

Dominique Muller, Département de Neurosciences fondamentales, Centre Médical Universitaire, Genève

Résumé

De nombreux aspects du fonctionnement de notre système nerveux dépendent des capacités de plasticité exprimées au niveau des contacts synaptiques excitateurs glutamatergiques. Jusqu'à récemment, ce terme de plasticité était associé principalement à une propriété appelée potentialisation à long terme. Cette propriété, caractérisée par une augmentation durable de la transmission synaptique générée par une brève période d'activité intense, représente l'une des bases cellulaires des mécanismes d'apprentissage et de mémoire. L'étude des propriétés de cette forme de plasticité a mis en évidence à la fois un aspect extrêmement dynamique de l'expression des récepteurs excitateurs à la synapse et l'apparition de modifications morphologiques au niveau des contacts synaptiques. Sous l'influence de l'activité neuronale, des épines dendritiques et des contacts synaptiques nouveaux sont formés contribuant ainsi à remodeler l'architecture des réseaux neuronaux. La découverte de cette nouvelle forme de plasticité morphologique a modifié notre compréhension des capacités d'adaptation des circuits corticaux. Ces mécanismes contribuent vraisemblablement à des aspects fonctionnels importants comme la plasticité des cartes corticales ou le développement de circuits aberrants lors de crises épileptiques.

Plasticity of Synaptic Functions and Structures

Many aspects of the functioning of our brain depend upon properties of plasticity expressed by glutamatergic excitatory synapses. Until recently, synaptic plasticity was essentially associated with a property referred to as long-term potentiation. This property, characterized by an increase in synaptic transmission produced by a brief period of high frequency stimulation, has been shown to underlie learning and memory mechanisms. Studies of the properties underlying this form of plasticity have revealed both the highly dynamic nature of synaptic receptor expression at the synapse and the existence of morphological changes taking place at the level of synaptic contacts. Under the influence of neuronal activity, new dendritic spines and synaptic connections are formed, contributing in this way to remodel the architecture of neuronal networks.

The discovery of this new form of morphological plasticity has modified our understanding of the capacity of adaptation of cortical circuits. These new mecha-

nisms probably contribute to important functional aspects such as cortical map plasticity and/or formation of aberrant synaptic connections which occur in epileptic tissue.

Epileptologie 2004; 21: 2 – 6

*Soutien financier: subside 31-56852.99 du Fonds National de la Recherche Scientifique

Introduction

Il y a plus d'une trentaine d'année, T. Bliss et T. Lomo découvraient que l'activation de cellules nerveuses par des trains de stimulation à haute fréquence modifie de manière durable la transmission synaptique excitatrice [1,2]. Cette propriété, appelée potentialisation à long terme (ou LTP selon l'abréviation anglaise) a suscité beaucoup d'intérêt et est considérée comme l'un des principaux mécanismes physiologiques responsables de l'apprentissage et la mémoire. Il faut dire que cette propriété correspond exactement à ce que l'on attendrait d'un mécanisme biologique pour permettre le traitement et le stockage d'information. Elle est générée en très peu de temps (quelques secondes), elle est stable et durable une fois induite (jusqu'à plusieurs semaines dans des expériences faites chez l'animal vivant), elle est produite par des modes d'activation qui sont parfaitement physiologiques et reproduisent la décharge de neurones observée aussi bien chez l'animal que l'être humain. De plus, dans de nombreux modèles comportementaux, elle corrèle parfaitement avec la capacité d'apprentissage. Cela a particulièrement été mis en évidence grâce à la création de modèles d'animaux transgéniques, chez lesquels l'élimination ou au contraire le renforcement de la LTP empêche ou améliore l'apprentissage [3]. La LTP est donc actuellement considéré comme le modèle cellulaire responsable du traitement de l'information par un réseau de neurones.

Une question importante a dès lors été de comprendre les mécanismes responsables de cette forme de plasticité. D'importants progrès réalisés ces dernières années ont mis en évidence un aspect additionnel de plasticité qui était auparavant insoupçonné. Il a en effet été découvert que la potentialisation à long terme s'accompagne non seulement d'un changement du fonctionnement des synapses, mais également d'une plasticité morphologique tout à fait remarquable qui

ouvrent la porte vers une nouvelle conception du rôle et de l'importance des propriétés de plasticité synaptique^[4,5].

Mécanismes responsables de la potentialisation à long terme

Une question clé concernant la potentialisation à long terme a été de comprendre si l'effet de potentialisation était de nature pré- ou post-synaptique, ou, en d'autres termes, si c'est la cellule émettrice qui devient plus performante ou la cellule cible plus sensible. Un élément de réponse important a été fourni par la découverte du rôle primordial joué par les récepteurs au glutamate de type NMDA et les flux de Ca^{2+} qui y sont

associés^[2]. Les récepteurs NMDA sont localisés au niveau de la cellule post-synaptique et leur activation s'est révélée nécessaire et même suffisante pour produire le phénomène de potentialisation. C'est donc bien la cellule post-synaptique qui initie le mécanisme. L'étape suivante a consisté à identifier les différentes cascades de signalisation intracellulaires activées par les ions Ca^{2+} et responsables du changement de la fonction synaptique. Parmi les nombreuses possibilités, les protéines kinases et plus particulièrement la protéine kinase dépendante du calcium et de la calmoduline (CaMKII) se sont révélées comme des candidats intéressants^[6]. Cet enzyme est présent en grandes concentrations dans les synapses excitatrices et c'est une des protéines les plus abondantes des densités post-synaptiques, ces structures membranaires spécialisées qui

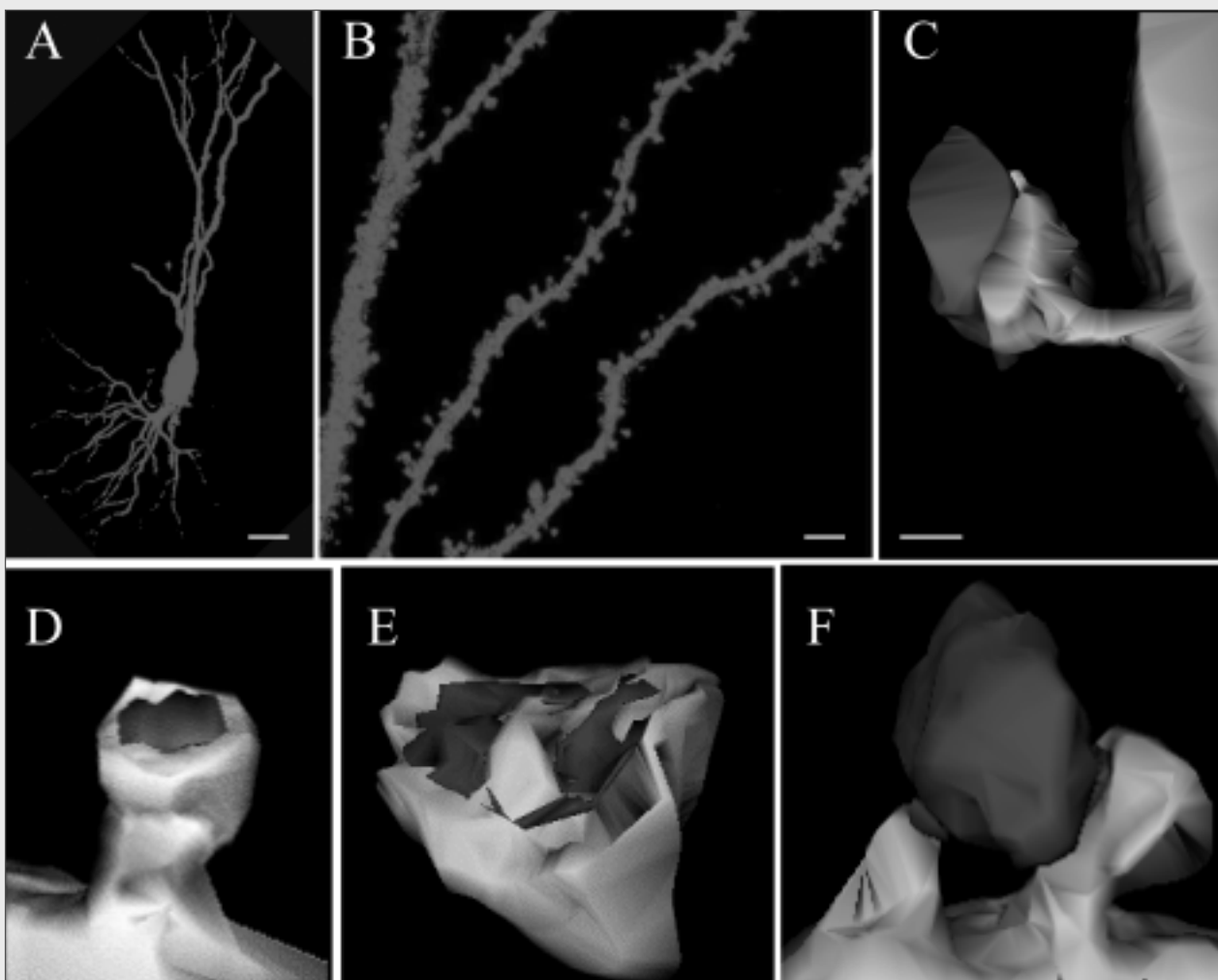


Figure 1: Organisation morphologique des synapses glutamatergiques excitatrices. A. Illustration d'une cellule pyramidale du cortex de l'hippocampe injectée avec une substance fluorescente (bar: 20 μ m). B. Agrandissement des arborisations dendritiques révélant la présence de nombreuses épines dendritiques. C. Reconstruction en trois dimensions d'un contact synaptique excitateur. La structure claire représente l'épine dendritique post-synaptique et la structure rouge la terminaison nerveuse. D. Reconstruction en trois dimensions d'une épine dendritique simple illustrant la disposition d'une densité post-synaptique (en rouge) contenant les récepteurs. E. Reconstruction en trois dimensions d'une épine dendritique de type perforée illustrant la présence de deux zones distinctes de transmission (rouge). F. Reconstruction tridimensionnelle d'une synapse multiple formée d'une terminaison nerveuse (rouge) contactant deux épines dendritiques sur le même neurone (bars: 0,5 μ m).

contiennent les récepteurs synaptiques (**figure 1**). La CaMKII est aussi particulière, car elle peut se phosphoryler elle-même et de cette manière se maintenir active durablement [6]. Elle fonctionne donc comme un « switch » moléculaire. Lorsqu'elle est activée, la CaMKII phosphoryle divers substrats dont les récepteurs au glutamate de type AMPA, modifiant leurs propriétés de manière à amplifier la transmission synaptique [7]. Mais elle pourrait également jouer un rôle important en modulant les mécanismes d'expression des récepteurs à la membrane synaptique et notamment des récepteurs de type AMPA.

Cette conclusion est basée notamment sur la découverte de l'existence de synapses silencieuses [8,9]. Ces synapses ont la particularité d'exprimer des récepteurs au glutamate de type NMDA, mais pas de type AMPA. Elles sont donc silencieuses dans des conditions d'activité habituelle, car les récepteurs NMDA sont alors non fonctionnels. Par contre, si la cellule est artificiellement dépolarisée ou activée par des stimulations à haute fréquence, les récepteurs NMDA deviennent fonctionnels et une réponse synaptique peut alors être enregistrée. Or, si l'on stimule des synapses silencieuses, dépourvues de récepteurs AMPA, de manière à induire la potentialisation à long terme, ces synapses se mettent brusquement à exprimer des courants de type AMPA. L'explication la plus vraisemblable de cette observation est donc que de nouveaux récepteurs ont été exprimés à ces synapses ou que leurs propriétés aient été modifiées. Des expériences réalisées soit en modifiant l'expression de sous-unités du récepteur AMPA, soit en mesurant les flux ioniques à travers le canal associés au récepteur, indiquent que ces deux hypothèses sont probablement correctes et donc que l'effet de potentialisation serait dû à la fois à des modifications de l'expression de récepteurs AMPA et des changements de leurs propriétés de conduction [4,10]. Un mérite important de ces études a notamment été de démontrer la nature extrêmement dynamique des mécanismes régulant l'insertion et le recyclage des récepteurs synaptiques [4,10].

Propriétés dynamiques des épines dendritiques

En parallèle à ces travaux, de nombreuses études récentes, notamment à l'aide de techniques de microscopie confocale, ont mis en évidence les propriétés de plasticité morphologiques qui caractérisent les synapses excitatrices. Lorsque l'on observe en continu des épines dendritiques sur des neurones vivants maintenus en cultures dissociées, on détecte clairement des modifications de la forme de ces épines [11]. Elles semblent osciller à une échelle de temps de quelques secondes. Ces mouvements peuvent être bloqués par des substances qui interagissent avec la polymérisation de l'actine et ils sont sensibles à de très faibles concentrations de glutamate. D'autre part, les composants de la synap-

se semblent également très dynamiques. Les zones de récepteurs synaptiques, appelées densités post-synaptiques, peuvent se former ou disparaître d'une manière très rapide en l'espace de quelques minutes [12]. Ces observations ont donc renforcé l'idée qu'une plasticité structurelle, morphologique pourrait être associée à la plasticité fonctionnelle.

Imagerie confocale des épines dendritiques pendant la LTP

Le développement récent des techniques d'imagerie confocale 2-photons permettant de visualiser des neurones vivants sans altérations de leur survie a amené d'importants progrès. Cela a permis d'observer que des paramètres comme l'activité neuronale ou les flux de calcium pouvaient affecter la formation et la morphologie des épines dendritiques [13]. De plus, l'induction de la LTP à ces synapses, entraîne en 10-15 minutes un phénomène de croissance de filopodes dendritiques [14] (**figure 2A, B**). Ces filopodes représentent vraisemblablement des précurseurs de contacts synaptiques, puisque, après une phase d'élongation, ils se rétractent habituellement pour former une nouvelle épine dendritique qui exprime alors une zone de récepteurs synaptiques. La croissance de ces filopodes dépend tout comme la LTP de l'activation des récepteurs NMDA ainsi que de flux calciques. Ils conduisent donc probablement à la création de nouveaux contacts synaptiques. Cette possibilité est également confirmée par l'observation que l'activité neuronale peut aussi entraîner directement la formation de nouvelles épines dendritiques [15] (**figure 2C**). Ce mécanisme est cependant un peu plus tardif, puisque les nouvelles épines apparaissent en général environ 30-60 minutes après la stimulation synaptique. Ce processus de formation d'épines est aussi dépendant de l'activation des récepteurs NMDA et requiert également des flux de calcium dans la cellule post-synaptique. Il apparaît donc que l'activité neuronale qui induit le phénomène de potentialisation à long terme s'accompagne également d'un mécanisme de synaptogenèse.

Caractéristiques morphologiques des synapses induites par l'activité neuronale

L'étude des caractéristiques morphologiques des synapses activées lors de l'induction de la potentialisation à long terme ne peut être effectuée avec précision qu'à l'aide d'approches en microscopie électronique. Une difficulté importante avec cette technique est de pouvoir reconnaître les synapses activées. Pour résoudre ce problème, nous avons développé une technique de marquage du calcium qui nous a permis d'identifier au sein d'un réseau synaptique complexe les synapses activées par un protocole de stimulation susceptible

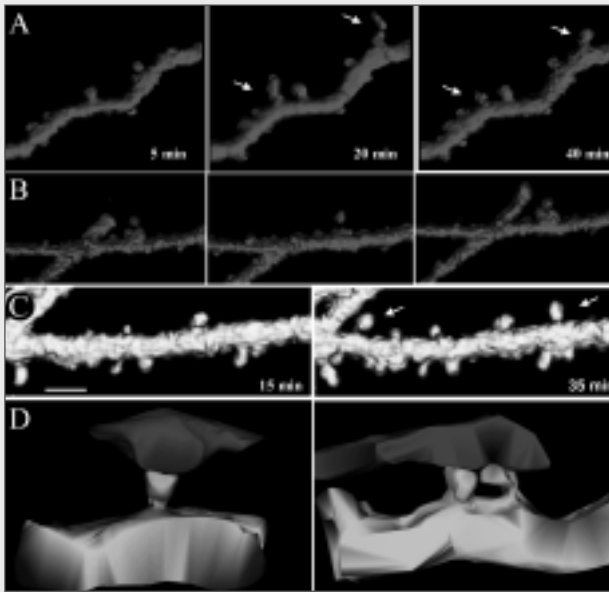


Figure 2: Plasticité morphologique de synapses excitatrices.
A. Séquence d'images prises en microscopie confocale illustrant la croissance de deux filopodes (flèches) suite à l'application d'une stimulation. **B.** Autre exemple de croissance de filopode observé suite à l'application d'une brève ischémie. **C.** Formation de deux nouvelles épines dendritiques induites par un protocole d'ischémie brève (bar: 5 µm).

d'induire la potentialisation à long terme. En effet, dans cette condition de stimulation, les récepteurs NMDA deviennent fonctionnels et du calcium s'accumule dans l'épine dendritique postsynaptique, calcium qui peut ensuite être révélé par un marquage spécifique. Cette approche nous a permis d'analyser de manière sélective les modifications ultrastructurales associées à l'induction de la LTP [16]. Ces études ont révélé deux phénomènes intéressants : la formation d'épines dendritiques caractérisées par la présence de deux zones de récepteurs aux neurotransmetteurs (ces synapses, appelées perforées, sont donc vraisemblablement plus efficaces ; **figure 1E**) et la création de synapses multiples où une terminaison nerveuse contacte deux épines dendritiques différentes (**figure 1F**).

L'apparition de synapses perforées en relation avec le développement ou la plasticité est un phénomène bien établi. Ces synapses peuvent être observées entre 10 et 30 minutes après la stimulation et leur formation n'est probablement que passagère, traduisant une réorganisation des zones de transmission. Ces synapses perforées sont intéressantes car elles ont en général une morphologie de type champignon, de relativement grande taille, elles expriment des zones de récepteurs très étendues, ce qui pourrait traduire l'expression à ces synapses de nouveaux récepteurs. Comme ces récepteurs sont organisés sur deux sites distincts, il est probable que la neurotransmission a lieu au niveau de ces deux sites, amplifiant ainsi la capacité de fonctionnement de ces synapses. Il semblerait donc vraisemblable que ces synapses perforées reflètent un processus de

transformation induit par l'activité dans le but d'augmenter l'efficacité de la signalisation [17]. Il est intéressant de noter, qu'au moment où ces synapses perforées sont générées, la microscopie confocale révèle l'apparition d'épines dendritiques de grande taille et la formation à la membrane de nouvelles zones de récepteurs. La formation de synapses perforées pourrait donc traduire un mécanisme de recyclage et expression de nouveaux récepteurs à la membrane synaptique.

Les synapses multiples induites par l'induction de la LTP sont également très intéressantes, puisqu'elles suggèrent clairement un processus de synaptogenèse. Des changements de synapses multiples ont été décrits également *in vivo*, suite à un paradigme d'apprentissage, ainsi qu'après une brève ischémie, qui reproduit de nombreux phénomènes liés à la LTP. De manière surprenante, nous avons découvert que les synapses multiples induites par l'activité étaient en majorité constituées d'une terminaison nerveuse contactée par deux épines dendritiques provenant du même neurone, ce qui suggère très clairement un processus de multiplication des contacts synaptiques entre cellules activées [17] (**figure 1F**). D'autre part, il se trouve que ces synapses multiples apparaissent exactement au même moment où la microscopie confocale observe la formation de nouvelles épines dendritiques (**figure 2C**). Ces expériences suggèrent donc fortement que les synapses multiples représentent bien le corrélat morphologique de la formation de nouvelles épines dendritiques et donc que ces nouvelles épines sont bien la traduction de mécanismes de synaptogenèse.

Rôles fonctionnels de la plasticité morphologique

Si la potentialisation à long terme est vraisemblablement le substrat physiologique des mécanismes d'apprentissage et de mémoire, le rôle de la plasticité morphologique reste plus obscur. Les deux formes de plasticité sont incontestablement liées et sont toutes deux induites par l'activité neuronale et l'activation des récepteurs NMDA. La potentialisation est cependant un mécanisme généré rapidement, alors que la croissance de filopode, la formation de nouvelles épines dendritiques ou de synapses multiples sont des événements plus tardifs survenant après 10-30 minutes. Une hypothèse intéressante est l'idée que la plasticité morphologique représenterait un mécanisme à long terme capable d'assurer la stabilité ou la durabilité du changement fonctionnel [4]. Cette hypothèse nécessiterait cependant que la plasticité morphologique survienne aux mêmes synapses que celles qui expriment la potentialisation, ce qui n'est pas encore démontré. Alternativement, il se pourrait également que les deux formes de plasticité, fonctionnelle et morphologique, correspondent à des mécanismes indépendants, contribuant chacun à leur manière à remodeler les circuits synaptiques [18]. C'est vraisemblablement le cas pour la potentialisation à

long terme, mais la question est ouverte en ce qui concerne la plasticité morphologique. Cela dépend clairement du nombre de contacts synaptiques ainsi remodelés. Des estimations réalisées dans le cortex somatosensoriel du rat suggèrent que l'activité neuronale pourrait contribuer à renouveler environ 10% des épines dendritiques en l'espace de quelques jours^[19]. Cela représente donc un mécanisme appréciable susceptible de jouer un rôle non négligeable dans la réorganisation des circuits corticaux. L'importance comportementale de cette plasticité morphologique reste cependant encore à démontrer. Il n'est pas impossible néanmoins qu'elle contribue substantiellement à la plasticité des cartes corticales mise en évidence dans de nombreux modèles d'apprentissages^[18] ou qu'elle participe aux réorganisations pathologiques mises en jeu lors de crises d'épilepsie.

Conclusion

Une des clés du fonctionnement cérébral repose sur la capacité des circuits neuronaux à modifier les propriétés de la transmission d'information au niveau de leurs contacts synaptiques. Cette fonction est assumée par les propriétés de plasticité exprimées par les synapses excitatrices. Jusqu'à récemment, la potentialisation à long terme était considérée comme le mécanisme principal jouant ce rôle. Cette propriété, induite par des rythmes d'activité bien particuliers, est vraisemblablement due à des mécanismes modifiant l'expression ou le fonctionnement des récepteurs au glutamate de type AMPA exprimés dans les zones synaptiques. Ces modifications de récepteurs entraînent vraisemblablement des changements morphologiques qui pourraient se traduire par l'apparition de synapses perforées, caractérisées par de multiples zones de transmission du signal synaptique. Cependant, les mêmes modes d'activité qui entraînent l'induction de la potentialisation à long terme s'accompagnent également d'un phénomène de synaptogenèse et d'une réorganisation morphologique des circuits synaptiques. Il est vraisemblable que ces deux mécanismes contribuent de manière importante à de nombreux aspects du fonctionnement cérébral, y compris à des aspects neuro-pathologiques.

Références

1. Bliss TVP, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol (London)* 1973; 232: 331-356
2. Malenka RC, Nicoll RA. Long-term potentiation – a decade of progress? *Science* 1999; 285: 1870-1874
3. Tang YP, Shimizu E, Dube GR et al. Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature* 1999; 401: 63-69
4. Luscher C, Nicoll RA, Malenka RC, Muller D. Synaptic plasticity and dynamic modulation of the postsynaptic membrane. *Nat Neurosci* 2000;

3: 545-550

5. Yuste R, Bonhoeffer T. Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 1071-1089
6. Lisman J, Schulman H, Cline H. The molecular basis of CAMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 175-190
7. Barria A, Muller D, Derkach V et al. Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. *Science* 1997; 276: 2042-2045
8. Isaac JT, Nicoll RA, Malenka RC. Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP. *Neuron* 1995; 15: 427-434
9. Liao D, Hessler NA, Malinow R. Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice. *Nature* 1995; 375: 400-404
10. Malinow R, Malenka RC. AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 2002; 25: 103-126
11. Matus A. Actin-based plasticity in dendritic spines. *Science* 2001; 290: 754-758
12. Marrs GS, Green SH, Dailey ME. Rapid formation and remodeling of postsynaptic densities in developing dendrites. *Nat Neurosci* 2001; 4: 1006-1013
13. Segal I, Korkotian I, Murphy DD. Dendritic spine formation and pruning: common cellular mechanisms? *Trends Neurosci* 2000; 23: 53-57
14. Maletic-Savatic M, Malinow R, Svoboda K. Rapid dendritic morphogenesis in CA1 hippocampal dendrites induced by synaptic activity. *Science* 1999; 283: 1923-1927
15. Engert F, Bonhoeffer T. Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* 1999; 399: 66-70
16. Buchs P-A, Muller D. LTP induction is associated with major ultrastructural changes of activated synapses. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1996; 96: 8040-8045
17. Toni N, Buchs PA, Nikonenko I et al. LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature* 1999; 402: 421-425
18. Mel BW. Have we been hebbing down the wrong path? *Neuron* 2002; 34: 175-177
19. Trachtenberg JT, Chen BE, Knott GK et al. Long-term in vivo imaging of experience-dependent synaptic plasticity in adult cortex. *Nature* 2003; 420: 788-794

Correspondance à:

Prof. Dominique Muller
 Département de Neurosciences
 fondamentales, CMU
 CH 1211 Genève 4
 Tél. 0041 22 702 54 34
 Fax 0041 22 702 54 52
 Dominique.Muller@medecine.unige.ch