. (1994) Biochemical and assembly properties of GluR6 and KA-2, 2 members of the kainate receptor family, determined with subunit-specific antibodies. *J. Biol. Chem.*, 269:1332-1339.
- Werner P., Voigt M., Keinänen K., Wisden W. et Seeburg P.H. (1991) Cloning of a putative high-affinity kainate receptor expressed predominantly in hippocampal CA3 cells. *Nature*, 351:742-744.
- Wickens J.R. et Abraham W.C. (1991) The involvement of L-type calcium channels in heterosynaptic long-term depression in the hippocampus. *Neurosci. Lett.*, 130:128-132.
- Wigström H. et Gustaffson B. (1986) Postsynaptic control of hippocampal long-term potentiation. *J. Physiol. (Paris)*, 81:228-236.
- Williams J.H. et Bliss T.V. (1988) Induction but not maintenance of calcium-induced long-term potentiation in dentate gyrus and area CA₁ of the hippocampal slice is blocked by nordihydroguaiaretic acid. *Neurosci. Lett.*, 88:81-85.
- Wisden W. et Seeburg P.H. (1993) A complex mosaic of high-affinity kainate receptors in rat brain. *J. Neurochem.*, 13 :3582-3598.

- Wo Z.G. et Oswald R.E. (1994) Transmembrane topology of two kainate receptor subunits revealed by N-glycosylation. *PNAS*, 91:7154-7158.
- Wo Z.G. et Oswald R.E. (1995) Unravelling the modular design of glutamate-gated ion channels. *Trends Neurosci.*, 18:161-168.
- Wolfer D.-P., Lipp H.-P. et Lesinger M.-C. (1987) Correlation between hippocampal circuitry and behavior: infrapyramidal mossy fibers of mice and navigation in a Morris water maze. *Acta Anat.*, 128:346.
- Wood M.W., VanDongen H.M.A. et VanDongen A.M.J. (1995) Structural conservation of ion conduction pathways in K channel and glutamate receptors. *PNAS*, 92:4882-4886.
- Wyllie D.J.A, Behe P. et Colquhoun D. (1998) Single-channel activations and concentration jumps: Comparison of recombinant NR1a/NR2A and NR1a/NR2D NMDA receptors. *J. Physiol. (Lond.)*, 510:1-18.
- Wyszynski M., Lin J., Rao A., Nigh E., Beggs A.H., Craig A.M. et Sheng M. (1997) Competitive binding of alpha-actinin and calmodulin to the NMDA receptor. *Nature*, 385:439-442.
- Xiang Z., Greenwood A.C., Kairiss E.W. et Brown T.H. (1994) Quantal mechanisms of long-term potentiation in hippocampal mossy-fiber synapses. *J. Neurophysiol.*, 71:2552-2556.
- Xie X., Liaw J.-S. et Baudry M. (1997) Novel expression mechanism for synaptic potentiation: alignment of presynaptic release site and postsynaptic receptor. *PNAS*, 94:6983-6988.
- Yang G., Kitagawa K., Matsushita K., Mabuchi T., Yagita Y., Yanagihara T. et Matsumoto M. (1997) C57BL/6 strain is most susceptible to cerebral ischemia following bilateral common carotid occlusion among seven mouse strains: selective neuronal death in the murine transient forebrain ischemia. *Brain Res.*, 752:209-218.
- Ye C., Ho-Pao C.L., Kanazirska M., Quinn S., Seidman C.E., Seidman J.G., Brown E.M. et Vassilev P.M. (1997) Deficient cation channel regulation in neurons from mice with targeted disruption of the extracellular Ca²⁺-sensing receptor gene. *Brain Res. Bull.*, 44(1):75-84.
- Ye C., Kanazirska M., Quinn S., Brown E.M. et Vassilev P.M. (1996) Modulation by polycationic Ca²⁺-sensing receptor agonists of nonselective cation channels in rat hippocampal neurons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 224(1):271-280.
- Young A.B. et Fagg G.E. (1990) Excitatory amino acid receptors in the brain: membrane binding and autoradiographic approaches – EAA pharmacology. *Trends Pharmacol. Sci.*, 11:126-133.
- Zhang S., Ehlers M.D., Bernhardt J.P., Su C.T. et Huganir R.L. (1998) Calmodulin mediates calcium-dependent inactivation of N-methyl-D-aspartate receptors. *Neuron*, 21:443-453.
- Zhuo M. et Hawkins R.D. (1995) Long-term depression: a learning-related type of synaptic plasticity in the mammalian central nervous system. *Rev. Neurosci.*, 6:259-277.
- Zieglgänsberger W. et Tölle T.R. (1993) The pharmacology of pain signalling. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 3:611-618.
- Ziff E.B. (1999) Recent excitement in the ionotropic glutamate receptor field. *Ann. NYAS*, 868:465-473.
- Zigmond M.J., Bloom F.E., Landis S.C., Roberts J.L. et Squire L.R. (1999) *Fundamental Neuroscience*. Academic Press, San Diego, 1600 pages.
- Zilberter Y., Uteshev V., Sokolova S. et Khodorov B. (1991) Desensitization of N-methyl-D-aspartate receptors in neurons dissociated from adult rat hippocampus. *Mol. Pharmacol.*, 40:337-341.