

**UNIVERSITÉ DU QUÉBEC**

**MÉMOIRE  
PRÉSENTÉ À  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN BIOPHYSIQUE**

**PAR  
MARIE-FRANCE TOURIGNY**

**PLASTICITÉ SYNAPTIQUE DE L'HIPPOCAMPE ET  
MODULATION DES RÉCEPTEURS AMPA CHEZ LES  
SOURIS SENSIBLES À L'ÉPILEPSIE DE TYPE AUDIOGÈNE.**

**DÉCEMBRE 1995**

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

## SOMMAIRE

La capacité des neurones à modifier leur structure et quelques fois leurs fonctions en réponse aux modifications de l'environnement se nomme la plasticité neuronale. Celle-ci représenterait l'étape commune de l'apparition des phénomènes physiologiques d'apprentissage et de mémorisation ainsi que le développement de diverses conditions neuropathologiques, telle l'épilepsie. L'étude des mécanismes cellulaires et moléculaires de cette plasticité pathologique qu'est l'épilepsie fait l'objet de recherches intensives depuis maintes décennies. L'état épileptique est caractérisé par l'apparition de "pétarades" neuronales correspondant à des décharges paroxystiques et synchronisées de plusieurs cellules nerveuses démontrant la présence d'irrégularités morphologiques et électrophysiologiques. Les décharges épileptiques qui proviennent de ces structures neuronales peuvent se répandre sur l'ensemble des structures corticales provoquant l'apparition de crises épileptiques généralisées. Il est admis aujourd'hui que l'hippocampe possède un pouvoir intrinsèque à réduire la propagation des décharges épileptiques. De ce fait, en étudiant les altérations électrophysiologiques et biochimiques de l'hippocampe chez les modèles animaux susceptibles au développement de l'épilepsie, nous espérons découvrir à l'échelle moléculaire les causes de ce processus pathologique chez l'humain. Le phénomène de la potentialisation à long terme (PLT) de la transmission synaptique de l'hippocampe constitue un modèle électrophysiologique d'augmentation de la fonction excitatrice des neurones glutamatergiques. Les mécanismes cellulaires d'induction de la PLT furent proposés comme étant similaire à ceux sous-jacents au développement des processus épileptiques. Or, l'apparition et le maintien de diverses conditions physiologiques et pathologiques de plasticité neuronale, telles la PLT et l'épilepsie, sont attribuables à

l'activation des récepteurs glutamatergiques. On distingue deux grands groupes de récepteurs glutamatergiques: les récepteurs NMDA et non-NMDA selon leur sensibilité à l'action de l'agoniste N-méthyl-D-aspartate. Il est admis que l'induction de la PLT hippocampique repose principalement sur l'activation du récepteur NMDA alors qu'une altération permanente (possiblement via l'action de phospholipases endogènes) des récepteurs non-NMDA sensibles à l'acide  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-méthyl-4-isoxalone propionate (récepteurs AMPA) semble constituer l'étape critique responsable du maintien de cette plasticité hippocampique. Nous étudions les processus électrophysiologiques d'induction et de maintien de la PLT chez des souris sensibles au développement de l'épilepsie de type audiogène. Nous nous limiterons ici à l'étude de la PLT hippocampique induite suite à une stimulation tétanique de la voie glutamatergique excitatrice des afférences Schaeffer-commissurales et à l'étude des propriétés de régulation des récepteurs AMPA par une phospholipase A<sub>2</sub> exogène (PLA<sub>2</sub>) dans diverses régions télencéphaliques. Une étude électrophysiologique nous permet de démontrer qu'une hausse marquée de la capacité des neurones glutamatergiques à exprimer la PLT survient dans la région CA1 de l'hippocampe chez les souris DBA. Une analyse détaillée des caractéristiques fonctionnelles des neurones au glutamate révèle que l'augmentation de l'efficacité des synapses n'est pas attribuable à une modification de la relâche du neurotransmetteur ni à une hausse de la réponse glutamatergique assurée par les récepteurs NMDA, mais résulte plutôt d'une perturbation des processus biochimiques responsables du maintien de cette plasticité synaptique. À cet égard, nous rapportons une augmentation de la capacité d'une PLA<sub>2</sub> à moduler l'affinité des récepteurs AMPA chez les souris DBA. Cette modulation accrue des récepteurs AMPA par la PLA<sub>2</sub> semble spécifique aux régions CA3 et CA1 de l'hippocampe. Les modifications des caractéristiques électrophysiologiques et biochimiques de la fonction glutamatergique sont

mis en relation avec le développement des phénomènes physiologiques et pathologiques de plasticité synaptique. Des mécanismes moléculaires sont ici proposés et discutés pour rendre compte des changements à long terme de la fonction des neurones glutamatergiques chez les animaux sensibles à l'épilepsie de type audiogène.

## TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE.....	ii
TABLE DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xi
REMERCIEMENTS.....	xii
 1. INTRODUCTION.....	 1
Partie 1: L'épilepsie: rappels cliniques et neurobiologiques.....	4
 <u>A. Classification des crises épileptiques.....</u>	 5
1. Les crises épileptiques généralisées.....	5
1.1. Les crises tonico-cloniques.....	5
1.2. Les absences.....	7
 <u>B. Les caractéristiques neurochimiques et électrophysiologiques des foyers épileptiques....</u>	 8
1. Altérations morphologiques et neurochimiques du foyer épileptique.....	8
2. Mécanismes électrophysiologiques sous-jacents au déclenchement des processus épileptiques.....	10

Partie 2: Récepteurs au glutamate et excitabilité neuronale.....	13
A. <u>Propriétés physiologiques et pharmacologiques des récepteurs au glutamate</u> .....	14
1. Le récepteur NMDA pour le neuromédiateur glutamate.....	15
1.1. Propriétés électrophysiologiques des récepteurs NMDA.....	15
1.1.1. Bloc voltage-dépendant des récepteurs NMDA.....	16
1.1.2. Potentialisation de la réponse NMDA.....	17
1.1.3. Inhibition de la réponse NMDA pour le zinc.....	17
1.2. Rôles physiologiques des récepteurs NMDA.....	18
1.2.1. Transmission synaptique assurée par les récepteurs NMDA..	18
1.2.2. Rôle des récepteurs NMDA dans la plasticité neuronale.....	19
1.2.3. Récepteurs NMDA et conditions neuropathologiques.....	20
2. Les récepteurs non-NMDA.....	22
2.1. Les récepteurs AMPA pour le neuromédiateur glutamate.....	22
2.1.1. Propriétés électrophysiologiques des récepteurs AMPA.....	22
2.1.2. Rôles physiologiques et pathologiques des	
récepteurs AMPA.....	23
2.2. Les récepteurs kaïnate.....	24
2.3. Les récepteurs quisqualate métabotropes.....	25

B. <u>Plasticité synaptique de l'hippocampe: potentialisation à long terme (PLT)</u> .....	26
1. Mécanismes d'induction de la PLT hippocampique.....	27
2. Hypothèse post-synaptique dans le maintien de la PLT hippocampique.....	29
2. HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS.....	33
3. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	35
3.1. Électrophysiologie: préparation des coupes d'hippocampe.....	35
3.2. Autoradiographie quantitative: .....	36
3.2.1. La préparation des tissus.....	36
3.2.2. Incubation en présence de $^3\text{H}$ -AMPA.....	37
4. RÉSULTATS.....	39
4.1. La potentialisation à long terme chez les souris C57BL/6J et les DBA/2J.....	39
4.2. Modulation du taux de liaison du récepteur AMPA pour le $^3\text{H}$ -AMPA après traitement à une phospholipase A <sub>2</sub> exogène.....	43
5. DISCUSSION.....	51
6. CONCLUSION.....	57
7. RÉFÉRENCES.....	61



## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Caractéristiques électrophysiologiques de la région CA1 de l'hippocampe chez les souris sensibles (DBA) et résistantes (C57BL) à l'épilepsie de type audiogène.....	40
--	----

## LISTE DES FIGURES

### Figures

1. Structure schématique du récepteur NMDA.....15
2. Transmission synaptique par les récepteurs NMDA.....19
3. Schéma représentatif des différentes régions de l'hippocampe.....26
4. Représentation schématique de l'hypothèse post-synaptique expliquant le maintien de la PLT hippocampique.....30
5. Schéma représentatif du modèle expérimental.....35
6. PLT chez les souris sensibles (DBA/2J) et chez les souris (C57BL/6J) à l'épilepsie de type audiogène.....41
7. Modulation du récepteur AMPA par une PLA<sub>2</sub> exogène sur des coupes minces de cerveau de souris DBA/2J.....44
8. Liaison du <sup>3</sup>H-AMPA à son récepteur membranaire sur des coupes minces de souris DBA/2J avec préincubation à la PLA<sub>2</sub> pour les différentes régions de l'hippocampe.....45

9. Liaison du $^3\text{H}$ -AMPA à son récepteur membranaire sur des coupes minces de souris DBA/2J avec préincubation à la PLA <sub>2</sub> pour les différentes régions cérébrales.....	46
10. Autoradiogramme montrant la liaison de base du $^3\text{H}$ -AMPA à son récepteur membranaire.....	48
11. Liaison de base du $^3\text{H}$ -AMPA à son récepteur membranaire sur des coupes minces de souris DBA/2J dans les différentes régions de l'hippocampe.....	49
12. Liaison de base du $^3\text{H}$ -AMPA à son récepteur membranaire sur des coupes minces de souris DBA/2J pour les différentes régions cérébrales.....	50
13. Schéma résumé: lien possible entre la PLT et le développement de l'épilepsie généralisée.....	58

### LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN:	acide désoxyribonucléique
ADP:	adénosine-diphosphate
AMPA:	$\alpha$ -amino-3-hydroxy-méthyl-4-isoxalone propionate
AMPc:	adénosine monophosphate-3',5' cyclique
ARN:	acide ribonucléique
ATPase:	adénosine-triphosphatase
BT:	bouffées thêta
CA:	Corne d'Ammon
EGTA:	éthylèneglycol-bis-(b-amino-éthyl-éther)N,N'tétraacétique acide)
GABA:	acide $\gamma$ amino butyrique
GTP:	guanosine-triphosphate
IP <sub>3</sub> :	inositol-triphosphate
DLT:	dépression à long terme
PLT:	potentialisation à long terme
NMDA:	N-méthyl-D-aspartate
FAP:	facteur d'activation plaquettaire
PLA <sub>2</sub> :	phospholipase A <sub>2</sub>
PPSE:	potentiel post-synaptique excitateur
SBT:	stimulation de bouffées thêta

## REMERCIEMENTS

Toute ma reconnaissance à mon directeur de recherche, le Dr Guy Massicotte, pour sa patience et son soutien pendant ces deux années. Un merci particulier à Julie Bernard, Joël Gagné, Ahmed Lahsaïni et Luc Marchand pour leur support autant technique que moral.

Je tiens également à remercier le Centre de Recherche Fernand Séguin , spécialement le Dr Karen Dewar, pour leur support logistique.

Les travaux de recherche ont été financés à partir d'un octroi du C.R.S.N.G. au Dr Massicotte. Mes deux années d'études furent subventionnées par une bourse du F.C.A.R. et du Syndicat des Professeurs de l'U.Q.T.R.

## I. INTRODUCTION

Dans la haute Antiquité, les connaissances anatomiques sont presque inexistantes et d'éminents penseurs Grecs accordent alors au coeur le siège des sentiments et de l'intelligence de l'homme. C'est Alcmeon qui sera le premier à déclarer le cerveau comme étant le siège de la raison humaine. Ce qui fit évidemment éclater de rire ses compatriotes!

Depuis cette époque, l'anatomie du cerveau s'est raffinée, déterminant davantage les structures cérébrales que nous connaissons aujourd'hui: le cortex, le thalamus, l'hippocampe et le cervelet formant en partie le système nerveux central.

Par la technique de coloration de Golgi, Cajal proposa le neurone à la base de la transmission électrique de l'information du système nerveux. Le neurone possède une partie afférente, réceptrice, formée par l'arbre dendritique alors que l'axone constitue la partie efférente du neurone. Ces deux parties du neurone sont séparées l'une de l'autre par le soma de la cellule. C'est au niveau du contact entre l'axone d'un neurone afférent et la dendrite d'un second neurone que la transmission de l'information électrique s'effectue. Cette région de contact, entre l'axone et la dendrite, s'appelle une synapse. La partie terminale de l'axone qui forme un renflement au niveau de la synapse est l'élément présynaptique, l'élément post-synaptique, quant à lui, est formé par la dendrite du second neurone. L'influx, sous forme d'un potentiel d'action, se propage via l'axone à la structure présynaptique, y induisant la relâche des vésicules de neurotransmetteur se trouvant à l'intérieur de la structure présynaptique. Une fois le neurotransmetteur libéré à l'intérieur de la fente synaptique, il peut se lier aux récepteurs post-synaptiques, et

déclencher l'ouverture de canaux à ions associés à ces mêmes récepteurs. Cette entrée d'ions à l'intérieur de la cellule dépolarise la structure post-synaptique et permet la reconstitution du potentiel d'action par la dendrite. Le potentiel d'action formé cheminera à l'intérieur du second neurone, transmettant ainsi l'information d'une cellule à l'autre.

Des lésions cérébrales de même que plusieurs pathologies ont incité les chercheurs à analyser les causes et les répercussions de ces dommages du système nerveux central sur la transmission synaptique. Ainsi, de nombreuses études neurobiologiques sont présentement en cours afin de découvrir les mécanismes cellulaires responsables du développement de différentes pathologies humaines.

Parmi celles touchant le système nerveux central, se retrouve l'épilepsie. Étant très spectaculaire par la démonstration de ses symptômes, l'épilepsie fait le sujet de nombreuses études. L'épilepsie se caractérise par une apparition de crises épileptiques provenant d'une anomalie neurologique responsable de décharges paroxystiques et synchronisées de plusieurs cellules nerveuses. En effet, cette hyperexcitabilité de certains neurones du système nerveux central au cours de crises épileptiques nous interroge quant à son origine, sa répartition et ses conséquences. L'épilepsie consiste en une hausse du niveau de l'excitabilité du système nerveux central, et il fut démontré que certaines structures cérébrales participent directement à la détermination du niveau d'excitabilité du cerveau dans l'épilepsie. Une activité électrique anormale de grande amplitude traversant l'hippocampe est normalement filtrée, empêchant la répartition de cette activité électrique sur l'ensemble du cerveau. Il a été proposé que toute modification fonctionnelle de l'hippocampe puisse jouer un rôle important dans la détermination du niveau d'excitabilité

du système nerveux et de la propagation d'activité épileptique. Par exemple, des lésions de l'hippocampe augmentent le niveau de susceptibilité et diminuent le temps de latence au déclenchement de crises audiogènes chez les rats ( Kim, C. et Kim, C.U.; 1992). Ce rôle de modulation du déclenchement des crises épileptiques par l'hippocampe fut aussi observé chez les souris sensibles à l'épilepsie de type audiogène (Reid, H.M. et coll.; 1983). De nombreux travaux *in vitro* ont démontré une résistance particulière à l'expression de l'activité épileptique par les cellules du gyrus dentatus, une région spécifique de la formation hippocampique (Heinemann, U. et coll.; 1988). De plus, sous des conditions appropriées, ces mêmes cellules permettent et facilitent une décharge épileptique (Jensen, M.S. et Yaari, Y.; 1988). Le niveau d'activité des cellules du gyrus dentatus de même que leur situation au milieu d'un réseau de fibres d'une grande importance pour le déclenchement des crises généralisées, permettent au gyrus dentatus d'agir comme régulateur des crises épileptiques (Heinemann, U. et coll.; 1988). L'étude du niveau fonctionnel de la structure hippocampique pourrait permettre d'élucider les mécanismes de base du développement des crises épileptiques et du fait même de l'épileptogenèse.

Le phénomène de la potentialisation à long terme (PLT) de la transmission synaptique dans la structure hippocampique a été étudié comme modèle synaptique assurant les modifications fonctionnelles des neurones dans l'apprentissage et la mémoire. La PLT consiste en une hausse de l'efficacité de la transmission synaptique de divers réseaux d'afférences glutamatergiques (Bliss, T.V.P. et Collingridge, G.L.; 1993). Plusieurs études ont proposé que les étapes cellulaires et moléculaires sous-jacentes au développement de la PLT partagent des mécanismes communs susceptibles de permettre l'apparition d'une activité synaptique intense comme l'épilepsie (Baudry, M.; 1986). Une



hausse du niveau d'activité de l'hippocampe par des mécanismes semblables au développement de la PLT pourrait être à la base du phénomène épileptogène. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à préciser le rôle spécifique d'une enzyme cellulaire dépendante du calcium, la phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), dans le développement de la PLT hippocampique et la régulation de la fonction glutamatergique chez des souris prédisposées à l'épilepsie. Toutefois, une brève revue des caractéristiques neuropathologiques des phénomènes épileptiques s'impose.

#### Partie 1: L'épilepsie: rappels cliniques et neurobiologiques

Selon les statistiques de P. Loiseau, 54 % des épilepsies sont des épilepsies généralisées, 36 %, des épilepsies partielles et les 4 % restants ne peuvent être classés dans l'une ou l'autre des deux catégories (Beauchesne, H.; 1991). Le guide de l'épilepsie de Hervé Beauchesne procure une bonne revue des différentes caractéristiques de l'épilepsie. Les deux parties suivantes sont donc un résumé du guide. Les manifestations cliniques de l'épilepsie se retrouvent sous forme de crises épileptiques. Elles se subdivisent en deux grandes catégories, dépendant des structures cérébrales impliquées lors de la décharge épileptique, ainsi que des symptômes cliniques observés. Les crises impliquant l'apparition d'une décharge électrique provenant de l'ensemble du cortex cérébral sont qualifiées crises épileptiques généralisées. Alors que celles provenant de l'activation d'une zone cérébrale spécifique se classifient comme étant des crises épileptiques partielles.

## A. Classification des crises épileptiques

### 1. Les crises généralisées

Les crises généralisées impliquent l'activité de la totalité du cortex cérébral. La décharge épileptique dans ce type de crise se répand donc de façon à embraser totalement la structure corticale des deux hémisphères cérébraux. De la répartition de cette activité électrique anormale, surgissent des manifestations motrices bilatérales et grossièrement symétriques d'une grande ampleur (tonico-cloniques). Cette répartition peut aussi entraîner une simple altération de la conscience accompagnée ou non de démonstrations motrices (absences).

En terme de conscience, nous entendrons ici la qualité de réponse du sujet aux stimuli de l'environnement ou encore la capacité du sujet à garder le souvenir des événements intérieurs et extérieurs survenus durant la crise.

#### 1.1 Les crises tonico-cloniques

Les crises généralisées donnant les manifestations cliniques les plus spectaculaires et les plus connues sont les crises tonico-cloniques, communément appelées le Grand-Mal. Le début de la crise est brutal et s'accompagne souvent d'un cri intense. Le sujet perd connaissance et tombe au sol. Le déroulement de la crise s'effectue par la suite en trois phases distinctes, soient:

Phase tonique: Le sujet se raidit en une contraction tonique soutenue impliquant l'ensemble de la musculature. Les yeux sont révulsés, en mydriase, le visage est cyanosé dû à un arrêt respiratoire. De la tachycardie, une augmentation de la pression artérielle et une hypersécrétion bronchique sont également observées. C'est à cette phase qu'une morsure de la langue est possible. Cette contraction a une durée variant de 10 à 20 secondes.

Phase clonique: Tout le corps du sujet entre en un relâchement intermittent de la contraction musculaire, provoquant des secousses bilatérales brusques et violentes, durant une période d'environ 30 secondes. La respiration demeure abolie, gardant le visage cyanosé. On assiste par la suite à une diminution progressive de l'amplitude des contractions musculaires jusqu'à leur arrêt complet.

Phase post-critique: Cette dernière phase peut s'étendre de quelques minutes à quelques heures, laissant le sujet dans un état hypotonique, immobile, impliquant un relâchement musculaire complet. De plus, un relâchement des sphincters peut provoquer une perte d'urine. Il y aura retour de la respiration en un halètement bruyant. Le sujet reprend conscience, souffrant de céphalées et de courbatures.

### 1.2. Les absences

Les absences, aussi appelées Petit-Mal, passent souvent inaperçues car elles montrent, dans la majorité des cas, peu de manifestations physiques. Ces crises sont cependant toujours accompagnées d'altérations au niveau de la conscience. Le sujet, souvent un enfant, s'immobilise, arrêtant ainsi son activité en cours pendant une période de temps ( de 5 secondes à 2 minutes). À la fin de l'épisode, le sujet reprendra son activité en ayant aucun souvenir de la crise, gardant l'impression d'un trou dans sa mémoire.

Ces crises peuvent aussi s'accompagner de secousses musculaires rythmiques atteignant surtout les membres supérieurs, les muscles du cou et du visage. Une autre forme d'absence peut se manifester par une diminution du tonus postural, des changements brusques et transitoires de la respiration ainsi que des révolutions oculaires et des déviations du regard. Certains facteurs contribuent au déclenchement des absences telles une diminution de la vigilance et une montée subite des émotions. De cette façon, le sujet peut prévenir l'apparition de crises en contrôlant son niveau de vigilance et de fatigue.

En plus des absences et des crises tonico-cloniques, il existe différentes formes de crises généralisées: les crises myocloniques (secousses musculaires sans altération de la conscience), les crises cloniques (secousses bilatérales touchant surtout le jeune enfant), les crises toniques (contractions musculaires soutenues avec altération de la conscience et troubles végétatifs) et les crises atoniques ( diminution ou abolition du tonus postural, se

manifestant par un affaiblissement du corps). Les crises épileptiques généralisées consistent donc en un envahissement de l'ensemble de la structure cérébrale par une décharge électrique. Cependant, la répartition de la décharge sur le cortex cérébral peut s'effectuer de façon incomplète, déclenchant ainsi des crises épileptiques partielles qui peuvent avoir lieu avec ou sans altération de la conscience, permettant de les séparer en deux groupes distincts: les crises partielles simples et les crises partielles complexes. La situation morphologique du foyer de déclenchement des crises épileptiques partielles crée diverses formes de crises; il y aura donc autant de types de crises que de régions corticales.

Finalement, certaines crises épileptiques restent toutefois inclassables parmi les catégories ci-dessus mentionnées, soit par un manque de renseignements cliniques suffisants ou par une sémiologie déroutante.

## B. Les caractéristiques neurochimiques et électrophysiologiques des foyers épileptiques

### 1. Altérations morphologiques et neurochimiques du foyer épileptique

Que l'on soit en présence de crises généralisées ou partielles, leur point d'origine provient d'une région épileptogène précise. Cette région comporte des différences pathologiques autant au niveau anatomique que biochimique. Elles sont l'essence même de la fréquence, de l'amplitude et de la répartition de la décharge épileptique.

Le site d'origine de la décharge épileptique est caractérisé par des irrégularités morphologiques (Engel, J.; 1983). On y observe une prolifération des cellules gliales, cellules situées aux environs des neurones et une circulation cérébrale détériorée. Un dommage aux capillaires cérébraux permet une entrée de substances étrangères dans le tissu nerveux, augmentant ainsi le niveau de neurotoxicité cellulaire. La détérioration de la circulation sanguine est donc d'une importance capitale dans le développement du caractère épileptogène. Le foyer épileptique comporte aussi une perte importante de cellules nerveuses, diminuant en ce point le nombre de neurones et la taille des neurones restants. En plus de la perte cellulaire, des anomalies de la structure dendritique sont présentes. Les arbres dendritiques sont déformés et dénudés d'épines. Le nombre de branches dendritiques est diminué. De plus, les dendrites individuelles présentent un renflement irrégulier, élargissant ou amincissant les branches. La surface dendritique restante est lisse et presque totalement privée d'épines (Engel, J.; 1983). Ces irrégularités au niveau de la structure anatomique du neurone impliquent une circulation électrique irrégulière étant à la base du caractère épileptogène de ce point (Engel, J.; 1983). Présente seulement au foyer épileptique, ces différences morphologiques diminuent graduellement en importance à distance du foyer.

En plus des altérations anatomiques, des études démontrent l'existence de différences biochimiques présentes au foyer épileptogène. Une diminution de la synthèse des protéines du métabolisme oxydatif, de la synthèse d'acide ribonucléique (ARN), de la concentration d'ions potassium, de lipides et de phospholipides (incluant le cholestérol) est observée (Wasterlain, C.G.; 1986). À l'opposé, une augmentation des ions sodium, magnésium et chlore et de l'eau a été démontrée (Wheal, H.V.; 1990). Aux sites de lésions et aux régions adjacentes, l'augmentation observée de la concentration de

glutamate et d'aspartate, ainsi que la diminution de GABA (acide  $\gamma$ -amino butyrique) et de glycine pourrait contribuer à la génération de la décharge épileptique des neurones du foyer (Griffith, N.C. et coll.; 1991).

Ces modifications biochimiques sont assurées par le métabolisme des cellules gliales et sont probablement la conséquence directe de leur prolifération. Alors que les changements de concentration d'acide aminé découlent de l'altération de la fonction synaptique des cellules neuronales au foyer épileptique. Finalement, la perte neuronale ayant lieu au foyer explique la baisse de la concentration des lipides, phospholipides et du cholestérol (Engel, J.; 1983).

L'ensemble de ces résultats indiquerait une altération au niveau de la membrane des cellules des neurones situés au foyer épileptogène (Meldrum, B.S.; 1986). Le système déficitaire des canaux sodium et potassium et du mécanisme de l'adénosine triphosphatase (ATPase), pourrait provoquer une entrée des ions calcium dans la cellule. Cette hausse de calcium intracellulaire dépolariserait la cellule et pourrait générer ainsi une décharge épileptique.

## 2. Mécanismes électrophysiologiques sous-jacents au déclenchement des processus épileptiques

Ward (1969) décrit les événements correspondant au déclenchement d'une crise comme ceci: le foyer épileptique serait composé de cellules autonomes épileptogènes ( groupe 1) et de neurones dont l'activité varie de normale à une activité de bouffées à

haute fréquence (groupe 2). Le groupe 1 constitue 25% des cellules du foyer et a un rôle de "pacemaker" des crises. Les cellules du groupe 2 ne peuvent à elles seules générer une décharge épileptique mais ont la possibilité de s'activer en réponse à l'activation des cellules du groupe 1. Cependant, dans la plupart des cas, les cellules du groupe 2 et les cellules normales environnantes ne répondent pas à la stimulation des cellules du groupe 1. La décharge est alors brève et reste localisée à quelques cellules. Toutefois, lors de conditions inappropriées, comme un faible taux de sucre sanguin, un débalancement endocrinien, un changement nutritif, une fluctuation de température et de l'équilibre  $H_2O$ -NaCl, il y a interruption des mécanismes de contrôle par les cellules du groupe 2. La décharge épileptique s'étend donc à une région du cortex (crise partielle) ou aux deux hémisphères (crise généralisée).

Afin d'élucider le phénomène électrique de la décharge, il est indispensable d'utiliser les modèles animaux d'épilepsie. Lors de l'expérimentation, l'enregistrement de l'électroencéphalogramme, après déclenchement provoqué de la crise, donne un patron d'onde très défini. Premièrement, une dépolarisation des cellules par une ouverture des canaux sodium est observée. Suite à la dépolarisation vient une hyperpolarisation médiée par les canaux potassium à rectification retardée, donnant lieu à une période silencieuse où les cellules sont inactivables. Survient alors une seconde décharge via l'ouverture des canaux calciques, de laquelle provient la phase tonique et/ou clonique de la crise. Le tout est suivi d'une dépression post-ictale par une deuxième ouverture des canaux potassium (Wheal, H.V.; 1990).

En acceptant ce modèle chez les patients ayant des crises spontanées, comment peut-on expliquer la génération de la dépolarisation cellulaire initiale? On accepte



globalement l'hypothèse voulant que la dépolarisation cellulaire soit en fait la sommation de plusieurs potentiels post-synaptiques excitateurs ( PPSEs) provenant de l'activation des neurones situés au foyer. Ces PPSEs pourraient provenir d'un agrégat de neurones normaux ayant une altération au niveau de la synchronisation et de l'intensité de l'input synaptique due à une augmentation de l'excitation ou à une diminution de l'inhibition de l'activité synaptique. L'origine de ces PPSEs pourrait aussi provenir d'une anomalies de la membrane cellulaire des neurones du foyer ayant une modification des courants passifs ou de ceux à voltage dépendant. La dépolarisation cellulaire initiale pourrait donc provenir de neurones normaux possédant une activité électrique augmentée ou de l'activation de neurones anormaux (épileptogènes) (Schwartzkroin, P.A.; 1983).

Il est toutefois certain que la membrane cellulaire contribue à l'activité épileptique, qu'une accumulation des neurones au foyer est nécessaire et que les cellules qui y sont présentes doivent présenter des anomalies fondamentales.

Lorsqu'une quantité suffisante de neurones d'un foyer initial décharge à haute fréquence, le PPSE total recrute les cellules normales environnantes par un processus régénératif. Ce processus se répartira à partir des cellules du foyer jusqu'à englober une partie du système nerveux central (Schwartzkroin, P.A.; 1983). Le circuit de répartition de la décharge dépend de l'emplacement du foyer épileptogène ainsi que des réseaux de fibres situés au même endroit. Ainsi un foyer situé près d'une commissure majeure pourra générer des crises englobant une partie plus importante du cerveau à l'opposé d'un foyer situé à distance d'un réseau de fibres.

## Partie 2: Récepteurs au glutamate et excitabilité neuronale

L'épilepsie se démontre alors par le déclenchement d'une activité cérébrale électrique anormale, celle-ci pouvant impliquer la participation d'une partie ou encore de la totalité du cortex cérébral. Suite à ce déclenchement électrique surviennent les crises épileptiques pouvant varier au niveau de leurs manifestations cliniques. Quels sont les mécanismes cellulaires étant à la base du développement du phénomène épileptique? Il a été démontré que l'hippocampe joue un rôle important dans la détermination du niveau de l'excitabilité électrique du cerveau en permettant une filtration de l'activité électrique étant possiblement à la base de l'apparition d'une crise épileptique. Ainsi donc, une altération du niveau d'excitabilité de l'hippocampe pourrait réduire sa capacité à filtrer l'activité électrique intense et permettre, par conséquent, la propagation des potentiels anormaux (Reid, H.M. et coll.; 1983). Ce phénomène a été observé chez deux modèles animaux d'épilepsie: les souris "Tottering" et "El". Ces deux souches de souris sont prédisposées génétiquement au déclenchement de crises épileptiques et comportent des anomalies au niveau de la structure et de la fonction de l'hippocampe (Fisher, R.S.; 1989).

Le glutamate, un acide aminé, constitue le principal neurotransmetteur exciteur du cerveau. Les récepteurs pour le neuromédiateur glutamate sont distribués dans la grande majorité des structures télencéphaliques, avec une distribution maximale dans l'hippocampe (Watkins, J.C. et Evans, R.H.; 1981). De nombreuses études ont démontré que l'activation et/ou l'altération des différents sous-type de récepteurs au glutamate participent au développement des modifications électrophysiologiques accompagnant les phénomènes physiologiques d'apprentissage et de mémoire, ainsi que l'apparition de divers processus pathologiques, dont l'épilepsie (Monaghan, D.T. et coll.;

1989). Nous porterons ici notre attention sur les caractéristiques pharmacologiques et biochimiques des récepteurs au glutamate et leurs rôles physiologiques et pathologiques respectifs.

#### A. Propriétés physiologiques et pharmacologiques des récepteurs au glutamate

Le glutamate, un acide aminé exciteur important du système nerveux central, est impliqué au niveau de différents phénomènes d'excitabilité neuronale, tels la plasticité et le développement de différentes pathologies comme l'épilepsie. De plus, les récepteurs au glutamate jouent un rôle au niveau de la modification de la fonction des neurones et des phénomènes d'excitabilité (Monaghan, D.T. et coll.; 1989).

On retrouve trois formes distinctes de récepteurs au glutamate, selon leur degré de liaison à divers agonistes glutamatergiques. Ces récepteurs se divisent en deux grandes classes, soient les récepteurs liant de façon préférentielle un agoniste au glutamate, le N-méthyl-D-aspartate dits récepteurs NMDA, et ceux ne liant pas cet agoniste dits récepteurs non-NMDA. Cette dernière classe se subdivise en trois types de récepteurs différents, soient le récepteur AMPA (liant l' $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxalone propionate), le récepteur kaïnate et le récepteur quisqualate métabotrope (Farooqui, A.A. et Horrocks; 1991).

## 1. Le récepteur NMDA pour le neuromédiateur glutamate

### 1.1. Propriétés électrophysiologiques des récepteurs NMDA

Le récepteur NMDA est un récepteur ionotrope composé de quatre sous-unités transmembranaires placées autour d'un canal central à ions (Figure 1). On y retrouve plusieurs sites de liaison, dont un activateur pour le NMDA (Cotman, C.W. et coll.; 1989) et le glutamate, un autre potentialisateur pour la glycine (Johnson, J.W. et Ascher, P.; 1987), un troisième promoteur pour les polyamines (Williams, K. et coll.; 1989) et un dernier inhibiteur au zinc (Mayer, M.L. et Westbrook, G.L.; 1987). L'intérieur du canal possède deux sites de liaison, un pour le MK-801 (5-méthyl-10,11-dihydro-5h-dibenzocyclohepten-5,10-imine maléate) et un second pour le PCP (phencyclidine) (Wong, E.H.F. et coll.; 1986).

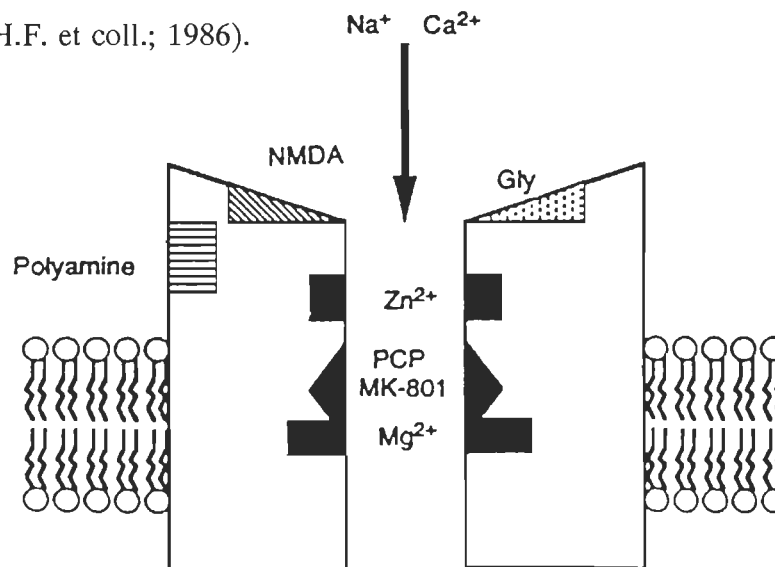


Figure 1. Structure schématique du récepteur NMDA constitué de quatre sous-unités transmembranaires placées autour d'un canal central à ions perméable aux ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Na}^{+}$ . Ce récepteur comporte des sites de liaisons pour le NMDA et la glycine ainsi que de nombreux sites à l'intérieur du canal pour le  $\text{Zn}^{2+}$ , le  $\text{Mg}^{2+}$ , le PCP et le MK-801.

### 1.1.1. Bloc voltage-dépendant des récepteurs NMDA

Des études sur culture de neurones, en utilisant les techniques de voltage-clamp et de patch-clamp, démontrent une perméabilité aux cations  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  et  $\text{K}^+$ , indifférente du type de cation impliqué (potentiel d'inversion de 0 mV). Une inhibition non-compétitive et voltage-dépendante du magnésium sur le canal du récepteur NMDA a aussi été observée (Nowak, L. et coll.; 1986). Les ions  $\text{Mg}^{+2}$  étant normalement présents dans le milieu extracellulaire à une concentration de 1 mmol/l, ils exercent un bloc du canal dans sa structure ouverte, empêchant le passage des ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ , et  $\text{K}^+$ . Ce bloc demeure cependant sensible au voltage, c'est-à-dire que tout potentiel négatif de la structure post-synaptique ne suffit pas à débloquent le canal, ce qu'un potentiel positif réussit à faire. Ainsi, au potentiel membranaire de repos, - 58 mV, le canal du récepteur NMDA demeure fermé, la négativité de la membrane attirant la charge positive du  $\text{Mg}^{+2}$ . Seule une stimulation de haute fréquence permettant une dépolarisation suffisante de la membrane synaptique pourrait lever le bloc par l'ion  $\text{Mg}^{+2}$  ( Johnson, J.W. et Ascher, P.; 1988).

Comment expliquer le bloc du magnésium et non celui du calcium puisque les deux ions possèdent chacun deux charges positives? La déshydratation de l'ion calcium s'effectue plus rapidement que celle du magnésium. Tenant compte du fait que le canal laisse passer seulement les ions sous leur forme déshydratée, les ions magnésium restent donc coincés à l'intérieur du canal, car ils se déshydratent moins rapidement (Ascher, P. et Nowak, L.; 1988).

### 1.1.2. Potentialisation de la réponse NMDA

La glycine est un neurotransmetteur présent exclusivement dans le système nerveux central des vertébrés. Cet acide aminé qui a le rôle de neurotransmetteur inhibiteur au niveau de certaines synapses, potentialise la réponse du récepteur NMDA par une augmentation de la fréquence d'ouverture du récepteur et par une diminution de la désensibilisation du récepteur (Johnson, J.W. et Ascher, P.; 1987). Le résultat consiste en une augmentation du flux des ions  $\text{Na}^+$  à l'intérieur du canal, dépolarisant davantage la membrane. Cet effet est observé dans le cortex, le cervelet et l'hippocampe du rat (Johnson, J.W. et Ascher, P.; 1988).

### 1.1.3. Inhibition de la réponse NMDA pour le zinc

Au niveau des neurones de l'hippocampe, le zinc possède la propriété d'inhiber de façon non-compétitive la réponse glutamatergique médiée par le récepteur NMDA. Cette inhibition n'étant pas voltage-dépendante, un site de liaison pour le zinc distinct du site de liaison pour le magnésium est suggéré (Mayer, M.L. et Westbrook, G.L.; 1987). Le zinc est retrouvé dans les terminaisons des fibres moussues de l'hippocampe et pourrait être relâché en même temps que le glutamate par la dépolarisation de la structure présynaptique. Il reste cependant à définir le rôle de modulateur du zinc sur le récepteur NMDA.

Le récepteur NMDA comporte donc un bloc magnésium voltage-dépendant, un site potentialisateur pour la glycine, un autre inhibiteur pour le zinc, un site promotionnel pour

les polyamines ainsi qu'un dernier pour le PCP et pour le MK-801. La propriété électrophysiologique principale de ce récepteur demeure son activation par le glutamate. Il est toutefois important de noter que différentes sous-unités formant le récepteur NMDA ont été clonées. Ainsi le récepteur NMDA peut être reconstitué à partir de deux types de sous-unités, soient les NR1 et les quatre différentes sous-unités NR2 (NR2A-NR2D) (Boulter, J. et coll.; 1990). Ces deux types de sous-unités montrent seulement 18 % de similitude au niveau de leur séquence d'acides aminés. La signification fonctionnelle de chacune de ces sous-unités ainsi que les différentes propriétés pharmacologiques obtenues par l'agencement de celles-ci restent à élucider (Sato, K. et coll.; 1993).

## 1.2. Rôles physiologiques des récepteurs NMDA

### 1.2.1. Transmission synaptique assurée par les récepteurs NMDA

Lors de la transmission synaptique, une dépolarisation présynaptique provoque une relâche de neurotransmetteur à l'intérieur de la fente synaptique. Le neurotransmetteur se liant par la suite à son récepteur post-synaptique provoque l'ouverture du canal lié au récepteur et dépolarise la structure post-synaptique à son tour. L'ensemble de la dépolarisation post-synaptique constitue un potentiel post-synaptique excitateur (PPSE). Dans une synapse glutamatergique, le PPSE généré comporte deux composantes, une précoce et une autre tardive. La composante précoce correspond à un pic initial de courant entrant formé par l'ouverture du canal du récepteur non-NMDA (Forsythe, I.D. et Westbrook, G.L.; 1988). Cette dépolarisation est rapide mais de courte durée, environ 4,2 msec. La dépolarisation membranaire suffit pour que le  $Mg^{+2}$  bloquant le canal du

récepteur NMDA soit délogé et permette alors l'entrée de cations dans la structure post-synaptique. La composante tardive du PPSE correspond par conséquent à l'activité du récepteur NMDA, celle-ci étant d'une durée approximative de 81,8 msec.

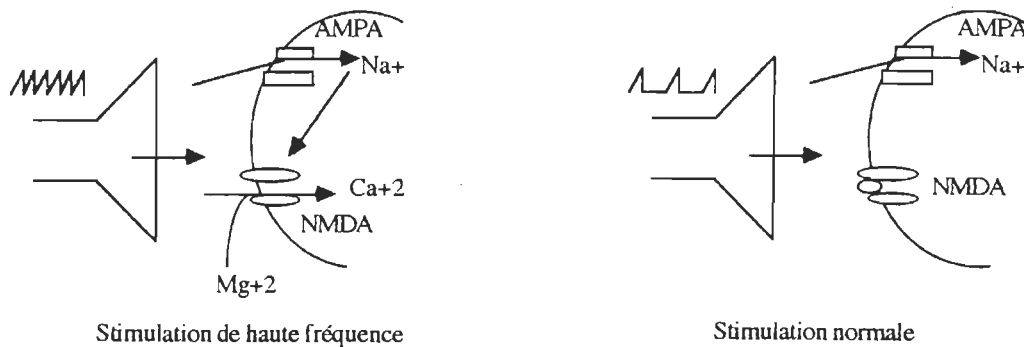


Figure 2. Transmission synaptique par les récepteurs NMDA

Le fonctionnement d'une synapse glutamatergique procède de façon coordonnée avec les récepteurs NMDA et non-NMDA. Lors d'une stimulation de haute fréquence, le récepteur non-NMDA procure une dépolarisation rapide, facilitant à son tour la réponse voltage-dépendante du récepteur NMDA. Cependant, lors d'une stimulation normale, seuls les récepteurs non-NMDA s'activent et l'entrée d'ions ne dépolarise pas suffisamment la membrane pour que le récepteur NMDA soit activé (voir Figure 2).

### 1.2.2. Rôle des récepteurs NMDA dans la plasticité neuronale

La plasticité neuronale constitue toute modification permanente de l'efficacité de la transmission synaptique. Cotman et collaborateurs (1989) présentent une bonne révision du rôle du récepteur NMDA au niveau du développement de la plasticité. Au cours du développement du système nerveux, les fibres nerveuses subissent une remarquable modification de la plasticité neuronale. Le récepteur NMDA est un des récepteurs



contribuant au développement du système nerveux central en guidant les fibres nerveuses immatures à leur cible, permettant l'établissement des connexions synaptiques et l'élimination sélective des neurones superflus. Des études sur le développement du système visuel montrent le rôle crucial joué par le récepteur NMDA, pour la détermination de la position relative des connexions synaptiques et la ségrégation de celles-ci. De plus, le récepteur NMDA joue un rôle trophique sur les neurones en développement, en augmentant leur croissance et la survie cellulaire; l'injection d'AP5, cet antagoniste au récepteur NMDA, inhibe la croissance neuronale (Davis, S. et coll. ; 1992). Le rôle du récepteur NMDA au niveau de l'induction de la potentialisation à long terme constitue toutefois le modèle de plasticité synaptique le mieux établi. L'activité du récepteur NMDA dans la PLT, ainsi que les différentes hypothèses régissant la formation et l'établissement de la PLT seront discutées en B.

### 1.2.3. Récepteurs NMDA et conditions neuropathologiques

En plus de leurs rôles physiologiques, les récepteurs au glutamate semblent participer au développement de diverses conditions neuropathologiques. Les acides aminés excitateurs peuvent être impliqués dans les processus fondamentaux de mort neuronale associés à une grande variété de conditions pathologiques. L'activation prolongée du récepteur NMDA induit une dépolarisation suivie d'un flux passif d'ions  $\text{Cl}^-$ . Cette entrée d'ions produit une entrée d'eau, provoquant, par conséquent, une lyse osmotique de la cellule. Les ions qui pénètrent, le plus important est le calcium, pourraient activer divers processus cellulaires comme les lipases et les protéases contribuant aussi à la dégénérescence cellulaire. L'hypoxie, l'ischémie, l'hypoglycémie,

l'épilepsie, la maladie d'Alzheimer et la chorée de Huntington ont démontré une implication plus ou moins importante de l'activation du récepteur NMDA (Cotman, C.W. et coll.; 1989). L'ischémie, entraînant un manque d'oxygénation au niveau cérébral, montre une accumulation de glutamate. Des doses intraventriculaires modérées de NMDA injectées chez le rat induisent des convulsions, une excitation, de la panique et même quelquefois une réaction de fuite, suggérant de ce fait un rôle du récepteur NMDA dans l'épilepsie. Une diminution de la liaison du  $^3\text{H}$ -glutamate au récepteur NMDA est observée dans le cortex et l'hippocampe des patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Coyle, J.T. et coll.; 1983). Une diminution de la recapture du glutamate montre que le récepteur au glutamate pourrait être à la base de la mort cellulaire retrouvée dans la chorée de Huntington. Certaines de ces pathologies neurodégénératives peuvent être réduites par des antagonistes des récepteurs NMDA. L'action protectrice de ces antagonistes a été observée dans les modèles de mort cellulaire induite par hypoglycémie.

L'activation du récepteur NMDA est aussi impliquée dans des modifications à long terme de la plasticité neuronale se retrouvant dans le "kindling", un modèle animal d'épilepsie. Le "kindling" s'obtient par chocs électriques répétés sur différentes parties du cerveau (Goddard, G.V. et coll.; 1969). L'excitabilité électrique de cette même région cérébrale s'en trouve alors augmentée. Lorsque les stimulations électriques sont prolongées durant plusieurs semaines, l'animal déclenche des crises épileptiques spontanées. Différentes hypothèses ont été avancées afin d'expliquer le mécanisme du développement du phénomène de kindling. Une des plus valables propose une diminution de la fonction synaptique inhibitrice et/ou une augmentation de la fonction synaptique excitatrice (McNamara, J.O. et coll.; 1985). On a aussi proposé une émergence des acides aminés excitateurs comme étant la (ou l'une des ) classes de neurotransmetteurs excitateurs

jouant un rôle dans la pathogenèse du kindling (Holmes, K.H. et Goddard, G.V.; 1986). Les manifestations électrophysiologiques et comportementales du développement du kindling furent inhibées avec l'utilisation d'antagonistes des récepteurs au glutamate (Bowyer, J.F.; 1982). En effet, Holmes et Goddard (1986), en utilisant l'AP5, un antagoniste compétitif des récepteurs NMDA, inhibèrent aussi le développement du kindling. Une activation du récepteur NMDA joue, par conséquent, un rôle primordial dans la plasticité à long terme que constitue le kindling (Mody, I. et Heinemann, U.: 1987). Ces études suggèrent donc une augmentation de la fonction du récepteur NMDA pour le glutamate, en réponse aux stimulations électriques.

En somme, l'activation des récepteurs NMDA pourrait représenter un mécanisme commun d'induction des phénomènes physiologiques et pathologiques de plasticité neuronale.

## 2. Les récepteurs non-NMDA

### 2.1. Les récepteurs AMPA pour le neuromédiateur glutamate

#### 2.1.1. Propriétés électrophysiologiques des récepteurs AMPA

Le récepteur AMPA possède une structure similaire au récepteur NMDA: celle d'un récepteur ionotrope composé de quatre sous-unités transmembranaires placées autour d'un canal central à ions (Seeburg, P.H.; 1993). Jusqu'à présent, un seul site de liaison principal lui est attribué: celui du glutamate ou de ses agonistes et antagonistes. Trouvé à l'aide d'études en "patch-clamp", le potentiel d'inversion du canal se situe aux environs de 0mV, signifiant une perméabilité aux cations monovalents, comme le  $\text{Na}^+$ , le  $\text{K}^+$  et le

$\text{Cs}^+$ . Le canal s'est révélé imperméable aux ions  $\text{Cl}^-$  et aux cations bivalents, en particulier le  $\text{Ca}^{+2}$ .

Des études génétiques démontrent l'existence de 4 ARN codant pour différentes sous-unités de la famille de récepteurs AMPA. Par épissage alternatif, ces sous-unités peuvent se retrouver sous deux versions, flip ou flop (Sommer, B. et coll.; 1990). Ces deux versions démontrent des profils d'expression différents dans un cerveau mature et dans un cerveau en développement. Le cerveau embryonnaire exprime majoritairement la version flip alors que la version flop apparaît après la naissance (Monyer, H. et coll.; 1991). Les récepteurs contenant exclusivement la version flip des sous-unités ont une désensibilisation plus lente de l'activation du récepteur que les récepteurs formés d'une combinaison des versions flip et flop. Des propriétés électrophysiologiques différentes sont alors obtenues par l'assemblage des sous-unités formant le récepteur (Sato, K. et coll.; 1993).

#### 2.1.2. Rôles physiologiques et pathologiques des récepteurs AMPA

N'étant pas voltage-dépendant, la liaison du glutamate au récepteur AMPA provoque l'activation de celui-ci. Un passage des ions, par le canal du récepteur AMPA ouvert, dépolarise la structure post-synaptique. Le récepteur AMPA se trouve responsable de la transmission synaptique de base du neurone glutamatergique.

Lors d'une stimulation de haute fréquence, la dépolarisation par le récepteur AMPA suffit à lever le bloc magnésium voltage-dépendant du récepteur NMDA,

provoquant du même fait l'activation du récepteur NMDA (Monaghan, D.T. et coll.; 1989). Ce phénomène est la base de la formation de la PLT. Toutefois, selon l'hypothèse post-synaptique de la PLT, le maintien de la potentialisation proviendrait d'une régulation à la hausse de la sensibilité du récepteur AMPA par l'activation des lipases endogènes ou autres processus enzymatiques (Massicotte, G. et coll.; 1991). Ce rôle du récepteur AMPA dans le maintien de la PLT reste encore contesté. De plus, une régulation à la hausse de la sensibilité du récepteur AMPA est aussi soupçonnée dans le développement du "kindling", cette hausse pathologique du niveau d'excitabilité du système nerveux (Baudry, M.; 1986).

## 2.2. Les récepteurs kaïnate

Il est plus difficile de différencier les récepteurs kaïnate des récepteurs AMPA, puisque aucun antagoniste spécifique du récepteur kaïnate n'a été développé jusqu'à présent. Certains récepteurs possèdent cependant une haute affinité pour l'<sup>3</sup>H-kaïnate et se retrouve en forte concentration dans les fibres moussues de l'hippocampe.

Il a été montré qu'une fois activé, le récepteur kaïnate favoriserait une relâche de glutamate, d'où son rôle possible dans l'épilepsie. De plus, il a été observé que l'injection d'acide kaïnate possède l'habileté de produire des lésions cellulaires au cerveau, avec un effet proéminent sur l'hippocampe, augmentant ainsi la susceptibilité aux crises épileptiques et procurant un bon modèle animal de crises épileptiques complexes (Ben-Ari, Y. et Gho, M.;1988).

### 2.3. Les récepteurs quisqualate métabotropes

Le récepteur quisqualate métabotrope est lié à une protéine G, impliquant l'intervention d'un second messenger pour permettre l'ouverture des canaux ioniques. La liaison du glutamate au récepteur entraîne l'activation de la protéine G. Activée, elle libère l'une de ses sous-unités ayant lié le guanosine triphosphate (GTP), la sous-unité  $\alpha$ . La liaison de la sous-unité  $\alpha$  à une enzyme active celle-ci de façon à produire un second messenger. Il provoque l'ouverture des canaux ioniques directement ou par l'activation d'une protéine kinase. Une relâche de l'acide arachidonique médiée par la phospholipase D et des variations au niveau de la concentration d'AMPc peuvent aussi résulter de l'activation du récepteur métabotrope pour le glutamate.

Le récepteur quisqualate métabotrope pourrait jouer un rôle au niveau de la plasticité du développement, de la formation de la potentialisation et de la dépression à long terme de la transmission synaptique (DLT) et contribuer au système de protection dans les situations neurodégénératives, suite à une activation glutamatergique excessive (Aronica, E. et coll.; 1991).

### B. Plasticité synaptique de l'hippocampe: Potentialisation à long terme (PLT)

L'hippocampe est une structure située à la bordure des ventricules latéraux et fait partie du système limbique. En plus de son implication dans le développement de l'épilepsie, une attention particulière est portée sur cette structure pour son rôle au niveau de la mémorisation à long terme. La formation hippocampique contient l'hippocampe, le gyrus dentatus et le complexe subiculaire. Il est possible de distinguer quatre zones formant l'hippocampe: la région de la corne d'Ammon (CA) 1,2,3 et 4. La région CA2 forme une zone de transition et la région CA4, le hile du gyrus dentatus. Chaque zone se subdivise par la suite en cinq: l'alvéus, les stratum oriens, pyramidal, radiatum et le stratum lacunosum/moléculaire. Le stratum radiatum contient l'arbre dendritique apical des cellules pyramidales, les afférences Schaffer et commissurales, formant de nombreuses synapses en passant avec les dendrites des cellules pyramidales, le tout selon une organisation lamellaire (Figure 3).

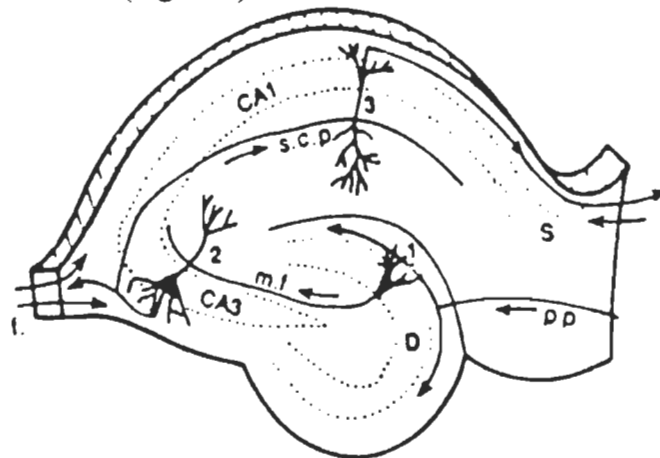


Figure 3. Schéma représentatif des différentes régions de l'hippocampe selon un plan transversal. La structure hippocampique contient l'hippocampe, le gyrus dentatus (D) et la Corne d'Ammon (CA) se divisant en quatre zones de 1 à 4. Chaque zone se subdivisent en cinq: l'alvéus, le stratum oriens, pyramidal radiatum et stratum lacunosum/moléculaire.

La PLT, un renforcement de l'efficacité synaptique suivant une courte période de stimulation à haute fréquence, a donc été proposée comme mécanisme de base du développement des processus d'apprentissage et de mémorisation (Bliss, T.V.P. et Lynch, M.A.; 1988). Cette forme de plasticité synaptique, la PLT, s'exprime seulement à partir de la deuxième semaine de vie du rat (Baudry, M.; 1981). S'observant de façon importante au niveau de l'hippocampe, la PLT peut aussi être observée dans d'autres régions corticales (Bliss, T.V.P. et Collingridge, G.L.; 1993). Les mécanismes de l'induction de la PLT dans la région de l'hippocampe sont plutôt définis alors que les mécanismes responsables du maintien de celle-ci laissent place à de nombreuses interrogations. Nous porterons ici une attention particulière sur les mécanismes responsables de cette forme de plasticité neuronale compte tenu du rôle possible de ces mêmes processus cellulaires dans le développement de l'épilepsie.

### 1. Mécanismes d'induction de la PLT hippocampique

Le cerveau d'un animal en exploration et en apprentissage possède un rythme de 5 à 7 Hz, observé de façon proéminente dans l'hippocampe. Ce rythme, à haute fréquence, est appelé stimulation thêta et est à la base de l'induction de la PLT (Stewart, M. et Fox, S.E.; 1990). Comment se génère alors cette stimulation de haute fréquence?

Les afférences cholinergiques du septum, situées au niveau du neurone glutamatergique, sont responsables de la génération de la stimulation thêta. En effet, les neurones cholinergiques "pacemaker" du septum amènent les interneurones gabaergiques (au niveau des cellules granulaires du gyrus dentatus et des cellules pyramidales de CA1) à



un rythme thêta. Il s'ensuit une activation du récepteur GABA<sub>B</sub> présynaptique, diminuant ainsi la relâche du neurotransmetteur GABA (Mott, D.D. et Lewis, D.V.; 1991). Cette levée de l'inhibition gabaergique sur la structure présynaptique du neurone glutamatergique favorise la construction d'une dépolarisation post-synaptique des cellules granulaires et pyramidales via les récepteurs non-NMDA. La dépolarisation ainsi produite suffit pour soulever le bloc magnésium voltage-dépendant du récepteur NMDA, laissant la voie libre au ions Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> et Ca<sup>+2</sup> pour pénétrer dans la cellule. L'augmentation de calcium intracellulaire ainsi obtenue est à la base du développement de la PLT.

L'hypothèse du phénomène d'induction de la PLT est acceptée de façon générale car un antagoniste des récepteurs GABA<sub>B</sub>, de même que l'AP5, préviennent l'induction de la PLT (Morris, R.G.M. et coll.; 1986). C'est au niveau de l'expression et du maintien de la PLT qu'émergent les controverses.

Par l'activation du récepteur NMDA, la concentration de calcium intracellulaire post-synaptique est augmentée. Alors comment expliquer une augmentation de l'activité synaptique à partir de cette hausse de calcium intracellulaire? Une première hypothèse explique cette hausse de l'activité synaptique par une augmentation de la quantité de glutamate relâché par la structure présynaptique, pour une même stimulation. Ainsi, le calcium active un messenger rétrograde et agit sur la structure présynaptique, augmentant la relâche de glutamate (Bliss, T.V.P.; 1988). Une seconde hypothèse, post-synaptique, explique la hausse de l'activité des synapses par une augmentation de la sensibilité du récepteur AMPA. Ici, le calcium intracellulaire active les enzymes nécessaires à la régulation du récepteur AMPA (Staubli, V. et coll.; 1990). Les hypothèses présynaptique

et post-synaptique tentent, par conséquent, d'expliquer le phénomène, chacune à partir de mécanismes cellulaires différents.

## 2. Hypothèse post-synaptique dans le maintien de la PLT hippocampique

L'hypothèse post-synaptique repose sur une modification durable de la réponse au glutamate par un changement des propriétés du récepteur AMPA. Staubli (1989) proposa qu'une augmentation de la transmission synaptique via le récepteur AMPA, suivant l'induction de la PLT, pourrait être associée à une augmentation de la conductibilité du canal du récepteur AMPA (Figure 4).

Les mécanismes induits par une concentration intracellulaire de calcium élevée, pourraient être potentialisés à l'aide du récepteur métabotrope pour le glutamate. La hausse de calcium intracellulaire activerait le récepteur métabotrope et par conséquent, l'hydrolyse des phosphatidylinositols qui forme de l'inositol triphosphate (IP<sub>3</sub>) induisant la relâche de Ca<sup>+2</sup> des réserves intracellulaires.

Un deuxième effet de la hausse de Ca<sup>+2</sup> serait l'activation d'enzymes calcium-dépendantes. D'ailleurs, Massicotte et Baudry (1991) soutiennent que le calcium intracellulaire provenant de l'ouverture du canal NMDA activerait différentes enzymes calcium-dépendantes, ceux-ci modifiant l'environnement lipidique et/ou la structure du récepteur AMPA. Parmi les enzymes calcium-dépendantes figurent entre autres les phospholipases, les kinases, les lipases et les protéases. Il est cependant important de

noter qu'aucun mécanisme de chacune des hypothèses n'est exclusif et que l'on doit songer à une combinaison possible des processus ou encore à une différence régionale de l'expression de la PLT.

La phospholipase A<sub>2</sub>, une fois activée par le calcium, hydrolyse la membrane phospholipidique induisant la formation et la relâche d'acide arachidonique et de différents métabolites comme le facteur d'activation plaquettaire (FAP). L'hydrolyse des phospholipidiques membranaires jouerait un rôle au niveau de la réorganisation de la composition et/ou de la distribution des lipides adjacents au récepteur AMPA, modifiant ainsi à la hausse la sensibilité du récepteur (Marcheselli, V.L. et coll.; 1990). Le FAP, lui, se lierait à ses nombreux récepteurs situés sur la membrane synaptique. Leur activation provoque la stimulation de la PLA<sub>2</sub> et la relâche de calcium. Lynch et ses

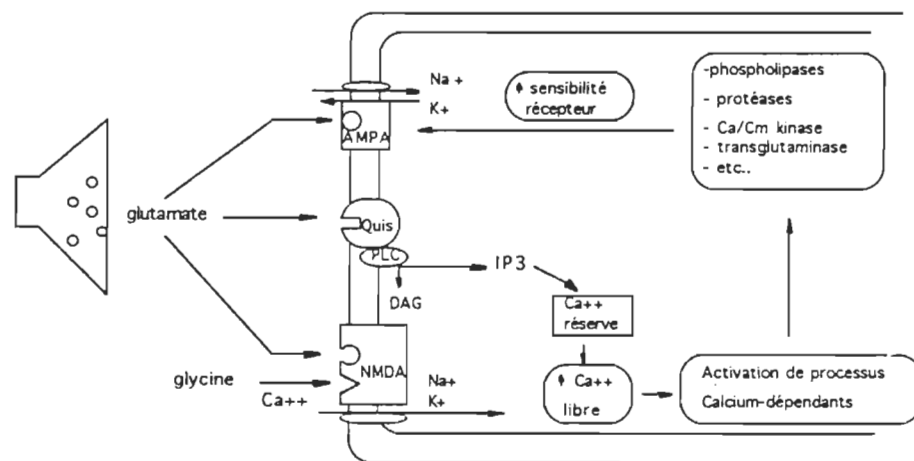


Figure 4. Représentation schématique de l'hypothèse post-synaptique expliquant le maintien de PLT hippocampique. Une fois le bloc voltage-dépendant du magnésium levé, le glutamate relâché se lie au récepteur NMDA permettant l'entrée du Ca<sup>++</sup>. Le calcium intracellulaire active des enzymes calcium-dépendantes et modifie à la hausse la sensibilité du récepteur AMPA.

collaborateurs appuyèrent ce concept en reportant que les antagonistes du FAP, empêchant la stimulation de la PLA<sub>2</sub> et la relâche de calcium, préviennent l'induction de la PLT au niveau de la région hippocampique CA1. Les kinases Ca<sup>+2</sup>/calmoduline dépendantes et la protéine kinase C peuvent aussi jouer un rôle dans la PLT (Bliss, T.V.P. et Collingridge, G.L.; 1993). La protéine kinase II Ca<sup>+2</sup>/calmoduline dépendante, une protéine majeure de la structure post-synaptique, subit une autophosphorylation qui peut modifier à long terme la fonction du récepteur AMPA. La calpaïne a été vérifiée comme prévenant la formation de la PLT et la détérioration de l'apprentissage de l'animal. L'ensemble des enzymes calcium-dépendantes mentionnées plus haut contribue à la modification de l'environnement lipidique du récepteur AMPA.

Le rôle exact joué par les enzymes calcium-dépendantes n'est pas défini. Cependant, le lien direct entre l'activation du récepteur NMDA et la modification du récepteur AMPA semble véritable. Une augmentation de la réponse AMPA après induction de la PLT est observée, et ce phénomène est bloqué par l'application d'AP5. Dans le même ordre d'idée, Tocco et collaborateurs (1992) démontra une augmentation du taux de liaison de l'<sup>3</sup>H-AMPA spécifique à la région CA1 et non CA3, après une induction de PLT in vivo, cette hausse n'étant pas observée dans la région CA3.

Nous avons mentionné plus tôt que le développement de certains modèles d'épilepsie chez l'animal résultait d'une activité des récepteurs NMDA, lesquels pouvant entraîner, via l'augmentation de la concentration de calcium dans la structure post-synaptique, une activation des processus cellulaires menant aux modifications des récepteurs AMPA dans l'épilepsie.

Pour plusieurs chercheurs, l'activation des récepteurs NMDA pour le glutamate représente un mécanisme commun pour l'induction des phénomènes de plasticité neuronale sous-jacente à la mémoire et, ironiquement, à l'induction de divers processus pathologiques comme l'épilepsie (Baudry; 1986, Mody; 1987). À savoir si, tout comme dans la PLT, des modifications des propriétés de liaison et/ou de régulation des récepteurs AMPA participeraient au développement et au maintien de phénomènes pathologiques comme l'épilepsie, n'ont pas encore été étudiés.

## 2. HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS

Le fonctionnement physiologique et pathologique du système nerveux central implique donc une participation des fonctions de l'hippocampe tant au niveau du maintien de la mémoire que de son pouvoir intrinsèque de réduction de la propagation des décharges épileptiques. Une hausse de la fonction excitatrice des neurones glutamatergiques de l'hippocampe par la PLT semble similaire aux mécanismes cellulaires sous-jacents au développement des processus épileptiques (Baudry, M. ;1986). Les récepteurs au glutamate, retrouvés en grand nombre dans l'hippocampe, sont impliqués dans l'induction et le maintien de ces phénomènes. Ainsi, le récepteur NMDA pour le glutamate contribue à l'induction des mécanismes impliqués dans le développement de ces phénomènes par une augmentation de la concentration de calcium à l'intérieur de la structure post-synaptique. Cette hausse de calcium intracellulaire contribue par la suite à une modification fonctionnelle et/ou biochimique du récepteur AMPA (Massicotte, G. et Baudry, M.; 1990).

Dans notre laboratoire, nous avons proposé que l'activation d'un système enzymatique telles les phospholipases modifierait à la hausse l'affinité du récepteur AMPA, afin de permettre le maintien de la PLT hippocampique. De nombreuses évidences supportent cette hypothèse. Dans un premier temps, il a été rapporté que le traitement de membranes synaptiques par une PLA<sub>2</sub> exogène augmente l'affinité du récepteur AMPA pour ses agonistes (Massicotte, G. et Baudry, M.; 1990). De plus, il fut démontré que la PLA<sub>2</sub> exogène perd sa capacité à modifier l'affinité du récepteur AMPA, dans deux situations où l'on observe une perte de la capacité de l'hippocampe à exprimer

le phénomène de la PLT en l'occurrence, durant la période post-natale chez le raton et chez les rats adultes ayant expérimenté une période intense de convulsions.

Considérant que le maintien de la PLT partage possiblement des mécanismes communs avec le développement de l'épilepsie, nous avons voulu vérifier si des altérations électrophysiologiques (PLT) et biochimiques des propriétés des récepteurs AMPA pour le glutamate soustenaient le développement de l'épilepsie de type audiogène chez les souris DBA (Dilute Brown Agouti). Par les techniques d'autoradiographie quantitative et la technique conventionnelle d'électrophysiologie sur tranches d'hippocampes, nous avons évalué, d'une part, le niveau de régulation du récepteur AMPA par la PLA<sub>2</sub> exogène et, d'autre part, le degré de potentialisation neuronale chez des souris prédisposées et résistantes à l'épilepsie de type audiogène. Le choix de ce modèle repose principalement sur le fait qu'il a été démontré que la structure hippocampique détermine le niveau d'activité épileptique chez cette souche de souris (Reid et coll.; 1983). L'ensemble de notre étude montre que les modifications des récepteurs AMPA pour le glutamate par les phospholipases endogènes pourraient constituer un mécanisme commun à l'expression des phénomènes physiologiques et pathologiques de plasticité neuronale. Plus particulièrement, nous montrons que la susceptibilité à l'épilepsie des souris prédisposées à l'épilepsie de type audiogène est reliée à une augmentation du niveau de la PLT et que ce modèle de plasticité synaptique nécessite un rôle crucial de la PLA<sub>2</sub> endogène pour son maintien.

### 3. MATÉRIEL ET MÉTHODES

#### 3.1. Électrophysiologie: Préparation des coupes d'hippocampe

Des coupes d'hippocampe sont préparées selon la technique préalablement établie par Massicotte et coll. à partir des souris C57BL/6J et DBA/2J. Des coupes transversales d'environ 450  $\mu\text{m}$  d'épaisseur sont placées rapidement dans une chambre à interface et perfusées à 1,0 ml/min. avec du liquide cérebrospinal artificiel. Ce liquide est composé de NaCl à 124mM, du KCl à 3mM, du  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  à 1,25 mM, du  $\text{MgSO}_4$  à 2,5 mM, du  $\text{CaCl}_2$  à 3,4 mM, du  $\text{NaHCO}_3$  à 26mM, du glucose à 10mM et du L-ascorbate à 2 mM.

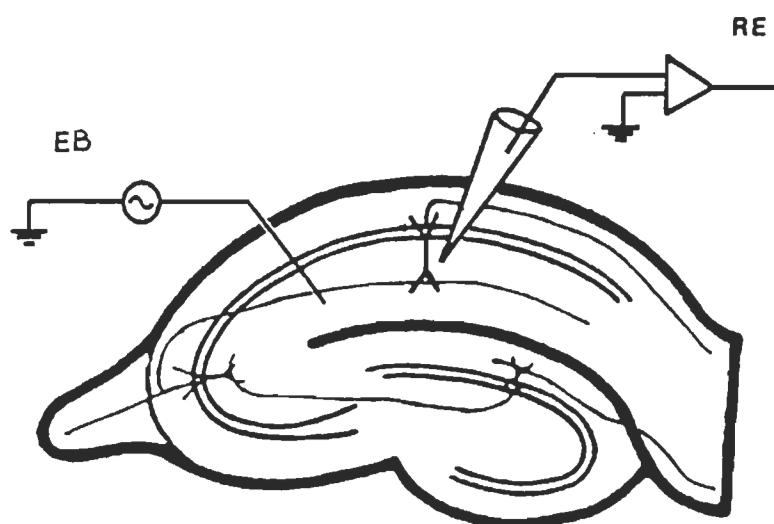


Figure 5. Schéma représentatif du modèle expérimental. Une électrode d'enregistrement (RE) est positionnée dans le stratum radiatum de la région CA1 de l'hippocampe et enregistre l'ensemble des PPSEs évoqués par l'électrode bipolaire (EB) activant les fibres afférentes Schaffer commissurales.



Les coupes sont maintenues à 35°C et oxygénées avec 95 % d'O<sub>2</sub>/5% de CO<sub>2</sub>. Après une période d'équilibration de 1 heure, une électrode d'enregistrement (RE) en verre (1-5 MΩ emplie de 2 M de NaCl) est positionnée dans le stratum radiatum de la région CA1 de l'hippocampe (voir Figure 5). Cette électrode enregistre l'ensemble de la population de potentiels post-synaptiques excitateurs évoqués par l'électrode bipolaire (EB) (nichrome 60 µm enroulé) activant les fibres afférentes Schaffer commissurales. Les PPSEs évoqués par une stimulation simple, ou sous forme de bouffées thêta (BT) [ 10 trains de 4 pulsations à 100 Hz, donnés à une fréquence de 5Hz (Larson et Lynch; 1988)] sont enregistrés par l'ordinateur pour en faire une analyse subséquente. La valeur de la pente descendante du PPSE est calculée et enregistrée.

### 3.2. Autoradiographie quantitative

#### 3.2.1 La préparation des tissus

Les souris prédisposées génétiquement à l'épilepsie de type audiogène (DBA/2J) ont des crises motrices apparaissant en réponse à un son entre 90 et 120 décibels, émit à une fréquence de 10 à 20 kHz. On assiste alors à une période de latence suivie d'une course sauvage de l'animal, le tout se terminant en crises toniques et/ou cloniques.

Les souris C57BL/6J et DBA/2J sont tenues dans un cycle de 12 heures diurnes, avec nourriture et eau *ad libitum*. Les souris non-traitées et n'ayant subi aucune crise épileptique, ont été sacrifiées et leur cerveau rapidement extrait et congelé dans

l'isopentane (méthyl butane) à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Jusqu'au moment de la coupe, les cerveaux sont gardés à  $-70^{\circ}\text{C}$ . Des coupes horizontales de cerveau sont effectuées dans un cryostat Cryocut 1800 de Leica (à  $-15^{\circ}\text{C}$ ) et montées par fonte de la coupe sur une lame préalablement gélatinée au chrome-alum. Des sections adjacentes de cerveau furent pré-incubées, à  $35^{\circ}\text{C}$ , dans le tampon Tris-acétate (100 mM, pH 7,4) contenant 100  $\mu\text{M}$  d'EGTA et 4 mM de calcium acétate, avec ou sans PLA<sub>2</sub> (0,5  $\mu\text{g/ml}$ ). Après un lavage rapide dans le tampon Tris-acétate froid, les coupes furent incubées avec du  $^3\text{H}$ -AMPA.

### 3.2.2 Incubation en présence de $^3\text{H}$ -AMPA

Les sections furent incubées durant une période de 45 minutes, à  $0^{\circ}\text{C}$ , dans du tampon Tris-acétate (50mM, pH 7,4) contenant 100  $\mu\text{M}$  d'EGTA, 50 mM de potassium thiocyanate et du  $^3\text{H}$ -AMPA à 75 nM( 46 Ci/mol, NEN-Dupont). La liaison non-spécifique fut déterminée comme étant celle du  $^3\text{H}$ -AMPA en présence de 1mM de quisqualate (Tocco et al.; 1992). Les coupes furent ensuite rincées deux fois dans le tampon Tris-acétate, dix secondes, et une autre fois durant cinq secondes dans le tampon à demi dilué. Les lavages sont suivis de trois "trempettes" dans l'eau distillée. Les coupes furent ensuite séchées rapidement sous un jet d'air chaud.

Les coupes sèches ainsi que le standard au tritium (Amersham, microscaler) furent exposés à un film sensible au tritium (Amersham Hyperfilm) durant 10 à 15 jours. Les films furent alors traités avec du développeur et du fixateur Kodak GBX. L'analyse densitométrique a été effectuée par un système d'analyse d'image (Imaging Research,

MCID). Les images digitalisées ont été visualisées en noir et blanc, ainsi qu'en pseudo-couleur sur un écran couleur à haute résolution.

Différentes régions du cerveau furent analysées. L'hippocampe fut divisé en ses régions CA1 et CA3, chacune sous-divisée en stratum radiatum et stratum oriens. La couche moléculaire du gyrus dentatus fut aussi analysée. Les autres régions d'intérêt incluent les couches externes (I-III) et les couches internes (III-IV) du cortex pariéto-temporal, le néostriatum, les couches granulaire et moléculaire du cervelet et le thalamus. La courbe étalon provenant des standards au tritium fut utilisée afin de convertir la lecture de différents niveaux de gris (se lisant en pmol/mg de protéines). La densité optométrique significative a été mesurée à partir de 6 à 8 sections par région, par souris. Pour chaque traitement, la liaison non-spécifique fut déterminée. Par soustraction de la liaison non-spécifique à la liaison totale, la liaison spécifique fut obtenue. L'analyse des données se fit en utilisant un logiciel d'analyse statistique (CSS de Statsoft). Une analyse de variance pour groupes multiples (Anova) fut aussi utilisé, suivi d'une analyse post-hoc Scheffé avec, comme critère significatif, une valeur de  $p < 0,05$ .

## 4. RÉSULTATS

### 4.1. La potentialisation à long terme chez les souris C57BL/6J et les DBA/2J

Les coupes d'hippocampe des deux souches de souris ont été perfusées durant une période de 2 à 3 heures, à l'aide d'une solution artificielle de liquide cébrospinal. Par la suite, les coupes furent stimulées à haute fréquence sur les fibres Schaffer commissurales de la région CA1. La stimulation de bouffées thêta (SBT) a été utilisée afin de provoquer l'induction de la PLT. Au cours de l'expérimentation, les réponses cellulaires furent testées à 30 secondes d'intervalle, au moins 10 minutes avant la SBT. Suite à cette stimulation, les réponses ont été enregistrées pendant une période de 25 minutes et la pente initiale calculée pour chacune des enveloppes de PPSE. La stimulation de bouffées thêta appliquée sur les coupes d'hippocampe a produit, chez les deux souches de souris, une augmentation initiale de la pente initiale des PPSEs, suivie d'une diminution progressive de cette pente sur une période de 15 minutes. Suivant cette potentialisation à court terme, l'amplitude de la réponse demeure stable et durable tout au long de l'expérience. Une moyenne de quatre réponses cellulaires, à 2,0 et 25 minutes après la SBT, a été effectuée afin de comparer respectivement la potentialisation initiale et celle à long terme. Comme il est démontré à la figure 6, on remarque une hausse au niveau de l'augmentation de la pente des PPSEs, pour les réponses post-synaptiques associées à la courte potentialisation chez les souris DBA/2J. Ainsi, des valeurs de courte potentialisation de  $158 \pm 20$  % pour les souris DBA/2J et de  $101 \pm 12$  % pour les souris C57BL/6J sont obtenues ( $n=7$ ,  $p<0,05$ ).

Tableau 1

Caractéristiques électrophysiologiques de la région CA1 de l'hippocampe chez les souris sensibles (DBA) et résistantes (C57BL) à l'épilepsie audiogène.

Caractéristiques électrophysiologiques	Souches de C57BL	souris DBA
Facilitation par stimulation double	50±5 %	47±7 %
Potentialisation immédiate (5 sec)	60±5 %	65±5 %
Potentialisation à court terme (2,5 min)	101±12%	158±20 % *
Potentialisation à long terme (25 min)	45±6 %	87±12 % *

\* signifie une différence statistique significative des données par rapport aux résultats des souris C57BL ( $p < 0,05$ ).

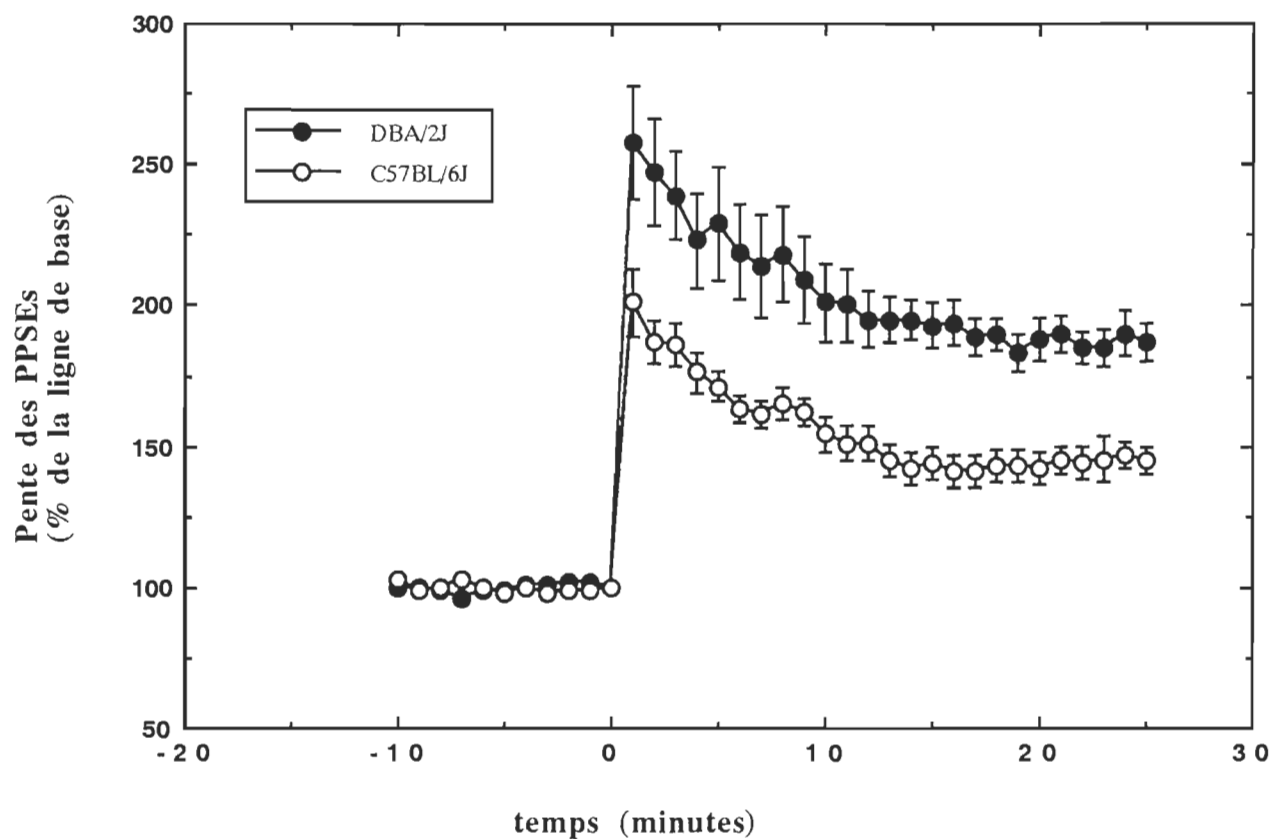


Figure 6. PLT chez les souris sensibles (DBA/2J) et chez les souris résistantes (C57BL/6J) à l'épilepsie de type audiogène

Les données sont exprimées en pourcentage de la valeur de base. La flèche indique à quel moment la SBT a été appliquée.

Une hausse significative, au niveau de la PLT, a été également observée chez les souris sensibles à l'épilepsie audiogène DBA/2J ( $87 \pm 12$  %,  $n=7$ ) comparée aux souris résistantes à l'épilepsie audiogène C57BL/6J ( $45 \pm 6$  %,  $n=7$ ).

La facilitation par stimulation double, dont l'effet est clairement dû à une augmentation de la relâche du neurotransmetteur, a été étudiée sur différentes synapses, incluant celle de l'hippocampe. Il a été démontré que les facteurs influençant la relâche de neurotransmetteur, tels que la potentialisation post-tétanique ainsi que des changements de concentration de calcium et de magnésium, affectent cette forme de facilitation synaptique (Staubli et coll.; 1990; Zaluski et Nicoll; 1990). En utilisant cette approche, nous avons donc évalué ce paramètre de la fonction présynaptique chez les souris C57BL/6J et les DBA/2J. Le degré de facilitation par stimulation double a été déterminé pour un intervalle entre deux pulsations de 50 ms. Aucune modification du pourcentage d'augmentation de la facilitation par stimulation double n'a été obtenue pour cet intervalle ( $50 \pm 5$  % pour les C57BL/6J par rapport à  $45 \pm 7$  % pour les DBA/2J,  $n=7$ ). Il est donc peu probable qu'une modification de la fonction présynaptique soit présente chez les souris DBA/2J et qu'elle soit à l'origine de la hausse du niveau de la PLT chez ces souris.

Des études précédentes ont démontré que toutes les formes de potentialisation durant plus de 5 secondes après la SBT sont dues à l'activation des récepteurs NMDA (Larson et Lynch; 1988). Nous avons mesuré la pente des PPSEs 20 secondes après la SBT et n'avons trouvé aucune différence significative entre les deux souches de souris ( $60 \pm 5$  % pour les C57BL/6J et  $65 \pm 5$  % pour les DBA/2J,  $n=7$ ). Ces résultats suggèrent donc une activation similaire des récepteurs NMDA durant la SBT chez les deux souches

de souris. L'ensemble des données électrophysiologiques sont résumés au tableau 1. Nos résultats démontrent que l'augmentation de l'amplitude de la PLT chez les souris DBA/2J provient de la modification d'une étape cellulaire subséquente à l'activation des canaux ioniques NMDA, l'étape critique nécessaire pour l'induction de ce phénomène de plasticité neuronale. Par conséquent, nous proposons qu'une altération des processus biochimiques responsables du maintien de la PLT survient chez les souris DBA.

#### 4.2. Modulation de la liaison au $^3\text{H}$ -AMPA après traitement à la phospholipase A<sub>2</sub>

De nombreuses évidences expérimentales ont été recueillies concernant le rôle probable des phospholipases dans la régulation des récepteurs AMPA pour le maintien de la PLT hippocampique (Massicotte et coll.; 1990-91-92). Par exemple, le traitement à la phospholipase A<sub>2</sub> exogène des membranes synaptiques du télencéphale et des coupes de cerveau produit une preuve de l'affinité du récepteur AMPA pour ses agonistes tritiés. De plus, cette perte de modulation du récepteur AMPA par la PLA<sub>2</sub> est normalement accompagnée par une incapacité de la structure hippocampique à exprimer la PLT. Nous avons voulu vérifier ici si cette capacité accrue de la région CA1 de l'hippocampe à exprimer la PLT chez les souris DBA est associée à une altération des mécanismes biochimiques modulant les récepteurs AMPA pour le glutamate.

Des sections horizontales de cerveau adjacentes des deux souches de souris ont été préincubées avec 4 mM de calcium-acétate, en présence ou en absence de 0,5 µg/ml de PLA<sub>2</sub> (provenant du pancréas de porc). Les coupes adjacentes ont alors été incubées avec de l' $^3\text{H}$ -AMPA et soumises à une analyse d'autoradiographie quantitative. La figure 7 représente un autoradiogramme des hippocampes obtenu avec (A-B) et sans (C-D)



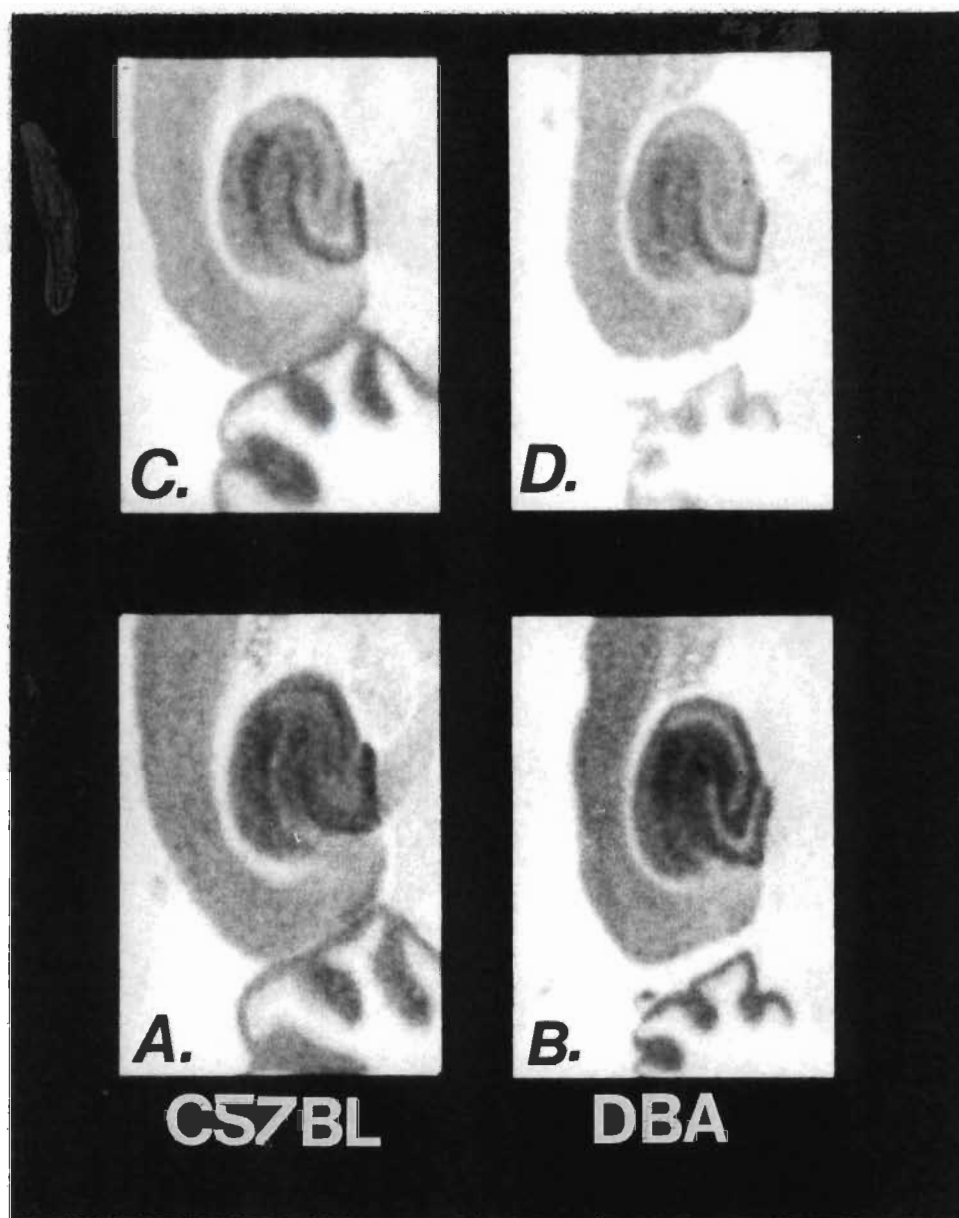


Figure 7. Modulation du récepteur AMPA par une PLA<sub>2</sub> exogène sur coupes minces de cerveau de souris DBA/2J. Préincubation avec (A et B) et sans (C et D) 0,5 µg/ml de PLA<sub>2</sub> pour une durée de 45 minutes. Une augmentation du taux de liaison du récepteur AMPA est observée chez les coupes préincubées à la PLA<sub>2</sub>. Les souris DBA montrent une augmentation du taux de liaison plus élevé que les souris C57Bl.

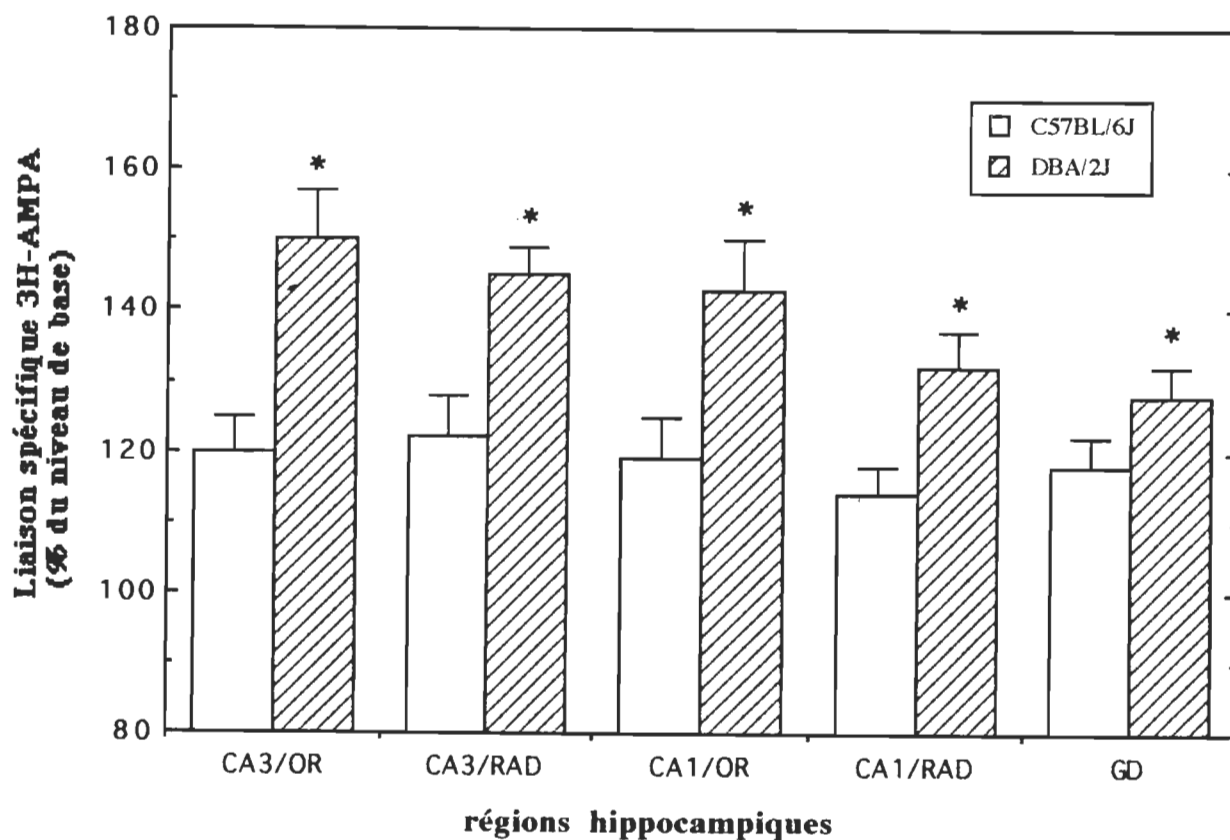


Figure 8. Liaison du  $^3\text{H}$ -AMPA à son récepteur membranaire sur des coupes minces de souris DBA/2J avec préincubation à la PLA<sub>2</sub> pour les différentes régions de l'hippocampe.

GD: couche moléculaire du gyrus dentatus.

OR: stratum oriens.

RAD: stratum radiatum.

\* différence statistique significative p/r aux valeurs contrôles.

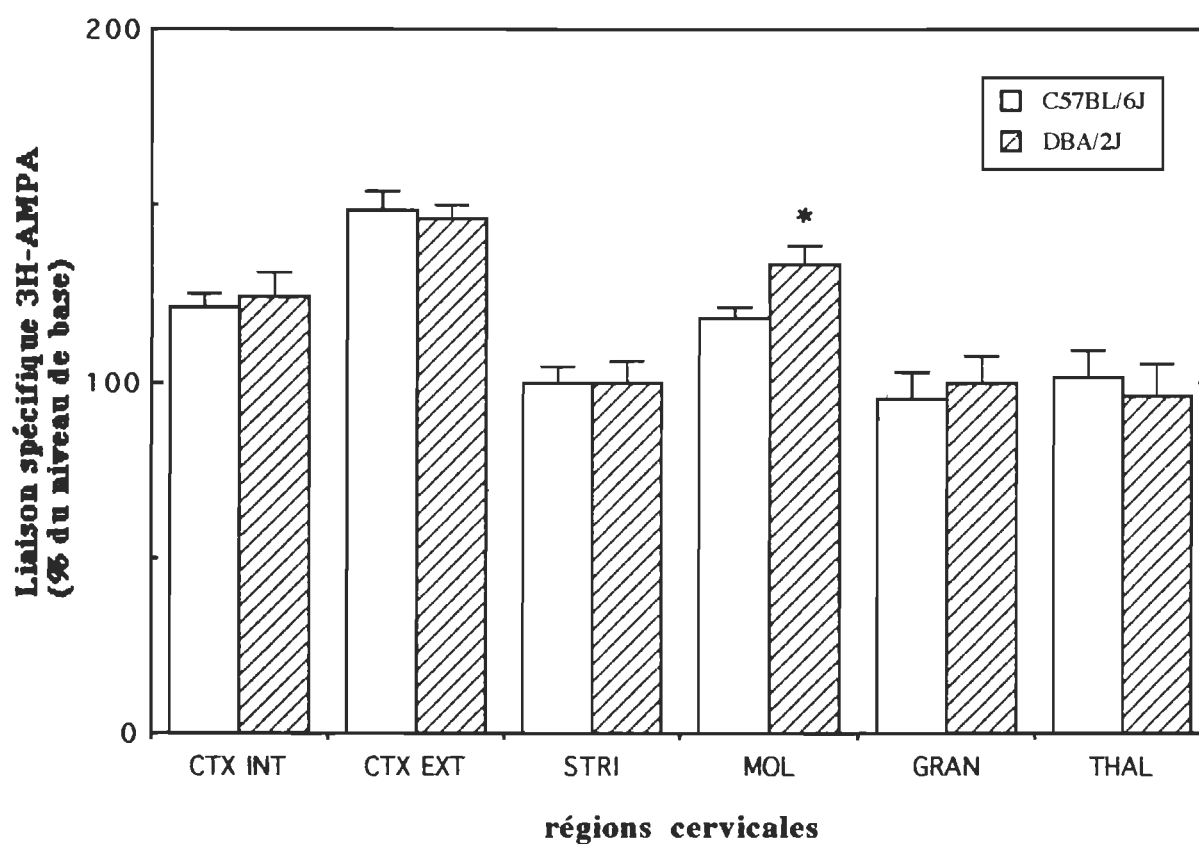


Figure 9. Liaison du 3H-AMPA à son récepteur membranaire sur des coupes minces de souris DBA/2J avec préincubation à la PLA<sub>2</sub> pour les différentes régions cérébrales.

CTX: couches internes du cortex.      CTX EXT: couches externes du cortex.

STRI: striatum.

MOL: couche moléculaire du cervelet.

GRAN: couche granulaire du cervelet.

THAL: thalamus.

\* indique une différence statistique significative p/r aux valeurs contrôles.

préincubation à la PLA<sub>2</sub> chez les deux souches de souris C57BL/6J et DBA/2J. Les résultats indiquent clairement une hausse de la liaison du <sup>3</sup>H-AMPA au récepteur AMPA, après un prétraitement à la PLA<sub>2</sub>. L'analyse quantitative démontre une hausse de la liaison du <sup>3</sup>H-AMPA due au traitement à la PLA<sub>2</sub> exogène dans l'ensemble des régions de l'hippocampe (Figure 8). À la figure 9, les différentes parties cérébrales étudiées telles le striatum, le thalamus, la couche granulaire du cervelet, présentent une hausse de la liaison du <sup>3</sup>H-AMPA au récepteur AMPA. Cependant, une élévation de la liaison est observée de façon plus déterminante pour les couches externes du cortex pariéto-temporal. La hausse de la liaison au <sup>3</sup>H-AMPA provoquée par le traitement à la PLA<sub>2</sub> exogène est observée de façon plus significative dans les régions CA1 et CA3 de l'hippocampe et dans la couche moléculaire du cervelet, chez la souche de souris DBA/2J par rapport à la souche C57BL/2J.

Chez ces deux souches de souris, la liaison de base (à 0°C) du <sup>3</sup>H-AMPA (Figure 10), pour les mêmes régions de l'hippocampe, ne présente aucune différence significative du taux de liaison (Figure 11). Au niveau des régions du cerveau étudiées, aucune différence significative du taux de liaison n'est observée (Figure 12). Ceci suggère que la hausse de la liaison observée ne peut être due à une modification préalable du récepteur AMPA et de ses propriétés de liaison chez les souris prédisposées génétiquement à l'épilepsie de type audiogène.

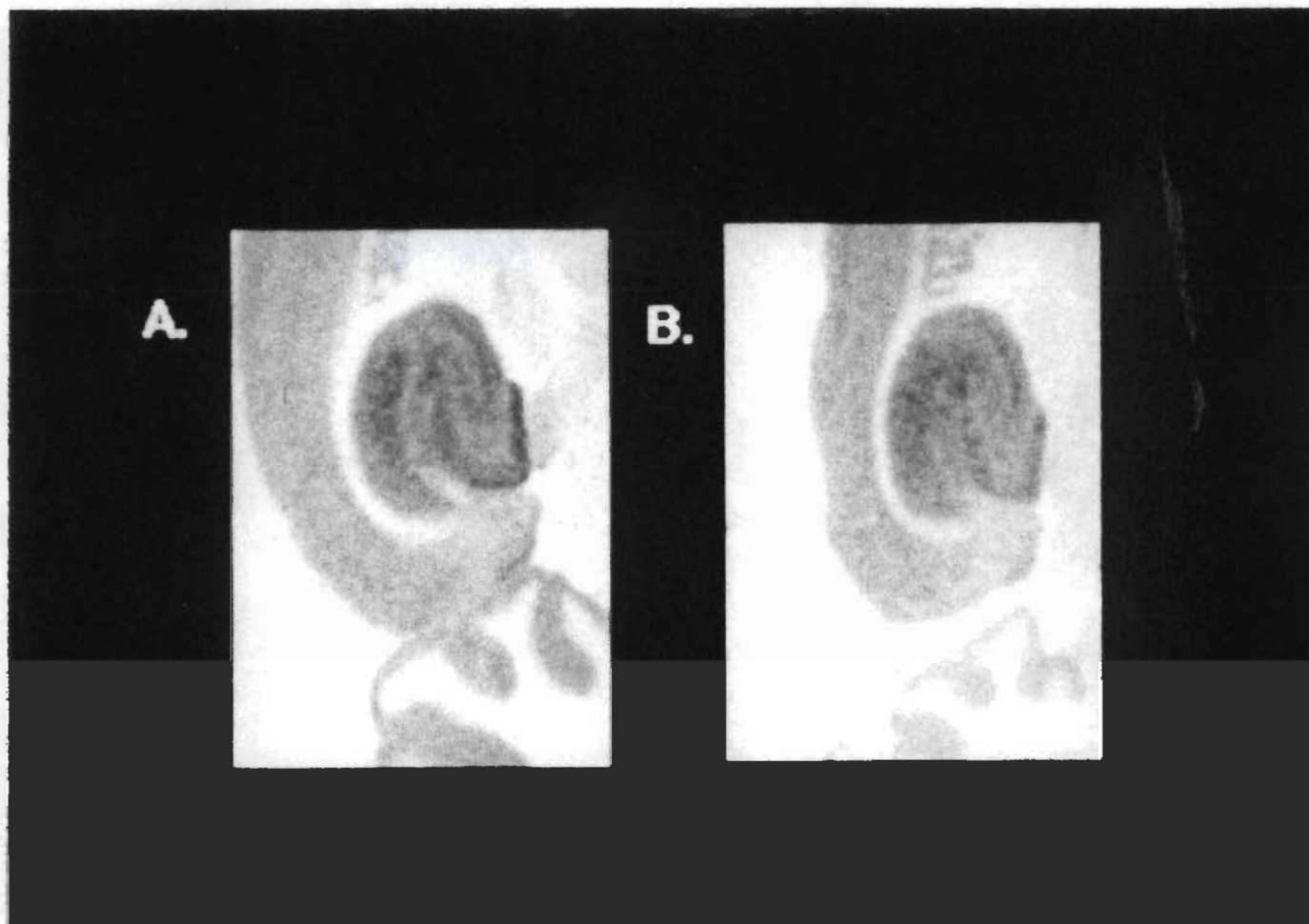


Figure 10. Autoradiogramme montrant la liaison de base du  $^3\text{H}$ -AMPA à son récepteur membranaire. (A: C57BL, B: DBA) Aucune différence significative du taux de liaison du récepteur AMPA n'est observé à  $0^\circ\text{C}$ .

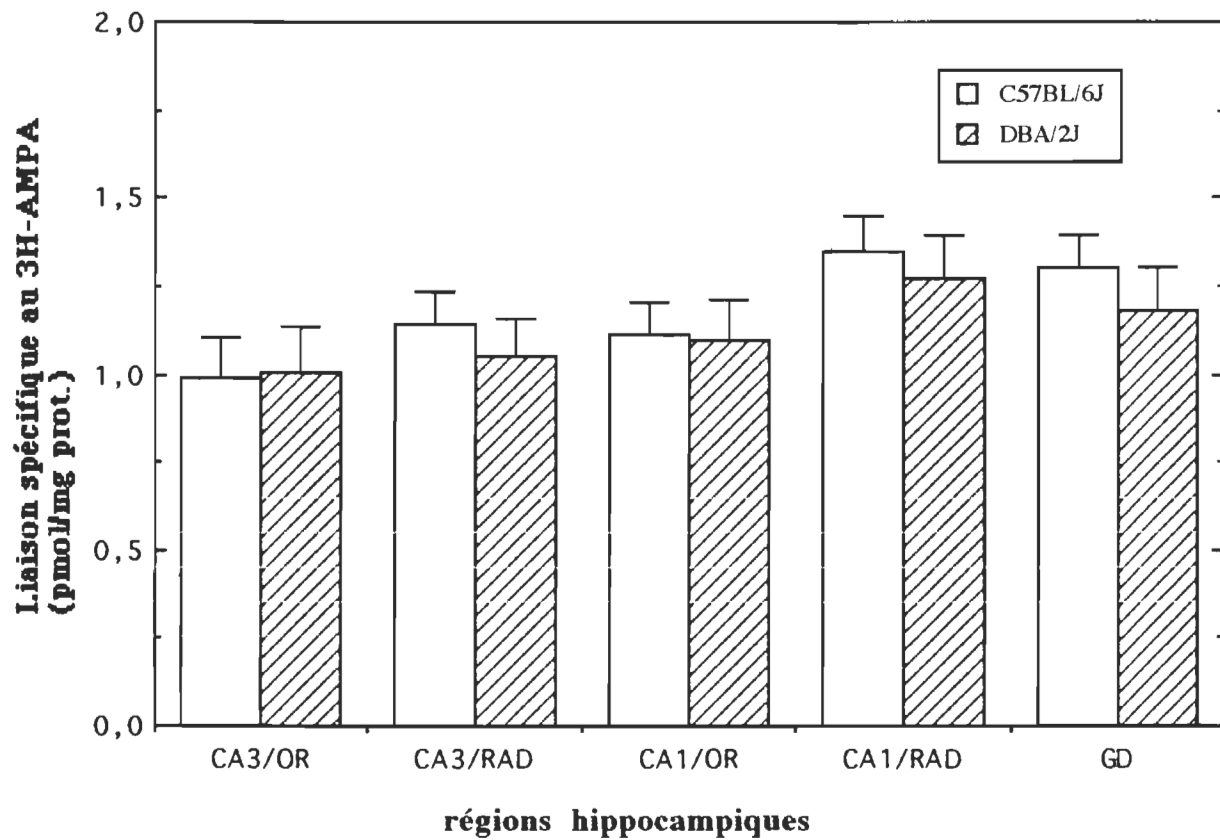


Figure 11. Liaison de base du  $^3\text{H}$ -AMPA à son récepteur membranaire sur des coupes minces de souris DBA/2J dans les différentes régions de l'hippocampe.

GD: couche moléculaire du gyrus dentatus.

OR: stratum oriens.

RAD: stratum radiatum.

CA: Corne d'Amon

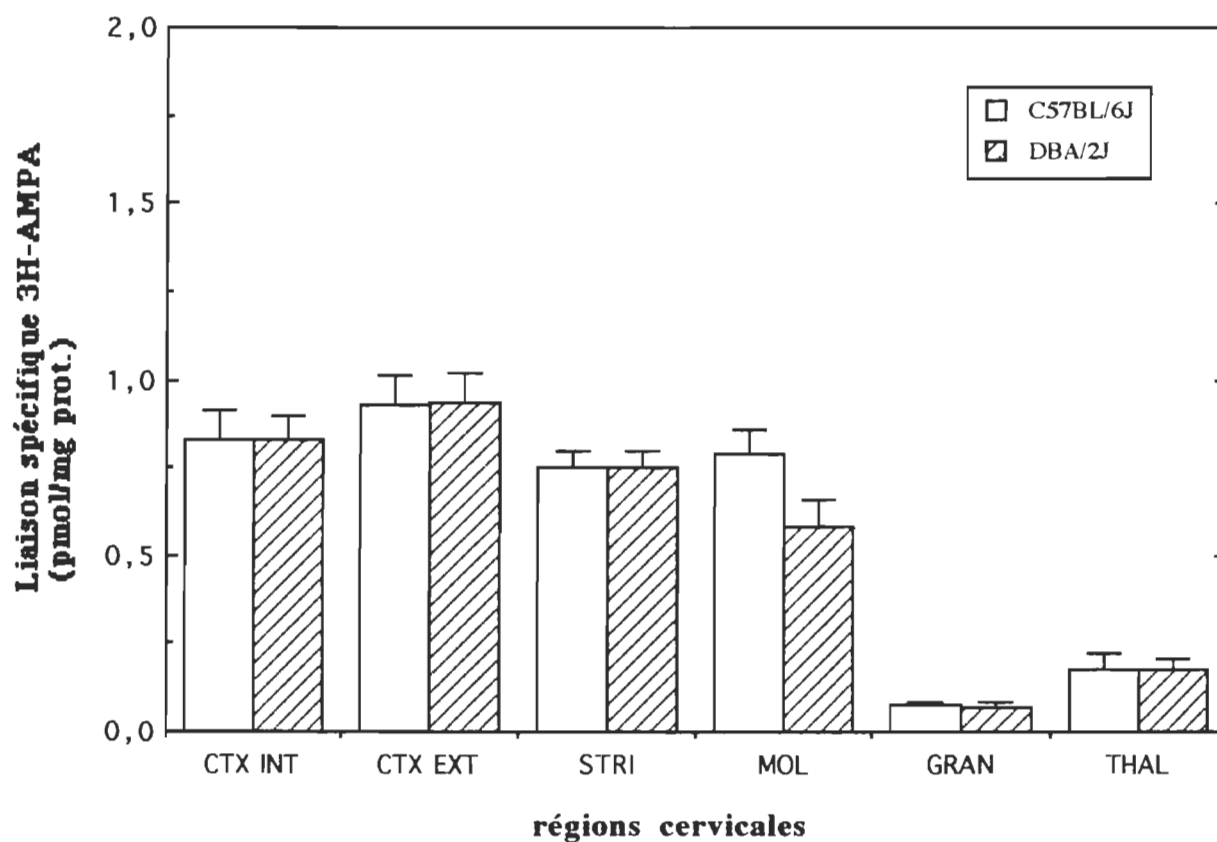


Figure 12. Liaison de base du  $^3\text{H}$ -AMPA à son récepteur membranaire sur des coupes minces de souris DBA/2J pour les différentes régions cérébrales.

CTX: couches internes du cortex.	CTX EXT: couches externes du cortex.
STRI: striatum.	MOL. couche moléculaire du cervelet.
GRAN: couche granulaire du cervelet.	THAL: thalamus.

## 5. DISCUSSION

À l'aide de ces résultats, il nous est possible d'appuyer les hypothèses préalablement postulées, soient la PLT comme modèle de plasticité synaptique et le rôle crucial de la phospholipase A<sub>2</sub> pour le maintien de cette plasticité synaptique. L'étude présente indique donc une amplification importante de la valeur de la PLT induite dans la région CA1 des coupes d'hippocampe chez les souris DBA/2J sensibles à l'épilepsie audiogène. La hausse de l'ampleur de la PLT, chez les souris DBA/2J, ne semble pas résulter de modifications des propriétés physiologiques des coupes d'hippocampe. Cette hypothèse repose sur deux observations. Premièrement, la facilitation par stimulation double observée chez les deux souches de souris est identique. La similitude des réponses à la facilitation par stimulation double amène l'évidence qu'aucune modification de la relâche du neurotransmetteur pour les souris DBA/2J n'a eu lieu. Deuxièmement, l'ampleur de la potentialisation post-tétanique immédiate, 20 secondes suivant la SBT, s'avère identique chez les deux souches de souris. L'ampleur de cette potentialisation post-tétanique reflète directement le niveau d'activation du récepteur NMDA. Ces données spécifiques concernant la potentialisation immédiate viennent confirmer que les différences observées au niveau de l'ampleur de la PLT chez les souris DBA/2J ne reposent pas sur une hausse de la relâche de neurotransmetteur ou sur une augmentation de l'activation du récepteur NMDA. L'ensemble des résultats obtenus suggère fortement une modification des processus cellulaires suivant l'activation des canaux ioniques associés aux récepteurs NMDA.



Dans la région CA1 de l'hippocampe, l'activation du récepteur NMDA ainsi que la hausse de la concentration de calcium à l'intérieur de la structure post-synaptique sont deux étapes essentielles à l'induction et à l'expression de la PLT. De plus, une modification de l'affinité des récepteurs AMPA pour le glutamate fut proposée comme mécanisme responsable de l'expression de la PLT (Baudry, M. et Massicotte, G.; 1992). Appuyant cette hypothèse, sont les études rapportant une hausse de la liaison du  $^3\text{H}$ -AMPA à son récepteur. Conformément aux résultats de Tocco et coll. (1992), nous avons démontré que le traitement à la PLA<sub>2</sub> des coupes de cerveau est associé, tout comme pour la PLT, à une hausse de la liaison du  $^3\text{H}$ -AMPA dans diverses structures cérébrales. Cette hausse de liaison du  $^3\text{H}$ -AMPA par l'action de la PLA<sub>2</sub> est plus marquée dans les régions CA1 et CA3 de l'hippocampe des souris prédisposées génétiquement à l'épilepsie audiogène comparée à celles des souris témoins à ce type d'épilepsie. L'action plus marquée de la PLA<sub>2</sub> sur les récepteurs AMPA des souris DBA/2J semble relativement sélective à l'hippocampe. L'élévation de la liaison du  $^3\text{H}$ -AMPA au récepteur AMPA dans les autres régions analysées tels le cortex, le striatum et le thalamus est similaire chez les deux souches de souris. Il nous est donc possible de relier cette hausse de la liaison au récepteur AMPA via l'action de la PLA<sub>2</sub> à la différence d'ampleur de la PLT observée chez les souris DBA/2J. Ces données sont aussi compatibles avec des études effectuées précédemment dans notre laboratoire. Par exemple, la PLT est aussi absente chez les rats ayant subi des crises épileptiques sévères suite à l'injection d'acide kaïnate, de même que chez les rats en développement. Lors de ces deux situations, un traitement des membranes à la PLA<sub>2</sub> n'augmente plus le taux de liaison du  $^3\text{H}$ -AMPA au récepteur AMPA (Baudry, M. et coll., 1991; Massicotte, G. et coll.; 1992). Ces résultats sont donc en faveur de l'hypothèse concernant le rôle de la PLA<sub>2</sub> au niveau d'une modulation du récepteur AMPA comme étape nécessaire pour la formation et le maintien de la PLT.

Appuyant cette hypothèse, les résultats démontrent la prévention de la formation de la PLT suivant la stimulation de bouffées thêta des afférences Schaeffer commissurales de la région CA1, par un traitement des coupes d'hippocampe aux inhibiteurs de la PLA<sub>2</sub> (Massicotte, G. et coll.; 1990b). Par conséquent, il est raisonnable de proposer qu'une modification des propriétés des récepteurs AMPA par l'action de la PLA<sub>2</sub> puisse constituer une composante importante de l'expression et du maintien de la potentialisation à long terme au niveau de l'hippocampe. Mieux comprendre les bases de ces changements pourra nous permettre d'établir plus spécifiquement les différents mécanismes impliqués dans cette expression de la PLT.

Les souris DBA/2J ont été particulièrement étudiées pour leur susceptibilité au déclenchement des crises épileptiques de type audiogène. Chez ces souris, la modification de la sensibilité des récepteurs AMPA par l'action de la PLA<sub>2</sub> pourrait avoir un impact fonctionnel sur la capacité de l'hippocampe à induire les crises audiogènes. Des lésions effectuées sur l'hippocampe de rongeurs ont démontré une hausse de la susceptibilité et une diminution du temps de latence aux crises épileptiques audiogènes, supposant une fonction inhibitrice naturelle du déclenchement des crises accompli par le système limbique (Reid, H.M. et coll.; 1983). De plus, des études effectuées *in vitro* ont démontré une résistance de la part du gyrus dentatus à exprimer l'activité épileptogène, alors que les cellules de la région CA1 et CA3 de l'hippocampe ont tendance à générer des crises épileptiques (Heinemann, U. et coll.; Lothman, E.W. et coll.; 1988).

Nous pouvons raisonnablement proposer qu'une hausse de l'excitabilité de l'hippocampe puisse jouer un rôle important au niveau de l'induction des crises

audiogènes. La hausse de l'affinité des récepteurs AMPA pour ses agonistes, via l'action de la PLA<sub>2</sub>, dans les régions CA1 et CA3 de l'hippocampe pourrait résulter en une augmentation de l'excitabilité synaptique chez les souris prédisposées génétiquement à l'épilepsie de type audiogène. Nos résultats suggèrent donc fortement qu'une modification des récepteurs AMPA par la PLA<sub>2</sub> pourrait représenter l'un des mécanismes de base de la plasticité synaptique, incluant l'épilepsie (Figure 13). À cet égard, des études précédentes ont démontré l'existence d'une bonne corrélation entre des changements de la fonction et des modifications de l'affinité des récepteurs AMPA (Shahi, K. et Baudry, M.; 1992). De plus, nous savons qu'un déséquilibre entre les acides aminés excitateurs et inhibiteurs, de même que plusieurs altérations neurochimiques, incluant des modifications des récepteurs GABA, ont été proposés comme participant à l'épileptogénèse .

Par l'action de la PLA<sub>2</sub> , nous avons aussi observé une augmentation de la liaison du <sup>3</sup>H-AMPA au récepteur AMPA au niveau de la partie moléculaire du cervelet des souris sensibles à l'épilepsie audiogène par rapport aux souris résistantes à ce même type d'épilepsie. Puisque le cervelet est associé à la formation des tremblements, la modification de la liaison au récepteur AMPA par l'action de la PLA<sub>2</sub> chez les souris DBA/2J pourrait reposer sur la hausse de la susceptibilité de ces souris à déclencher des crises épileptiques audiogènes.

Le ou les mécanismes moléculaires responsables de la hausse du taux de liaison du <sup>3</sup>H-AMPA au récepteur AMPA, par le traitement à la PLA<sub>2</sub> exogène chez les souris DBA reste inconnu. Récemment, une grande famille de récepteurs AMPA a été clonée par plusieurs groupes de recherche. Quatre sous-unités pouvant former le récepteur AMPA

furent identifiées et nommées GLURA à GLURD. Les récepteurs AMPA étant codés à partir de plusieurs gènes, le canal du récepteur AMPA peut être reconstitué *in vitro* en exprimant une, ou en coexprimant 2 ou 4 sous-unités. Celles-ci, longues d'environ 900 acides aminés, se retrouvent sous deux formes, chacune d'elles s'obtenant par épissage alternatif de la séquence de 38 acides aminés. L'épissage alternatif procure deux versions différentes de la protéine constituant une sous-unité du récepteur AMPA. Les deux versions, appelées flip et flop, démontrent un profil d'expression différent au niveau d'un cerveau mature et en développement. (Monyer, H. et coll.; 1991; Sommer, B. et coll.; 1990). L'expression de ces formes persiste tout au cours de la vie. Ainsi, les formes flip exprimées dans différentes régions du cerveau posséderont le même patron d'expression. Un cerveau embryonnaire exprime de façon proéminente la version flip des unités GLURA à GLURD. Inexistante dans le cerveau embryonnaire, la forme flop apparaît plus tard dans le développement, les versions flop ne sont exprimées qu'après la naissance et augmentent en nombre au cours du développement. La forme flop est co-exprimée de concert avec la forme flip dans plusieurs cellules.

Ce changement développemental de la structure du récepteur AMPA comporte des conséquences fonctionnelles importantes. En effet, les récepteurs constitués de la version primaire flip semblent caractérisés par une désensibilisation plus lente de l'activation du canal que les récepteurs AMPA chez les animaux adultes dont les récepteurs contiennent les versions flip et flop (Sommer, B. et coll., 1992). Une modification de la stoechiométrie du récepteur AMPA, comme une modification du rapport flip/flop, pourrait être à l'origine d'une hausse de la fonction et de l'affinité du récepteur. Dans cette situation, la hausse de la liaison au récepteur AMPA observée dans les régions CA1 et CA3 de l'hippocampe des souris DBA/2J par l'action de la phospholipase A<sub>2</sub> exogène

pourrait refléter une modification de l'expression des sous-unités du récepteur. Il sera particulièrement important d'évaluer l'expression de ses sous-unités chez les souris prédisposées à l'épilepsie de type audiogène.

## 6. CONCLUSION

L'épilepsie, cette hausse du niveau d'excitabilité de certains neurones du système nerveux central, constitue une pathologie importante du système nerveux central. Le développement de crises épileptiques et l'ensemble des symptômes cliniques observés lors du déclenchement de la crise dépendent directement des structures cérébrales impliquées dans la décharge épileptique. Ainsi, une décharge impliquant l'ensemble de la structure corticale des deux hémisphères provoque le déclenchement de crises épileptiques généralisées. Elles se manifestent par des contractions motrices appelées le Grand-Mal, ou encore par une simple altération de la conscience pouvant être accompagnée ou non de démonstrations motrices, les absences. En plus du Grand-Mal et des absences, il existe différentes formes de crises généralisées impliquant toute l'activation de l'ensemble du cortex cérébral. Cependant, les crises épileptiques dont la décharge implique seulement l'activation d'une partie de la structure corticale, forment les crises épileptiques partielles. La décharge de ces crises provient seulement d'une partie spécifique de la structure corticale, appelée foyer et y reste localisée. La situation morphologique du foyer de déclenchement des crises épileptiques partielles crée diverses formes de crises; il y aura donc autant de types de crises que de régions corticales. Les crises partielles peuvent avoir lieu avec ou sans altération de la conscience, permettant de les séparer en deux catégories: les crises partielles simples et les crises partielles complexes.

Le site d'origine des crises épileptiques comporte des irrégularités morphologiques et biochimiques étant l'essence même de la fréquence, de l'amplitude et de la répartition de la décharge épileptique. Ainsi, une altération de la structure même de la cellule neuronale par une modification de l'arbre dendritique, une prolifération des cellules gliales en plus

d'une détérioration de la circulation capillaire sanguine figurent parmi les changements anatomiques observés au foyer.

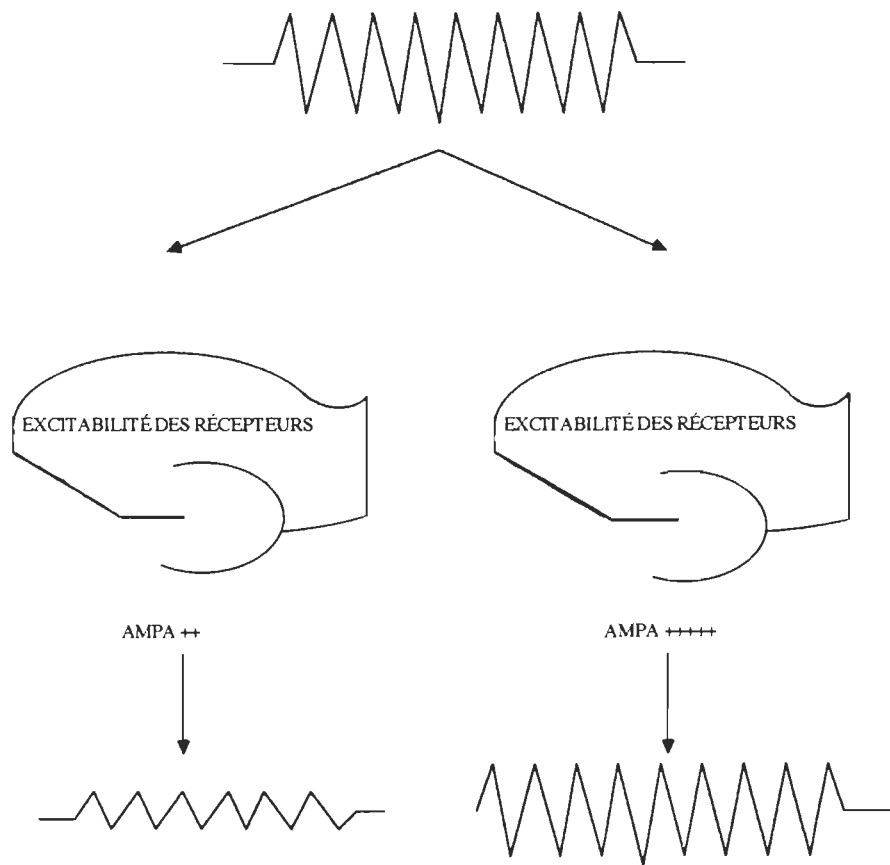


Figure 13. Schéma résumé: lien possible entre la PLT et le développement de l'épilepsie généralisée. Une activité épileptique intense traversant un hippocampe normal chez des souris non prédisposées à l'épilepsie est filtrée, empêchant la dispersion de l'activité électrique épileptique sur l'ensemble du SNC. Alors que cette activité électrique intense traversant l'hippocampe des souris prédisposées à l'épilepsie audiogène impliquerait une hausse de la sensibilité du récepteur AMPA détruisant la capacité de filtration de l'hippocampe. L'activité électrique intense pourrait donc se reprendre sur l'ensemble du SNC déclenchant des crises généralisées.

L'épilepsie résultant d'une hausse du niveau d'excitabilité du système nerveux central, toute altération de la fonction de la structure de l'hippocampe lui empêchant de filtrer adéquatement une activité électrique intense pourrait contribuer au développement de l'épilepsie (voir Figure 13). La potentialisation à long terme de l'hippocampe est un modèle électrophysiologique de renforcement de l'efficacité des synapses qui pourrait accroître la fonction des neurones glutamatergiques pour ainsi réduire cette capacité de filtration de l'activité électrique intense par l'hippocampe.

L'étude comparative entre la formation de la PLT chez des animaux prédisposés génétiquement à l'épilepsie de type audiogène et chez des animaux non-prédisposés s'avère donc importante afin d'appuyer l'hypothèse voulant que les mécanismes cellulaires et moléculaires de la PLT soit aussi à la base du développement de l'épilepsie. Les résultats obtenus lors de cette étude confirment l'hypothèse d'une altération du niveau de potentialisation neuronale chez des animaux prédisposés à l'épilepsie de type audiogène. En particulier, nous rapportons une augmentation de la capacité des neurones glutamatergiques à produire la PLT dans la région CA1 de l'hippocampe. Le taux de régulation du récepteur AMPA pour le glutamate par une enzyme calcium-dépendante, la phospholipase A<sub>2</sub>, s'est aussi avéré supérieur au niveau des régions de l'hippocampe alors que les autres régions étudiées ne montraient pas cette hausse du taux de liaison.

Nous avons donc présenté l'évidence que la modification du taux de liaison au récepteur AMPA et la formation de la PLT sont augmentées chez un modèle de souris prédisposées génétiquement à l'épilepsie audiogène. Il est toutefois important de rappeler que la PLT constitue aussi un modèle électrophysiologique de la mémoire, la hausse du niveau de la PLT chez ces souris pouvant expliquer le développement de l'épilepsie, mais



pourrait-il être aussi à la base d'une augmentation de la capacité de mémorisation et d'apprentissage? Ces résultats sont donc en correspondance avec les hypothèses énoncées plus haut soient que l'épilepsie et la potentialisation à long terme peuvent partager des mécanismes cellulaires communs.

## 7. RÉFÉRENCES

- Aronica, E. , Frey, U., Wagner, M., Schroeder, H., Krug, M., Ruthrich, H., Catania, M.V., Nicoletti, F. et Reymann, K.G., Enhanced sensitivity of "metabotropic" glutamate receptors after induction of long-term potentiation in rat hippocampus, *J. of Neurochem.* 57 (2) (1991) p. 376-83.
- Ascher, P. et Nowak, L., The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of the mouse central neurones in culture, *J. Physiology (London)*, 399 (1988) p. 247-266.
- Baudry, M., Long-term potentiation and kindling: Similar biochemical mechanisms? In *advances in Neurology*, Vol. 44 ed by A.V. Delgado-Escueta, A.A. Ward, Jr., D.M. Woodbury, and R.J. Porter. Raven Press, NY (1986) p.401-410.
- Baudry, M., Arst, D., Oliver, M. et Lynch, G., Development of glutamate binding sites and their regulation by calcium in rat hippocampus, *Brain Res.*, 227 (1981) p.37-48.
- Baudry, M., Massicotte, G. et Hauge, S., Opposite effects of PLA2 on [<sup>3</sup>H]AMPA binding in adult and neonatal membranes, *Dev. Brain Res.*, 61 (1991) p.265-267.
- Baudry, M. et Massicotte, G., Physiological and pharmacological relationships between long-term potentiation and mammalian memory, *Concepts in Neurosci.*, 3 (1992) p.79-99.
- Beauchesne, H., *Guide de l'épilepsie*, coll. Visa pour la Santé, éd. Économica, Paris, (1991) 123 p.
- Ben-Ari, Y. et Gho, M., Long lasting modification of the synaptic properties of rat CA3 hippocampal neurones induced by kainate, *J. Physiol. (London)*, 404 (1988) p. 365-384.
- Boulter, J., Hollman, M., O'Shea-Greenfield, A., Hartley, M., Deneris, E., Maron, C. et Heinemann, S., Molecular cloning and functional expression of glutamate receptor subunit genes, *Science*, 249 (1990) p.1033-1037.
- Bliss, T.V.P. et Collingridge, G.L., A synaptic model of memory: long term potentiation in the hippocampus, *Nature*, (1993) 361, p. 31-39.

- Bliss, T.V.P. et Lynch, M.A. Long term potentiation of synaptic transmission in the hippocampus: properties and mechanisms, S.A. Deadwyler and P.W. Landfield, (Eds.). *Long term potentiation. From biophysics to behavior*, (pp. 3-72). New York: A.R. Liss, 1988.
- Bowyer, J.F., Phencycline inhibition of the rate of kindling development, *Exp. Neurol.*, 75 (1982) p. 173-183.
- Collinridge, G.L., Kehl, S.J. et McLennan, H., Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus, *J. Physiol.*, 334 (1983) p.33-46.
- Cotman, C.W., Bridges, R.J., Taube, J.S., Clark, A.S., Geddes, J.W. et Monaghan, D.T., The role of the NMDA receptor in central nervous system plasticity and pathology, *J. NIH Res.*, 1 (1989) p.65-74.
- Coyle, J.T., Price, D.L. et DeLong, M.R., Alzheimer's disease : a disorder of cortical cholinergic innervation, *Science*, 219 (1983) p. 1184-1190.
- Davies, S.N., Lester, R.A.J., Reymann et Collinridge, G.L., Temporally distinct pre- and post-synaptic mechanisms maintain long-term potentiation, *Nature*, 338 (1989) p.500-503.
- Davis, S., Butcher, S.P. et Morris, R.G.M., The NMDA receptor antagonist D-2-amino-5-phosphopentane (D-AP5) impairs spatial learning and PLT in vivo at intracerebral concentrations comparable to those that block PLT in vitro, *J. Neurosci.*, 12 (1992) p.21-34.
- Engel, J. Jr., Metabolic patterns of human epilepsy: Clinical observations and possible physiological correlates. In *Current Problems in epilepsy, 1: Cerebral blood flow, metabolism and epilepsy*. Éd. Baldy-Moulinier DH Ingvar et Bs Meldrum. London (1983) p.6-18.
- Farooqui, A.A. et Horrocks, Excitatory amino acid receptors, membrane phospholipid metabolism and neurological disorders, *Brain Res. Rev.*, 16 (1991) p.171-191.
- Fischer, R.S., Animal models of epilepsies, *Brain Research Rev.*, 14(1989) p.245-278.

- Forsythe, I.D. et Westbrook, G.L., Slow excitatory post-synaptic currents mediated by N-methyl-D-aspartate receptors on cultured mouse central neurones, *J. Physiol. (London)* 396 (1988) p. 515-533.
- Goddard, G.V., McIntyre, D.C., et Leek, C.K., A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation, *Exp. Neurol.*, 25 (1969) p.295-330.
- Griffith, N., Cunningham, A.M., Goldsmith, R. et Bandler, R., Interictal behavioral alterations and cerebrospinal fluid amino acid changes in a chronic seizure model of temporal lobe epilepsy, *Epilepsia*, 32 no 6 (1991) p. 767-777.
- Heinemann, U., Beck, H., Dreier, J.P., Ficker, E., Stabel, J. et Zhang, C.L., The dentate gyrus as a regulated gate for the propagation of epileptiform activity, The dentate gyrus and its role in seizures, *Epil. Res. Suppl.* 7, 1988, C.E. Ribak, C.M. Gall and L. Mody (EDS).
- Holmes, K.H. et goddard, G.V., A role for the N-methyl-D-aspartate receptor in kindling, *Proc. Univ Otago Med Sch.*, 64 (1986) p. 37-39.
- Jensen, M.S. et Yaari, Y., The relationship between interictal and ictal paroxysms in an in vitro model of focal hippocampal epilepsy, *Ann. Neurol.*, 24 (1988) p. 591-598.
- Johnson, J.W. et Ascher, P., Glycine potentiates the NMDA response of mouse central neurones, *Nature*, 325 (1987) p. 529-531.
- Johnson, J.W. et Ascher, P., The NMDA receptor and its channel, modulation by magnesium and glycine, Lodge D. éd. Excitatory amino acids in health and disease, New York, John Wiley and sons (1988) p. 143-164.
- Kim, C. et Kim, C.U., Effect of hippocampal ablation on audiogenic seizures, *Science*, 162(1992) p. 1295.
- Larson, J. et Lynch, G., Role of N-methyl-D-aspartate receptors in the induction of synaptic potentiation by burst stimulation patterned after hippocampal theta rhythm, *Brain Res.*, 441 (1988) p.111-118.
- Lothman, E.W., Stringer, J.L., et Bertram, H., The dentate gyrus as a control point for seizure in the hippocampus and beyond, The dentate gyrus and its role in seizures, *Epil. Res. Suppl.* 7, 1988, C.E. Ribak, C.M. Gall and L. Mody (EDS).

- Marcheselli, V.L., Rossowska, M.J., Domingo, M.T., Braquet, P. et Bazan, N.G., Distinct platelet-activating factor binding sites in synaptic endings and in intracellular membranes of rat cerebral cortex, *J. Biol. Chem.*, 265 (1990) p. 9140-9145.
- Massicotte, G. et Baudry, M., Modulation of AMPA/quisqualate receptors by phospholipase A<sub>2</sub> treatment, *Neurosci. Lett.*, 118 (1990a) p.245-248.
- Massicotte, G. et Baudry, M., Triggers and substrates of hippocampal synaptic plasticity, *Neurosci. and Biobehav. Rev.*, 15 (1991) p.415-423.
- Massicotte, G., Oliver, M., Lynch, G. et Baudry, M., Effect of bromophenacyl bromide, a phospholipase A<sub>2</sub> inhibitor, on the induction and maintenance of PLT in hippocampal slices, *Brain. Res.*, 537 (1990b) p.49-53.
- Massicotte, G., Vanderklish, P., Lynch, G. et Baudry, M., Modulation of AMPA/quisqualate receptors by phospholipase A<sub>2</sub>: a necessary step in long-term potentiation?, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88 (1991) p.1893-1897.
- McNamara, J.O., Bonhaus, D.W., Shin, C., Crain, B.J., Gellman, R.L. et Giacchino, J.L., The kindling model of epilepsy: a critical review, *Crit. Rev. Clin. Neurobiol.*, 1 (1985) p.341-391.
- Mayer, M.L. et Westbrook, G.L., Permeation and block of N-methyl-D-aspartic acid receptor channels by divalent cations in mouse cultured central neurons, *J. Physiol.(London)*, 394 (1987) p. 501-527.
- Meldrum, B.S., Neuropathological consequences of chemically and electrically induced seizures, *Ann. N Y Acad Sci.*, 462 (1986) p. 186-193.
- Mody, I. et Heinemann, U., NMDA receptor of dentate gyrus granule cells participate in synaptic transmission following kindling, *Nature*, 326 (1987) p.701-704.
- Monaghan, D.T., Bridges, R.J. et Cotman, C.W., The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology and distinct properties in the function of the central nervous system. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.*, 29 (1989) p. 365-402.
- Monyer, H., Seeburg, P.H. et Wisden, W., Glutamate operated channels: Developmentally Early and mature forms arise by alternative splicing, *Neuron*, 6 (1991) p.799-810.

- Morris, R.G.M., Anderson, E., Lynch, G. et Baudry, M., Selective impairment of learning and blockade of long term potentiation by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP-5, *Nature*, 319 (1986) p.774-776.
- Mott, D.D. et Lewis, D.V., Facilitation of the induction of long- term potentiation by GABAB receptors, *Science*, 252 (1991) p. 1718-1720.
- Nakanishi, S., Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain fonction, *Science*, (1992) 258, p. 597-603.
- Nowak, L., Bregestovski, P., Ascher, P., Herbet, A., et Prochiantz, A., Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones, *Nature*, 321 (1986) p. 519-522.
- Reid, H.M., Bowler, K.J. et Weiss, C., Hippocampal lesions increase severity of unilaterally induced audiogenic seizures and decrease their latency, *Exp. Neurol.*, 81 (1983) p.240-244.
- Sato, K., Kiyama, H. et Tohyama, M., The differential expression patterns of messenger RNAs encoding non-N-methyl-d-aspartate glutamate receptors subunits (GluR1-4) in the rat brain, *Neurosci.*, 52 (1993) p.515-539.
- Schwartzkroin, P.A., Mechanisms of cell synchronization in epileptiform activity. *Trends in Neuroscience*, 6 (1983) p. 157-160.
- Seeburg, P.H., The molecular biology of mammalian glutamate receptor channels, *Trends in Neurosciences*, 16 no 6 (1993) p. 359-365.
- Shahi, K. et Baudry, M., Increased binding affinity to agonists to glutamate receptors increases synaptic responses at glutamatergic synapses, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89 (1992) p.6881-6885.
- Sommer, B., Keinänen, K., Verdoorn, T.A., Wisden, W., Burnashev, N., Herb, A., Köhler, M., Takagi, T., Sakmann, B. et Seeburg, P.H., Flip and flop: A cell-specific functional switch in glutamate-operated channels of the CNS, *Science*, 249 (1990) p.1580-1585.

- Sommer, B., Monyer, H., Wisden, W., Verdoorn, T.A., Burnashev, N., Sprengel, R., Sakman, B. et Seeburg, P.H., Glutamate-gated ion channels in the brain, *Drug. Res.*, 42 no1 (1992) p. 209-210.
- Staubli, U., Larson, J. et Lynch, G., Mossy fibers potentiation and long-term potentiation involve different expressions mechanisms, *Synapses*, 5 (1990) p.333-335.
- Staubli, U., Thibault, O., Dilorenzo, M. et Lynch, G., Antagonism of NMDA receptors impairs acquisition but not retention of olfactory memory. *Behav. Neurosci.*, 103 (1989) p.54-60.
- Stewart, M. et Fox, S.E., *Trends in Neurosciences*, 13 (1990) p. 163-168.
- Tocco, G., Massicotte, G., Standley, S., Thompson, R.F. et Baudry, M., Phospholipase A<sub>2</sub>-induced changes in AMPA receptor: an autoradiographic study, *Neuroreport*, 3 (1992) p.515-518.
- Ward, AA., The epileptic neuron: chronic foci in animals and man. Basic Mechanisms of the epilepsies. Ed HH Jasper, AA Ward Jr et A. Pope. Boston: Little Brown et cie, 1969, p.263-288.
- Wasterlain, C.G. et Farber, D.B., Cyclic nucleotide response of the hippocampal formation to septal stimulation in naive kindled rats, *J. Neurochem.*, 47 (1986) p. 185-190.
- Watkins, J.C. et Evans, R.H., Excitatory amino acid and transmitters. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 21 (1981) p. 165-204.
- Wheal, H.V., Membrane electrophysiology of epileptiform activity in the hippocampus, *Acta Neurochirurgica*, 50 (1990) p. 6-13.
- Williams, K., Romano, C., Dichter, M.A. et Molinoff, P.B., Modulation of the NMDA receptor by polyamines, *Life Science*, 48 (1989) p. 469-498.
- Wong, E.H.F., Kemp, J.A., Priestley, T., Knight, A.R. Woodruff, G.N. et Iversen, L.L., The anti-convulsant MK-801 is a potent N-methyl-D-aspartate antagonist, *Prc. Natl. Acad. Sci.*, 83 (1986) p. 7104-7108.

Zaluski, R.A. et Nicoll, R.A., Comparison of two forms of long term potentiation in single hippocampal neurons, *Science*, 248 (1990) p.1619-1624.