

Société de Circulation et Métabolisme du Cerveau

**- NANCY -**

**Faculté de Médecine**

**Amphithéâtre Lepois**

**2 - 3 Avril 2009**

**RISQUE ENVIRONNEMENTAL  
et  
NEUROPATHOLOGIES**

## Remerciements

\*\*\*\*\*

*La Société de Circulation et Métabolisme du Cerveau exprime toute sa gratitude aux organismes partenaires qui ont apporté leur soutien pour le bon déroulement de cette manifestation :*

- le Conseil Régional de Lorraine
- la Communauté Urbaine du Grand Nancy
- l'Université Henri Poincaré
- la Faculté de Médecine de Nancy
- l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm)
- la société IntelliBio

*Qu'ils veuillent bien accepter nos plus vifs remerciements.*



Nancy-Université

Université  
Henri Poincaré



Instituts  
thématiques

Inserm

Institut national  
de la santé et de la recherche médicale

---

## RISQUE ENVIRONNEMENTAL ET NEUROPATHOLOGIES

---

### Jeudi 2 avril

- 9h30 - 10h00      Accueil des participants
- 10h00 - 10h15      Message de bienvenue de Luc Pellerin, Président de la Société
- 10h15 - 11h00      Effets à long terme d'un stress prénatal chez le rongeur  
*Michel Hamon (Paris)*
- 11h00 - 11h45      Session de communications orales :
- Brain water mobility decreases with astrocytic aquaporin-4 inhibition using RNA interference : *J. Badaut et al. (Genève)*
- Conséquence d'une altération précoce du développement cérébral : étude comportementale, neurochimique et métabolique dans un modèle animal de schizophrénie : *J. François et al. (Strasbourg)*
- Exploration du comportement de souris ingérant une plante réputée neurotoxique chez le cheval, *Hypochoeris radicata* : *C. Domange et al. (Lyon)*
- 11h45 - 12h30      Polluants organiques persistants et sécurité alimentaire : étude du transfert dans la chaîne alimentaire et potentialité neurotoxique à court et à long terme  
*Guido Rychen (Nancy)*
- 12h30 - 14h00      Déjeuner
- 14h00 - 15h00      Présentation succincte des posters (3 mn/poster)
- 15h00 - 15h45      Appréciation du potentiel neurotoxique des substances chimiques environnementales et pharmaceutiques par l'évaluation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique : utilisation des modèles *in vitro*  
*Vincent Berezowski (Lens)*

- 15h45 - 16h15      Session de communications orales :  
Les nanoparticules de silice mésoporeuses stimulent l'exocytose du MTT-formazan dans les astrocytes de rats : *M. Fisichella et al. (Orléans)*
- Traitement des encéphalites dues au VIH par des analogues nucléosidiques sous forme de prodrogues glycérolipidiques encapsulées dans des nanoparticules pégylées : *L.A. Pierson (Chatenay-Malabry)*
- 16h15 - 17h00      Session de communications affichées - Pause café
- 17h00 - 17h45      Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer  
*Charles Duyckaerts (Paris)*
- 17h45 - 18h15      Assemblée générale de la Société

### Vendredi 3 avril

- 9h15 - 10h00      Influence du statut en donneurs de méthyles en période périnatale : épigénétique, neurodégénérescence et cognition  
*Jean-Louis Guéant (Nancy)*
- 10h00 - 10h30      Session de communications orales :  
High fat diet strongly enhances monocarboxylate transporter expression in adult mouse brain : *K. Pierre et al. (Lausanne)*  
Iron exposure triggers synaptic dysfunction and promotes neuronal production of amyloid  $\beta$ - protein : *J. Becerril-Ortega et al. (Caen)*
- 10h30 - 11h00      Pause café
- 11h00 - 11h45      Rôle des acides gras oméga-3 et de l'inflammation dans les troubles de l'humeur et de la cognition  
*Sophie Layé (Bordeaux)*
- 11h45                  Clôture de la réunion
- 12h00                  Déjeuner

# **Résumés**

**– Communications orales –**

## Brain water mobility decreases with astrocytic aquaporin-4 inhibition using RNA interference

Badaut J<sup>1,4</sup>, Ashwal S<sup>1</sup>, Adami A<sup>1</sup>, Tone B<sup>1</sup>, Recker B<sup>1</sup>, Ternon B<sup>4</sup>, Obenaus A<sup>1,2,3</sup>

Departments of <sup>1</sup>Pediatrics, <sup>2</sup>Radiology and <sup>3</sup>Radiation Medicine, Loma Linda University School of Medicine, Loma Linda, CA 92354 USA; <sup>4</sup>Neurovascular Laboratory, Departments of Clinical and Fundamental Neurosciences, Service of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Geneva University, Geneva Neurosciences Centre, 1211 Geneva, Switzerland  
*jerome.badaut@bluewin.ch*

Diffusion weighted magnetic resonance imaging (MRI) is now widely used in human brain diagnosis. To date molecular mechanisms underlying changes in Apparent Diffusion Coefficient (ADC) signals remain poorly understood. AQP4, localized to astrocytes, is one of the most highly expressed cerebral AQPs. AQP4 is involved in water movement within the cell membrane of cultured astrocytes. We hypothesize that AQP4 contributes to water diffusion and underlying ADC values in normal brain. We used an RNA interference (RNAi) protocol *in vivo*, to acutely knockdown expression of AQP4 in rat brain and to determine whether this was associated with changes in brain ADC values using MRI protocols as previously described. RNAi was performed using specific small interference RNA (siRNA) against AQP4 (siAQP4) and a non-targeted-siRNA (siGLO) as a control. The specificity and efficiency of the siAQP4 were first tested *in vitro* in astrocyte and hippocampal slice cultures. *In vivo*, siRNAs were injected into the rat cortex 3d prior to MRI acquisition and AQP4 was assessed by western blot (n=4) and immunohistochemistry (n=6). Histology was performed on adjacent slices. siAQP4 application on primary astrocyte cultures induced a 76% decrease in AQP4 expression after 4 days. In hippocampal slice cultures; we also found a significant decrease in AQP4 expression in astrocytes after siAQP4. *In vivo*, injection of non-targeted siRNA (siGLO) tagged with CY3 allowed us to show that GFAP positive cells (astrocytes) were positively stained with CY3-siGLO, showing efficient transfection. Western blot and immunohistochemical analysis showed that siAQP4 induced a ~30% decrease in AQP4 expression without modification of tissue properties or cell death. After siAQP4 treatment, a significant decrease in ADC values (~50%) were observed without altered of T2 values. Together these results suggest that AQP4 reduces water diffusion through the astrocytic plasma membrane and decreases ADC values. Our findings demonstrate for the first time that astrocytic AQP4 contributes significantly to brain water diffusion and ADC values in normal brain. These results open new avenues to interpretation of ADC values under normal physiological conditions and in acute and chronic brain injuries.

Statement of financial support: Supported by the Swiss Science Foundation (FN 3100AO-108001 and 31003A-122166), Swissheart Foundation, Novartis Foundation, Department of Pediatrics Research Fund, NASA Cooperative Agreement NCC9-149

# **Conséquence d'une altération précoce du développement cérébral : étude comportementale, neurochimique et métabolique dans un modèle animal de schizophrénie**

**François J, Ferrandon A, Koning E, Angst MJ, Sandner G, Nehlig A**

Inserm U666, Faculté de Médecine, 67085 Strasbourg Cedex  
*j.francois@alsace.u-strasbg.fr*

La schizophrénie se caractérise par un syndrome incluant des symptômes positifs, négatifs et des troubles cognitifs. Les causes de cette maladie restent encore méconnues mais une hypothèse majeure considère qu'elle résulterait d'une altération précoce du développement cérébral aboutissant par des processus de réorganisation et de plasticité à l'apparition des symptômes chez l'adulte jeune. Cette altération du développement cérébral serait due à l'action conjointe de facteurs génétiques et environnementaux durant la période prénatale. Le modèle Lipska-Weinberger lié à la lésion excitotoxique bilatérale précoce de l'hippocampe ventral est basé sur cette hypothèse. Il reproduit le décours temporel des symptômes de la pathologie humaine et induit l'apparition après la puberté d'un déficit d'interaction sociale puis de comportements anormaux chez le rat adulte jeune mimant les symptômes positifs et négatifs de la maladie. Afin d'améliorer la connaissance des mécanismes physiopathologiques mis en jeu dans la schizophrénie, nous avons caractérisé les conséquences de cette lésion sur le comportement, le métabolisme cérébral et le système GABAergique à l'âge adulte. Une injection bilatérale d'acide iboténique est réalisée 7 jours après la naissance dans l'hippocampe ventral, les rats contrôles recevant une injection de liquide céphalo-rachidien. A l'âge adulte, une partie des rats est soumise à un test de locomotion sous apomorphine et à un test d'inhibition du réflexe du sursaut par un prépulse, deux tests caractéristiques de la schizophrénie. Une perfusion par la veine de la queue de pentylènetétrazole est ensuite réalisée afin de mesurer l'excitabilité cérébrale. Enfin, des immunomarquages de l'enzyme de synthèse du GABA (GAD67) et de la population d'interneurones GABA positifs pour la parvalbumine sont réalisés. Un autre groupe de rats est utilisé pour mesurer la consommation cérébrale de glucose par la méthode d'autoradiographie quantitative au 2-désoxyglucose<sup>14</sup>C. Les rats lésés présentent une diminution de l'inhibition du réflexe du sursaut ainsi qu'une hyperlocomotion sous apomorphine. Du point de vue neurochimique, ces rats présentent une diminution étendue de l'expression de GAD67 dans le cortex préfrontal et l'ensemble du système limbique. En revanche, la diminution des interneurones exprimant la parvalbumine est limitée à l'hippocampe et au cortex préfrontal. Ces modifications du système GABAergique sont accompagnées d'une modification de l'excitabilité cérébrale en particulier au niveau du système thalamo-cortical. Du point de vue métabolique, on observe des modifications de la consommation de glucose limitées à certains systèmes spécifiques, en particulier le système auditif, le cervelet et plusieurs systèmes de neurotransmission. En conclusion, cette étude montre que la lésion précoce de l'hippocampe ventral provoque des altérations comportementales, métaboliques et neurochimiques spécifiques également retrouvées chez les patients schizophrènes et donne ainsi des arguments supplémentaires en faveur d'une perturbation neurodéveloppementale comme origine de cette maladie.

## Exploration du comportement de souris ingérant une plante réputée neurotoxique chez le cheval, *Hypochoeris radicata*

Domange C<sup>1</sup>, Schroeder H<sup>2</sup>, Morel A<sup>2</sup>, Peiffer J<sup>2</sup>, Violle N<sup>2</sup>, Paris A<sup>3</sup>, Priymenko N<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Centre de RMN à Très Hauts Champs, CNRS/ENS Lyon/UCBL, Lyon, <sup>3</sup>UMR 1089 Xénobiotiques INRA/ENVT, Toulouse, <sup>4</sup>Laboratoire de nutrition et botanique, ENVT, Toulouse, <sup>2</sup>Unité de Recherche Animal & Fonctionnalités des Produits Animaux, Nancy Université, INRA UC340, Vandoeuvre-lès-Nancy  
*n.priymenko@envt.fr*

Le harper australien est une maladie neuromusculaire affectant le cheval qui est due à l'ingestion d'une plante, *Hypochoeris radicata* (Hr), et qui est caractérisée par une hyperflexion bilatérale des membres postérieurs ainsi que des troubles du comportement. Des études précédentes de métabonomique et d'imagerie cérébrale<sup>1</sup> ont permis de révéler une augmentation dose-dépendante de *scyllo*-inositol dans le cerveau de souris ingérant *Hypochoeris radicata*, et ainsi de considérer cet animal comme un modèle de perturbations métaboliques systémiques et neurologiques. De manière à caractériser les conséquences de ce trouble du métabolisme cérébral, une étude comportementale explorant la mémoire, l'anxiété, l'activité motrice et le comportement social a été réalisée chez 12 souris nourries pendant 21 jours avec une préparation d'*Hypochoeris radicata* (3%). Les animaux témoins (n=12) ont été nourris avec l'alimentation standard pendant la même période. Les résultats ont montré que les souris du groupe Hr expriment une activité plus intense dans le labyrinthe en Y, le test de Porsolt et la planche à trous par rapport aux individus témoins sans qu'aucun trouble de la coordination motrice n'ait été détecté dans l'openfield et le locotronic<sup>®</sup>. L'augmentation de cette activité paraît être associée à une diminution de l'anxiété exprimée dans le labyrinthe en croix surélevé et la planche à trous. De plus, les animaux Hr présentent une diminution de leur état de résignation dans le test de Porsolt qui pourrait traduire une augmentation de leur motivation et/ou de leur activité. Par ailleurs, les capacités de mémorisation à court et à long terme mesurées dans le labyrinthe en Y et la piscine de Morris n'ont pas été affectées par l'ingestion de la plante. Le recoupement des données comportementales et métaboliques suggèrent que la production exagérée de *scyllo*-inositol pourrait induire des dysfonctionnements de la conduction nerveuse susceptible de générer une neuroexcitation pathologique et des troubles comportementaux relatifs à l'activité et l'anxiété.

---

<sup>1</sup> Domange et al, 2008.

## **Les nanoparticules de silice mésoporeuses stimulent l'exocytose du MTT-formazan dans les astrocytes de rats**

**Fisichella M<sup>1,2</sup>, Dabboue H<sup>1</sup>, Bhattacharyya S<sup>1</sup>, Saboungi ML<sup>1</sup>, Salvetat JP<sup>1</sup>, Hevor T<sup>2</sup>, Guerin M<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>CNRS, Centre de Recherche sur la Matière Divisée, UMR6619, Orléans, France.

<sup>2</sup>Laboratoire de Neurobiologie, UPRES EA 2633, Université d'Orléans, Orléans, France.  
*matthieu.fisichella@cncrs-orleans.fr*

Les nanoparticules font l'objet de recherches et d'applications pour le développement de nouveaux médicaments. Cependant, leur capacité à pénétrer les barrières naturelles de l'organisme telle que la barrière hémato-encéphalique ou la membrane plasmique peut induire une toxicité importante et constituer un frein à leur utilisation. Nous avons étudié le devenir de nanoparticules de silice mésoporeuses incubées avec des astrocytes de rats nouveau-nés issus de culture primaire et la lignée de cellules tumorales HeLa. Les nanoparticules sont endocytées par les deux types cellulaires. L'évaluation de la cytotoxicité par la méthode MTT fait apparaître une forte cytotoxicité des nanoparticules. A l'inverse, dans les mêmes conditions, les mesures de cytotoxicité par cytométrie en flux, mesure de la lactate deshydrogénase, le test WST-1 ainsi que l'observation directe indiquent une absence de mort cellulaire. Un des mécanismes pouvant expliquer cette contradiction apparente est la modification de l'exocytose des cristaux de MTT-formazan. Nous avons effectivement observé une augmentation de ces cristaux à la surface cellulaire en présence de nanoparticules. La chloroquine, un activateur de l'exocytose du MTT-formazan, produit les mêmes effets que les nanoparticules et l'utilisation d'un inhibiteur de l'exocytose du MTT-formazan, la génistéine, diminue l'effet des nanoparticules sur l'exocytose du MTT-formazan. Il ressort donc de ces études que les nanoparticules de silice mésoporeuses sont capables de stimuler l'exocytose des cristaux de MTT-formazan. Si le mécanisme exact de cette stimulation reste encore à découvrir, nous supposons que la perturbation du trafic intracellulaire par les nanoparticules est impliquée. Sur des temps d'exposition plus long, cette perturbation pourrait entraîner une toxicité importante. Par ailleurs, d'autres auteurs ont montré que le peptide  $\beta$ -amyloïde, impliqué dans la maladie d'Alzheimer, stimulait également l'exocytose du MTT-formazan.

## Traitement des encéphalites dues au VIH par des analogues nucléosidiques sous forme de prodrogues glycérolipidiques encapsulées dans des nanoparticules pégylées

Pierson LA<sup>1</sup>, Bourgeois J<sup>1</sup>, Lalanne M<sup>1</sup>, Nicolas J<sup>1</sup>, Marsaud V<sup>1</sup>, Nicolas V<sup>2</sup>,  
Couvreur P<sup>1</sup>, Andrieux K<sup>1</sup>

Université Paris-Sud 11, IFR 141, 5 rue Jean-Baptiste Clément F-92296 Chatenay-Malabry  
<sup>1</sup>UMR CNRS 8612 ; <sup>2</sup>Unité d'imagerie  
*karine.andrieux@u-psud.fr*

Les principes actifs actuellement sur le marché pour traiter le VIH traversent peu la barrière hémato-encéphalique (BHE) et sont inefficaces pour traiter les démences associées à l'infection par le VIH. Pour atteindre le cerveau, deux nouvelles prodrogues de la didanosine (l'une monophosphatée, ProddIP et l'autre non, ProddINP) ont été synthétisées au laboratoire (Lalanne et al. BMCL 2007). Leur plus grande hydrophobie, comparée à la ddl, devraient permettre un meilleur passage de la BHE. De plus leur formulation dans des nanovecteurs devrait encore améliorer ce passage. Deux types de vecteurs furtifs ont ainsi été envisagés : les nanoparticules polymériques de PEG-PHDCA connues pour être capturées par les cellules endothéliales de la BHE (Kim et al. CMLS 2007) et des liposomes pégylés constitués de DPPC dans lequel l'incorporation des prodrogues est excellente (Lalanne et al. IJP 2007).

Une étude de préformulation par DSC (Differential Scanning Calorimetry) a permis d'établir les meilleurs rapports d'incorporation des prodrogues dans le polymère hydrophobe (3,5 et 10% (p/p) pour ProddIP et ProddINP, respectivement) et le mélange de lipides (1/8 et 1/16 mol/mol pour ProddIP et ProddINP, respectivement). Les nanoparticules de PEG-PHDCA et les liposomes ont ensuite été préparés par des méthodes optimisées avec ces rapports. Ces formulations ont ensuite été incubées avec une culture de cellules endothéliales immortalisées de cerveau de rat (lignée SV-RBEC). Par microscopie confocale, il a été observé une capture significative par les cellules endothéliales des deux types de particules encapsulant les prodrogues suggérant leur intérêt pour traiter les encéphalites liées à l'infection par le VIH.

## **High fat diet strongly enhances monocarboxylate transporter expression in adult mouse brain.**

**Pierre K<sup>1</sup>, Parent A<sup>1</sup>, Jayet PY<sup>2</sup>, Halestrap AP<sup>3</sup>, Scherrer U<sup>2</sup>, Pellerin L<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dpt de Physiologie, Université de Lausanne, Lausanne, Switzerland.

<sup>2</sup>Centre Botnar de Recherche Clinique, CHUV, Lausanne, Switzerland.

<sup>3</sup>Dpt of Biochemistry, University of Bristol, Bristol, United Kingdom.

*karin.ryembault-pierre@unil.ch*

Monocarboxylate transporters (MCTs) are membrane carriers for lactate and ketone bodies. Three isoforms, MCT1, MCT2 and MCT4, have been found in the CNS and their distribution in the rodent brain has been well described. MCT2 is mainly expressed in the neuropil and forms the predominant neuronal monocarboxylate transporter. MCT1 immunoreactivity occurs in endothelial cells but also in astrocytes while MCT4 expression is exclusively found in astrocytes. Nevertheless, little information is available about possible changes of MCT expression in relation with altered metabolic or nutritional conditions. We show here that brains of mice fed on a high fat diet up to 12 weeks exhibited a drastic increase of MCT1, MCT2 and MCT4 expression, reaching a maximum after 6 weeks of diet. In parallel with MCT expression, we monitored plasmatic glucose, insulin and  $\beta$ -hydroxybutyrate (a ketone body) levels and found they also increased with high fat diet. Enhanced expression of each transporter was visible throughout the brain but most prominently in the cortex and the hippocampus. Using immunohistochemistry, we observed that neurons (expressing mainly MCT2 but also sometimes low levels of MCT1 in basal conditions) were strongly immunolabeled for all three transporters in brain of mice fed with high fat diet. At the subcellular level, changes were most remarkable in cell bodies although some neuronal processes also exhibit enhanced expression. Western blotting performed on brain structure extracts allowed us to confirm and quantify changes of MCT1 and MCT2 expression. In parallel, we determined using RT-PCR that high-fat diet-induced increase of MCT expression appears to be the result of a translational regulation. Our data reveal a clear regulation of the expression of these three MCT isoforms induced by nutritional manipulations. These results could be particularly relevant in the context of obesity.

# **Iron exposure triggers synaptic dysfunction and promotes neuronal production of amyloid $\beta$ - protein**

**Becerril-Ortega J, Bordji K, Nicole O, Buisson A**

UMR 6232 CNRS CEA – Université de Caen Université Paris Descartes, Centre CYCERON,  
Boulevard Henri Becquerel, BP 5229, 14074  
Caen – France  
*buisson@cyceron.fr*

Accumulation of soluble and insoluble assemblies of the Amyloid  $\beta$  protein ( $A\beta$ ) in Alzheimer's disease (AD) patient's brains activates a cascade of biochemical alterations that produce the clinical phenotype of AD. In recent years the interest in the potential role of iron exposure in the pathogenesis of AD has grown exponentially. Even proved that iron accumulation occurs in AD, the possibility that iron is intimately involved in this neurodegenerative process remains unclear. In the present study, we analysed the consequences of iron ions exposure on the expression pattern of the Amyloid  $\beta$  precursor protein (APP),  $A\beta$  production and on the spontaneous excitatory activity in cortical primary cultures.

We showed that a 24h exposure to low micromolar concentrations of iron leads to an important modification of neuronal APP expression pattern by promoting the expression of higher molecular weight of APP isoforms that have been shown to be more amyloidogenic. In addition, exposure to iron ions produces an increase in the number and intensity of spontaneous excitatory events and subsequently to increased neuronal intracellular calcium concentration.

Taken together, these results suggest that iron ion exposure triggers a vicious loop leading to an increased neuronal  $A\beta$  production and confer to iron a pivotal role in AD.

# **Résumés**

**– Communications affichées –**

## **Influence of vitamin B deficiency on proliferation and differentiation of hippocampal neuronal progenitors**

**Akchiche N, Daval JL, Guéant JL, Bossenmeyer-Pourié C**

Inserm U954, Faculté de Médecine, Nancy  
*nassila23@yahoo.fr*

Dietary deficiency in methyl donors like vitamin B12 and folate impairs homocysteine metabolism, leading to hyperhomocysteinemia that has been identified as a risk factor for neurological disorders. When it occurs during pregnancy, vitamin B deficiency has been shown to exert adverse effects on brain development in the progeny, with impaired cognitive functions involving the hippocampus.

To investigate the influence of early vitamin deficiency on hippocampal neuronal plasticity, we used the rat hippocampal cell line H19-7/IGF-IR expressing a temperature sensitive simian virus 40 large T antigen, and which is known to possess the properties of embryonic neurons.

In normal culture conditions, near 100% of cells expressed neuronal markers (NF68, NeuroD, NeuN) by 6h after induction of their differentiation. Quantification of ATP, measurement of mitochondrial transmembrane potential (MitoCapture) and immunohistological detection of single-stranded DNA (Apostain monoclonal antibody) showed that almost 60% of cells died by apoptosis within 24h after differentiation. Homocysteine was present in mature hippocampal neurons which displayed significant activities of enzymes involved in homocysteine metabolism, including methionine synthase, methionine adenosyltransferase, along with the presence of S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine which are of critical importance for cellular methylation processes that govern regulation of genic expression. By contrast, the transsulfuration pathway was inactive. Cell proliferation and neuronal differentiation were significantly affected when the progenitors were cultured in media lacking folate, potentially accounting for the previously reported functional disabilities. These observations also confirm that H19-7 cell line may be a useful model for investigating the development of hippocampal neurons and their plasticity in response to vitamin B deficiency.

## **Nanoparticles for therapy of Alzheimer's Disease: PEG-PACA NPs ability to link the A $\beta$ peptide 1-42 and to influence its aggregation kinetic.**

**Brambilla D, Nicolas J, Couvreur P, Andrieux K**

Laboratoire de Physico-Chimie, Pharmaceutique et Biopharmacie, Univ. Paris sud, UMR CNRS 8612, Faculté de Pharmacie, 5 rue Jean-Baptiste Clément, 92296 Chatenay-Malabry, France  
*karine.andrieux@u-psud.fr*

The formation of  $\beta$ -amyloid (A $\beta$ ) peptide aggregates extracellularly of neuronal cells is widely considered as the main cause of neuron degeneration in Alzheimer's disease. Despite all scientific efforts effective pharmacotherapeutic options for prevention and treatment of AD are lacking. Since Poly(HDCA-co-PEGCA) nanoparticles are able to cross the blood-brain barrier (BBB), our purpose is to evaluate their ability to bind the A $\beta$  peptide 1-42 and influence its aggregation kinetic.

The absorption of A $\beta$  peptide 1-42 at the surface of pNPs was studied and quantified by ELISA assay and nano-LC/MS/MS analyses; the ability to influence and alter the aggregation kinetic has been followed by high-sensitive Capillary Electrophoresis.

The results obtained suggest a good ability of the pNPs to bind the A $\beta$ -peptide. Moreover, the influence of NPs on the aggregation kinetic of A $\beta$  was studied and discussed.

In conclusion, these NPs will be used as blank-control in future experiments using strongly functionalized pNPs with great affinity for A $\beta$  and able to cross the BBB through specific receptor recognition. These NPs could be used to prevent A $\beta$  aggregation and hopefully to promote the plaques disaggregation in the CNS.

## **Combination of fenofibrate and simvastatin exerts long-lasting beneficial effects than monotherapy on traumatic brain injury consequences**

**Chen XR, Béziaud T, Plotkine M, Marchand-Leroux C, Besson VC**

Laboratoire de Pharmacologie de la Circulation Cérébrale (EA2510), Université Paris Descartes  
4, avenue de l'Observatoire, 75006 Paris  
*valerie.besson@parisdescartes.fr*

We<sup>1,2</sup> and others<sup>3</sup> have demonstrated that fibrates and statins, exerted neuroprotective and pleiotropic effects in experimental models of traumatic brain injury (TBI). As combination of statins and fibrates synergistically enhanced peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) $\alpha$  activation, we hypothesized the combination of both class of drugs exert more important and/or prolonged beneficial effects in TBI than each one alone. In this study, we examined the effect of the combination of fenofibrate and simvastatin on the consequences of TBI.

TBI was induced by lateral fluid percussion of the temporoparietal cortex on male Sprague-Dawley rats. Sham-operated rats underwent the same surgery except for percussion. Simvastatin at 37.5mg/kg, 50 mg/kg fenofibrate, and its combination or its vehicle (water containing 0.5% methylcellulose) were administered by gavage 1 and 6 h after brain injury. At 24, 48 h, 3 and 7 days after TBI, a neurological assessment was done by 2 tests: one for reflexes and sensorimotor responses (ranging from 0=worst to 9=best), and the second untitled beam walking test for motor coordination (ranging from 0=worst to 4=best). Then rats were killed, and brain lesion was measured at 7 days post-injury.

TBI led to a decrease in the neurological score at 24 h post-injury ( $p<0.001$ ) demonstrating a neurological deficit that persisted at 48 h ( $p<0.001$ ). Rats treated with fenofibrate ( $p<0.05$ ), simvastatin ( $p<0.01$ ) or their combination ( $p<0.05$ ) showed an increase in the neurological scores at 24 h (fenofibrate:  $p<0.05$ ; simvastatin:  $p<0.01$ ; combination:  $p<0.01$ ) showing a neurological recovery. Even if monotherapies had no more effects on the neurological score at 48 h post-TBI and later, combination still showed an improvement of the neurological score until, at least, 7 days after TBI ( $p<0.01$ ) demonstrating a longest neurological recovery-promoting effect. At 48 h and later after injury, rats receiving the combination showed an improvement of the beam walking score ( $p<0.05$ ) whereas monotherapies had no effects. TBI induced a brain lesion of  $83\pm 8$  mm<sup>3</sup> that was reduced by treatment with the combination ( $36\pm 12$  mm<sup>3</sup>,  $p<0.05$ ), whereas both monotherapies did not reduce it (fenofibrate:  $62\pm 20$  mm<sup>3</sup>; simvastatin:  $65\pm 22$  mm<sup>3</sup>). Evidence that fenofibrate combined with simvastatin promotes long-lasting beneficial effects on neurological recovery and lesion provides a strong basis for the use of this combination for TBI treatment.

References : 1- Besson *et al.*, 2005, *Neurosci Lett*, 388 (1) : 7-12. 2- Chen *et al.*, 2007, *J Neurotrauma*, 24 (7) : 1119-1131. 3- Lu *et al.*, 2007, *J Neurotrauma*, 24 (7) : 1132-1146.

## **Effets neurocomportementaux et physiologiques du PBDE-99 administré à faibles doses pendant 90 jours chez le rat mâle Sprague-Dawley**

**Daubié S<sup>1,2</sup>, Bisson JF<sup>1</sup>, Hidalgo S<sup>1</sup>, Demade V<sup>1</sup>, Schroeder H<sup>2</sup>, Rychen G<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Etap-Ethologie Appliquée, 54500 Vandoeuvre-les-Nancy

<sup>2</sup>UR AFPA, 54500 Vandoeuvre-les-Nancy

*sdaubie@etap-lab.com*

Les polybromodiphényléthers (PBDE) sont largement utilisés comme retardateurs de flamme depuis les années 1960 et à ce titre sont ajoutés à de nombreux matériaux à des concentrations pouvant atteindre 5 à 30 %. Ces composés sont maintenant reconnus comme étant des polluants largement répandus et persistants dans l'environnement et leurs taux ne cessent d'augmenter dans différentes matrices biologiques. Dans cette étude, les effets d'une exposition orale de 90 jours au BDE-99, l'un des plus persistants, ont été évalués sur le devenir neurocomportemental et physiologique chez le rat adulte. Des rats mâles Sprague-Dawley, âgés de 2 mois, ont été traités quotidiennement par gavage avec des doses de PBDE-99 comparables aux niveaux d'exposition observés chez l'homme en Europe : 0.15, 1.5 ou 15 µg/kg. Ce sont les plus petites doses de PBDE-99 testées *in vivo* à ce jour au plan comportemental chez le rat. Les comportements relatifs à la mémoire, l'anxiété et l'activité locomotrice ont été évalués respectivement au moyen du test de Morris et de l'évitement d'un stimulus aversif (TESLA), du labyrinthe en croix surélevé (LCS) et de l'open-field (OF). Le test de Morris, le TESLA et le LCS ont été réalisés avant et après la période de traitement, alors que l'OF a été réalisé à J0, J28, J60 et J90. A l'issue du protocole, les animaux ont été sacrifiés et des prélèvements de sang et d'organes ont été effectués. L'exposition chronique aux doses 1.5 et 15 µg/kg a induit une hyperactivité dans l'OF à partir de 60 jours de traitement et une difficulté d'adaptation dans le test de Morris. Dans le LCS, les animaux traités aux doses 0.15 et 1.5 µg/kg ont présenté une désinhibition comportementale. L'exposition au BDE-99 n'a pas eu d'incidence sur la mémoire, sur l'anxiété, sur le poids corporel, sur le poids des organes prélevés, ni sur l'activité des enzymes hépatiques (transaminases, gammaGT, phosphatases alcalines) dans le sang. En conclusion, l'administration orale chronique de faibles doses de BDE-99 a induit chez les rats mâles Sprague-Dawley adultes des altérations comportementales au niveau moteur et exploratoire et au niveau de l'adaptation dans différentes situations expérimentales.

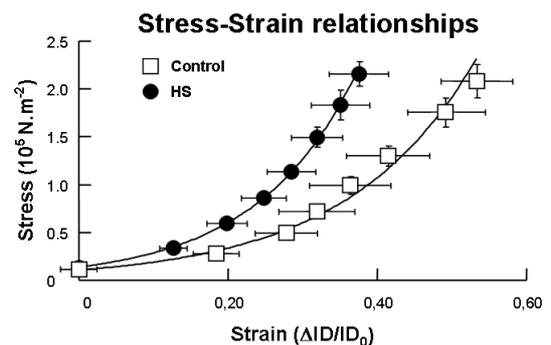
## Effects of high salt intake on mechanical properties of the middle cerebral artery of the rat

Dupuis F, Foulquier S, Perrin-Sarrado C, Atkinson J, Capdeville-Atkinson C, Lartaud I

EA3452, Pharmacology Laboratory, Faculty of Pharmacy, Nancy-University  
*isabelle.lartaud@pharma.uhp-nancy.fr*

A high salt intake (HS) is a risk factor for stroke. However, little is known about the consequences of a HS on the mechanical properties of cerebral vessels. The aim of the present work was to evaluate the impact of a HS on the distensibility of the middle cerebral artery (MCA).

Normotensive male Wistar rats received 1% NaCl (172 mM) in drinking water for 1 month (HS; control, normal drinking water; both groups ate similar rat chow). MCA were mounted and pressurized (60 mmHg, *i.e.* 60% of mean blood pressure, BP, for both groups, as results from a preliminary experiment showed that BP did not change following HS) in a small vessel arteriograph. Passive (inactivation of smooth muscle cells, EDTA 2 mM) internal diameter (ID) and wall thickness (WT) of MCA were measured during a stepwise increase in intraluminal pressure (IP, 20 to 160 mmHg, 20 mmHg per step). Stress ( $\sigma = ID \times IP / 2WT$ ) and strain ( $\varepsilon = (ID - ID_0) / ID_0$  where  $ID_0$  is ID at 20 mmHg) were calculated. Stress-strain data were fitted to an exponential curve  $\sigma = \sigma_0 \cdot e^{E_T \cdot \varepsilon}$ , where  $\sigma_0$  is the stress at 20 mmHg and  $E_T$  is the slope of the tangential elastic modulus *versus* stress.



HS increased sodium balance ( $+5 \pm 3 \text{ mEq}/24\text{h}/\text{kg}$ ,  $p < 0.05$  *versus*  $0.0 \pm 0.8$  in controls,  $n = 5$  per group) but did not modify BP ( $110 \pm 6 \text{ mmHg}$ ,  $109 \pm 4$  in controls). The stress-strain curve was shifted to the left in rats with a HS ( $E_T: 8.1 \pm 0.8$ ,  $n = 10$ ,  $p < 0.05$  *versus*  $5.8 \pm 0.4$  in controls,  $n = 7$ ).

In conclusion, a HS induces an increase in wall stiffness of the MCA in the absence of any effect on BP. This may contribute to the cerebrovascular dysfunction linked to stroke in patients on a HS.

# **Influence de la neurotransmission adenosinergique sur l'expression des absences dans un modèle génétique d'épilepsie absence**

**Germé K, Nehlig A**

Inserm U666 Physiopathologie clinique et expérimentale de la schizophrénie  
11 rue Humann 67085 Strasbourg cedex  
*katuschia.germe@gmail.com*

L'épilepsie absence est une épilepsie idiopathique généralisée caractérisée par des crises non convulsives accompagnées de ruptures de contact et associées à des décharges de pointes-ondes (DPO) sur l'électroencéphalogramme (EEG). Ces crises d'absences sont générées par le cortex et le thalamus où les neurotransmissions glutamatergique et GABAergique jouent un rôle majeur. De plus, l'expression des absences est directement contrôlée par le système dopaminergique. Le système adénosinergique intervient dans la modulation de certains systèmes de neurotransmission dont les neurotransmissions glutamatergique et dopaminergique. Nous avons donc testé les effets d'agonistes et d'antagonistes spécifiques des récepteurs adénosinergiques sur l'expression des DPO chez le GAERS, un modèle génétique d'épilepsie absence.

Afin de pouvoir quantifier ces DPO sur des tracés EEG, des électrodes ont été placées au contact du cortex cérébral des rats. Ces derniers ont reçu des injections à doses croissantes d'agonistes et d'antagonistes sélectifs des récepteurs A1 (2-Chloro-N<sup>6</sup>-cyclopentyladénosine, CCPA, 0.05 ; 0.1 et 0.5mg/kg et 8-cyclopentyl-1,3-diméthylxanthine, 8-CPT, 0.125 et 0.625mg/kg) et A2A de l'adénosine (2-[p-(2-carboxyethyl)-phenethylamino]-5'-N-ethylcarboxamido adénosine, CGS21680, 0.01 et 0.025mg/kg et 3,7-diméthyl-1-propargylxanthine, DMPX, 0.15 et 0.3 mg/kg). Ils ont également reçu un traitement aigu de caféine à doses croissantes (1-10 mg/kg). Pour chaque traitement, un enregistrement EEG a été effectué pendant 120 min sur lequel nous avons compté le nombre ainsi que la durée totale et moyenne des DPO donc des crises d'absence pour chaque période d'analyse (20 min).

Les agonistes des récepteurs adénosinergiques A1 (CCPA) et A2A (CGS21680) ont entraîné une augmentation significative dose-dépendante de la durée totale des absences tandis que les antagonistes de ces mêmes récepteurs (8-CPT et DMPX) ont induit une diminution significative dose-dépendante de ce paramètre. La caféine en traitement aigu a induit une très nette diminution dose-dépendante de la durée et du nombre de DPO.

Nos résultats montrent que le système adénosinergique exerce une influence sur l'expression des crises d'absence. Cette action pourrait impliquer la modulation des systèmes glutamatergique et dopaminergique dont le rôle est majeur dans l'expression et/ou la régulation des DPO. De plus, le traitement aigu par la caféine, en particulier aux deux doses les plus élevées, a fortement influé sur l'état de vigilance des animaux. Ces données confirment la nécessité d'un état de veille calme pour la génération des crises d'absence.

## **Effects of an oral sub-acute administration of Benzo[a]pyrene on cerebral CYP1A1/1B1 expression and anxiety-related behaviour in adult mice**

**Cao L<sup>2</sup>, Grova N<sup>2</sup>, Muller N<sup>2</sup>, Schroeder H<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> URAFPA, INRA UC340, Nancy Université, Vandoeuvre les Nancy, France

<sup>2</sup> Institute of Immunology, CRP-Santé, Luxembourg city, Luxembourg  
*nathalie.grova@Ins.etat.lu*

Benzo[a]pyrene (B[a]P), a prototypic Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH), is formed during incomplete combustion of organic waste and fuels such as municipal refuse, automobile emissions, and industrial processes, as well as during cigarette smoking and cooking of food. This environmental pollutant produces numerous deficits related to central deficiencies, including decreased motor activity, neuromuscular and autonomic abnormalities. While the carcinogenicity of B[a]P is well established, the neurotoxic effects of B[a]P have received less attention. Recently, some authors predicted the neurotoxic potential of PAH particles deposited within the central nervous system, and their subsequent adverse effects on development. Currently, the relationship between B[a]P, the cerebral metabolism of xenobiotics, and behaviour has received little attention. Therefore, we tested the hypothesis that this xenobiotic may induce some behavioural impairments in relation with its brain concentrations, the regional expression of CYP1A1 and CYP1B1 and NMDA-NR1, NR2A and NR2B genes in the brain of adult mice. Animals (n=10 group) received a daily oral administration of B[a]P for 10 days at 5 different doses (0.02, 0.2, 2, 20 and 200 mg/kg). Control mice received an equivalent volume of vehicle. The results showed that the sub-acute exposure to B[a]P induced significant increases in the CYP1A1 and CYP1B1 expression in the hippocampus, the frontal cortex, and the temporal cortex at the highest dose administered (20 and 200 mg/kg) but it was significant only at the highest one. In parallel, while B[a]P was detected in all groups, its metabolites, and especially the 7,8-diol B[a]P, were measured in cerebral cortex for doses ranging 2 to 200 mg/kg. At the same doses, the animals exhibited a reduction of their anxiety level, as reflected by significant increases in the number of head dipping in the hole board apparatus, and in the time spent in the central part of the elevated plus maze concomitantly with reductions of the time spent in the protected area of the maze. Finally, according to Grova et al. (2008, chemosphere) the NR2A subunit mRNA expression in the temporal cortex was significantly decreased at the two highest doses (20 and 200 mg/kg) whereas the NR1 was still over-expressed in the hippocampus. No significant difference was observed for NR2B in this region. In conclusion, the present study suggests that there is a dose-dependent relationship between the level of an oral B[a]P exposure, the cerebral metabolism of this xenobiotic, and the modulation of anxiety-related behaviour.

## **Effects of minocycline on microglial activation and diffuse axonal injury following traumatic brain injury in mice**

**Homsy S, Piaggio T, Croci N, Plotkine M, Marchand-Leroux C, Jafarian-Tehrani M**

Laboratoire de Pharmacologie de la Circulation Cérébrale (EA 2510), Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France  
*mehrnaz.jafarian@parisdescartes.fr*

Minocycline has shown to exert anti-inflammatory and neuroprotective effects, unrelated to its anti-microbial action, in several animal models of neurodegenerative diseases and acute brain injuries. However, the effect of minocycline on the consequences of traumatic brain injury (TBI) is still not fully investigated. Neuroinflammation and diffuse axonal injury (DAI) are two consequences of TBI, which might be interrelated. Therefore, we investigated the effects of minocycline on the TBI-induced microglial activation, and axonal accumulation of  $\beta$ -amyloid precursor protein ( $\beta$ -APP) as markers of neuroinflammation and DAI (1), respectively.

Closed head injury was performed in anesthetized mice (2). TBI-induced microglial activation was evaluated by the presence of the cell surface marker CD11b revealed by immunohistochemistry (IHC). TBI-induced axonal accumulation of  $\beta$ -APP was revealed by IHC. Two protocol treatments were used: minocycline was administered 1) three times 5 min (90 mg/kg, i.p.), 3h and 9h (45 mg/kg, i.p.) following TBI and its effects on CD11b and  $\beta$ -APP were evaluated at 24h post-TBI (short-term protocol), or 2) six times 5 min (90 mg/kg, i.p.), 3h, 9h, 24h, 36h, 48h (45 mg/kg, i.p.) following TBI and its effects on CD11b and  $\beta$ -APP were evaluated at 72h post-TBI (long-term protocol).

TBI led to 1) an increase of CD-11b immunolabelling from 6h up to 72h post-TBI, and 2) acute  $\beta$ -APP axonal accumulation from 6h up to 7 days post-TBI. While the treatment decreased the elevation of CD11b post-TBI in the short-term protocol ( $P < 0.05$ ), it was devoid of effect in the long-term protocol. Treatment with minocycline had no statistically significant effect on the TBI-induced  $\beta$ -APP axonal accumulation in none of the protocols used in this study.

Treatment with minocycline was able to reduce the TBI-induced microglial activation in the short-term protocol. However, it was not able to reduce the traumatic axonal injury suggesting that under our experimental conditions the microglial activation does not play a crucial role in the development of DAI.

1) Stone et al. Brain Res. 2000; 871(2):288-302.

2) Hellal et al. J Neurotrauma. 2003; 20: 841-51.

## High salt intake enhances angiotensin II-mediated constriction and abolishes angiotensin II-mediated relaxation of cerebral arterioles in rats

Kwan YW<sup>1,2</sup>, Lartaud I<sup>1</sup>, Atkinson J<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Pharmacology Laboratory, Faculty of Pharmacy, Nancy-University, France, <sup>2</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, The Chinese University of Hong Kong.  
*isabelle.lartaud@pharma.uhp-nancy.fr*

Angiotensin II (Ang II) has a dual effect on the cerebral circulation, inducing constriction *via* AT<sub>1</sub> receptors and dilatation *via* AT<sub>2</sub> receptors (Vincent et al., Stroke 2005, 36, 2691-2695). On the extracerebral vasculature, a high salt intake is responsible for a fall in AT<sub>2</sub>-mediated relaxation (Gonzalez et al., Hypertension 2005, 45, 853-859). If a similar mechanism operates in the cerebral circulation, this will potentiate AT<sub>1</sub> constriction and/or decrease a protective vasodilation component related to AT<sub>2</sub> stimulation.

Male Wistar rats (350-470 g) received 0.4% (70 mM) NaCl in drinking water for 4 days (n = 5; control, normal drinking water, n = 7; both ate similar rat chow). The internal diameter of first-order cerebral arterioles was measured using an open-skull cranial window method. Responses (percentage of baseline diameter, mean±SD) to phenylephrine (PHE, 10<sup>-5</sup> M), and sodium nitroprusside (SNP, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-5</sup> M) were determined. Ang II concentration-response curves (10<sup>-12</sup> to 10<sup>-6</sup> M) were performed in the presence or not of the AT<sub>1</sub> receptor blocker, losartan, 10<sup>-5</sup> M; results were expressed as maximal effect: E<sub>max</sub>.

HS did not modify PHE-induced constriction (control -8±3%) or SNP-mediated relaxation (10<sup>-7</sup> M control +33±8, 10<sup>-5</sup> M control +99±18%) of cerebral arterioles. HS enhanced Ang II-elicited contraction (E<sub>max</sub> -18.5±0.6%, P < 0.05 *versus* control -13.5±0.5%) and decreased Ang II+losartan-mediated relaxation (E<sub>max</sub> +2.2±0.3%, P < 0.05 *versus* control +5.5±0.4%).

In conclusion, short-term high salt intake enhances Ang II-induced cerebral arteriole constriction and abolishes Ang II-mediated cerebral arteriolar dilation. This is of clinical relevance given the importance of salt intake as a risk factor for stroke.

## **La cyclooxygénase de type 2 est-elle une « bonne » cible thérapeutique pour le traitement des AVC ?**

**Lerouet D, Lechaftois M, Popescu I, Palmier B, Coqueran B, Plotkine M, Margail I**

UPRES EA2510 «Pharmacologie de la Circulation Cérébrale» - Université Paris Descartes - UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques - 4 avenue de l'Observatoire, 75006 Paris  
*dominique.lerouet@parisdescartes.fr*

Le rôle délétère de la cyclooxygénase de type 2 (COX-2), lié à la production de la prostaglandine E2 (PGE2), a largement été démontré dans divers modèles expérimentaux d'ischémie cérébrale. Cependant, ces dernières années, des études cliniques ont montré que les inhibiteurs sélectifs de la COX-2 (coxibs), lors de leur utilisation comme anti-inflammatoires, augmentent les accidents cardiovasculaires (comme les infarctus du myocarde et les AVC), amenant ainsi à réévaluer le potentiel thérapeutique d'une telle stratégie. Dans ce contexte, le but de notre étude est d'évaluer l'intérêt de la COX-2 comme cible thérapeutique dans le traitement des AVC

Notre modèle d'ischémie cérébrale est réalisé chez des souris mâles Swiss (25-30 g) anesthésiées par un mélange kétamine/xylazine et consiste en l'occlusion pendant 1h de l'artère cérébrale moyenne gauche par voie intraluminale, suivie d'une phase de reperfusion.

Après euthanasie des animaux à différents temps de reperfusion (30 min, 2, 6, 24 et 48h), nous avons observé une maturation de la lésion (après coloration par le chlorure de triphényl-tétrazolium) essentiellement entre 2 et 6h ( $17 \pm 6 \text{ mm}^3$  versus  $56 \pm 11 \text{ mm}^3$ ,  $P < 0,001$ ) de reperfusion. Par rapport aux animaux témoins-opérés, l'expression de la COX-2, évaluée par western blot, augmente significativement après 6h ( $\times 1,7$ ,  $P < 0,01$ ) et 24h ( $\times 1,4$ ,  $P < 0,05$ ) de reperfusion, et seule l'induction de la COX-2 à 6h est associée à une augmentation de la production de PGE2 ( $163 \pm 22 \text{ pg/mg}$  de protéines versus  $83 \pm 12 \text{ pg/mg}$  de protéines chez les animaux témoins-opérés,  $P < 0,05$ ), mesurée par Radio-Immuno Assay.

Nous avons ensuite étudié l'effet d'un inhibiteur préférentiel de la COX-2, le nimésulide. Son administration à la dose de 12 mg/kg (i.p.), juste après le début de l'ischémie, puis 4h après, supprime totalement la production post-ischémique de PGE2 à 6h ( $P < 0,05$ ). Par contre, l'administration répétée de cet inhibiteur, juste après le début de l'ischémie, puis 4h et 8h après, n'entraîne aucune modification de la taille de la lésion cérébrale à 24h ( $66 \pm 6 \text{ mm}^3$  versus  $66 \pm 4 \text{ mm}^3$ ).

En conclusion, nos résultats montrent une induction de la COX-2 associée à une production de PGE2 après l'ischémie cérébrale. Cependant, bien que le nimésulide, un inhibiteur préférentiel de la COX-2, s'oppose à la production post-ischémique de PGE2, il n'a aucun effet neuroprotecteur. Par conséquent, l'inhibition de la COX-2 pourrait ne pas être une stratégie intéressante dans tous les modèles d'ischémie cérébrale.

## **Conséquences d'une carence nutritionnelle en donneurs de méthyles sur la maturation cérébrale du rat : du gène à la fonction**

**Martin N, Pourié G, Bossenmeyer-Pourié C, Guéant JL, Daval JL**

Inserm U954, Faculté de Médecine, Nancy  
*nicolasmartin911@free.fr*

L'étude porte sur la caractérisation des effets d'une carence précoce en donneurs de groupements méthyles sur différents comportements essentiels au cours du développement, en lien avec l'expression cérébrale de gènes sensibles.

Des rates adultes ont été alimentées un mois avant leur accouplement et jusqu'au sevrage de la progéniture avec un régime standard ou carencé en vitamine B12, folates et choline. Une étude antérieure (Blaise et al., 2007) a montré, chez les ratons à 21 jours, une perturbation du métabolisme des monocarbone avec accumulation cérébrale d'homocystéine dans des régions sélectives, parmi lesquelles le cervelet. L'analyse protéomique a par ailleurs révélé dans cette structure une diminution de plus de 2 fois des taux de synapsine II impliquée dans l'organisation axonale des vésicules synaptiques. Ce résultat a été confirmé par Western blot. Les analyses immunohistochimiques ont permis de montrer que les cellules de Purkinje étaient les plus affectées par l'accumulation d'homocystéine et que ces cellules semblent dépourvues de cystationine  $\beta$ -synthase, enzyme catalysant la première étape d'élimination de l'homocystéine par la voie de transsulfuration.

Le développement psychomoteur est un phénomène progressif après la naissance qui conduit à différents ajustements de l'individu dans son milieu. Ces ajustements traduisent la qualité du développement des fonctions basiques dans des mécanismes tels que la coordination du corps dans l'espace, la localisation de sources alimentaires, la locomotion. Les tests concernant la maturation des processus locomoteurs (*righting reflex* et *negative geotaxis* effectués de 3 à 20 jours d'âge) montrent un retard (respectivement de 1 et 10 jours) dans l'acquisition de la coordination des mouvements chez les rats carencés par rapport aux témoins. D'autres part, le test du Homing (effectué de 5 à 14 jours d'âge) qui évalue l'efficacité des comportements adaptatifs primaires des ratons (retourner vers la protection et la source alimentaire maternelle), montre que les animaux carencés présentent en moyenne deux fois moins de succès dans la reconnaissance et le retour vers les stimuli maternels par comparaison aux témoins. De plus, les animaux carencés qui finalement réussissent sont significativement plus lents (de 1,2 à 2,2 fois) que les témoins. Le cervelet est l'une des structures majeures impliquées dans ces fonctions.

L'ensemble de ces résultats montre une altération du métabolisme de l'homocystéine dans les cellules de Purkinje chez les animaux exposés à la carence en donneurs de méthyles qui régulent l'expression de nombreux gènes. A ce titre, l'expression de synapsine II est grandement affectée chez ces individus, en lien avec des perturbations fonctionnelles des circuits nerveux se traduisant par des altérations comportementales impliquant le cervelet.

# **Etude de la distribution régionale de l'activité de la cytochrome oxydase dans le cerveau de souris adultes exposées à une administration subaiguë de benzo(a)pyrène**

**Peiffer J<sup>1</sup>, Strazielle C<sup>2</sup>, Schroeder H<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> URAFPA, INRA UC340, Nancy Université, Vandoeuvre les Nancy

<sup>2</sup> Inserm U954, Nancy Université, Vandoeuvre les Nancy  
*Julie.peiffer@scbiol.uhp-nancy.fr*

Polluant omniprésent dans l'environnement, le benzo(a)pyrène (B(a)P) est formé involontairement lors de la combustion de combustibles fossiles et constitue l'un des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques les plus toxiques. Une étude précédente a montré une relation dose-dépendante entre une exposition subaiguë au B(a)P (0,02-200 mg/kg, 10 jours, i.p.), des déficits neurocomportementaux relatifs à la mémoire et l'anxiété et des modifications de l'expression des sous-unités protéiques NR1, NR2A et NR2B du récepteur NMDA du glutamate localisées au niveau de l'hippocampe, du cortex temporal et du cortex frontal. L'objectif de cette étude a été d'établir une cartographie plus précise des structures cérébrales présentant une sensibilité à l'action du B(a)P en mesurant au niveau régional l'activité de la cytochrome oxydase (CO) prise comme marqueur de l'activité fonctionnelle cérébrale. Pour cela, 48 souris femelles adultes Balb/C ont été traitées quotidiennement par voie intrapéritonéale avec des doses croissantes de B(a)P (0,02, 0,2, 2, 20 et 200 mg/kg) pendant 10 jours. A l'issue du traitement, les animaux ont été euthanasiés, les cerveaux prélevés et congelés à -80°C. Des coupes sériées de 20µm d'épaisseur ont été réalisées pour chaque cerveau et l'activité d'un marqueur spécifique du métabolisme neuronale, la cytochrome oxydase, a été révélée par histochimie en utilisant la 3,3' diaminobenzidine comme substrat. L'activité régionale de la CO a été mesurée par densitométrie dans 68 régions cérébrales par rapport à une gamme de calibration préétablie. Les résultats ont montré que le B(a)P a induit une augmentation significative de l'activité CO par rapport à celle mesurée chez les témoins dans un nombre de régions cérébrales qui augmente avec la dose administrée (n=11 à 0,02 mg/kg, n=25 et 26 aux doses respectives de 20 et 200 mg/kg). Au plan de la localisation, les augmentations les plus significatives de l'activité de la CO ont été observées dans les noyaux du complexe amygdalien, différentes régions de l'hippocampe, le septum latéral, certains noyaux de l'hypothalamus et du thalamus ainsi que des aires corticales comme les cortex entorhinal, périrhinal et piriforme. Par contre, peu ou pas de variations significatives ont été mises en évidence dans les structures cérébrales relevant des systèmes sensoriels et du système moteur. En conclusion, ces résultats montrent une sensibilité particulière du cerveau à une exposition subaiguë au B(a)P dans des régions impliquées dans le contrôle de l'apprentissage et la mémoire, de l'agressivité, de l'anxiété, et de l'activité spontanée, ce qui confirme les troubles comportementaux liés à ces différentes fonctions observées précédemment.

# **Etude des effets comportementaux du fluorène administré par voie intrapéritonéale ou par voie orale pendant 28 jours chez le rat adulte**

**Peiffer J<sup>1</sup>, Morel A<sup>1</sup>, Hidalgo S<sup>2</sup>, Rychen G<sup>1</sup>, Schroeder H<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> URAFPA, INRA UC340, Nancy Université, Vandoeuvre les Nancy

<sup>2</sup> ETAP-Applied Ethology, Vandoeuvre les Nancy

*julie.peiffer@scbiol.uhp-nancy.fr*

Le fluorène est un Hydrocarbure Aromatique Polycyclique (HAP) qui est référencé par l'Organisation Mondiale de la Santé comme l'un des 16 composés les plus toxiques relevant de cette famille de polluants. Le danger du fluorène pour la santé humaine est d'autant plus préoccupant que ce composé est hautement volatil et qu'il est un des HAPs les plus abondants dans l'air ambiant (<5 ng/m<sup>3</sup>). Alors que des études récentes suggèrent le caractère neurotoxique d'un autre HAP, le benzo(a)pyrène, aucune étude n'est disponible quant au potentiel neurotoxique de ce polluant. C'est dans ce but qu'ont été réalisées deux études visant à évaluer les effets du fluorène sur le comportement du rat adulte. Au cours des deux études, les rats ont été traités quotidiennement pendant 28 jours avec des doses croissantes de fluorène : 1, 10 et 100 mg/kg. L'évolution du poids corporel a été suivie quotidiennement. A l'issue de la période de traitement, plusieurs tests comportementaux ont été réalisés pour évaluer les effets du fluorène sur l'anxiété (test du labyrinthe en croix surélevé), sur l'activité (test de l'open-field), et sur les capacités d'apprentissage des animaux (test du labyrinthe radial à 8 branches, test de l'évitement d'un stimulus aversif). A l'issue des expérimentations, les animaux ont été sacrifiés, les cerveaux et les foies disséqués et pesés. Des prélèvements de sang et de graisses ont également été effectués pour doser les concentrations de fluorène et de ses métabolites dans les différents compartiments. Enfin, ces études ont été menées en administrant le fluorène par voie intrapéritonéale pour l'une et par voie orale pour l'autre. Quelle que soit la voie d'administration, le fluorène a induit une perte de poids après la première administration chez les animaux traités à 100 mg/kg qui s'est ensuite maintenue tout au long de la période de traitement. Après 28 jours d'exposition, le fluorène administré par voie i.p. a révélé une augmentation significative du poids du foie uniquement à la dose de 100 mg/kg, tandis que l'étude par voie orale a montré une augmentation de ce même poids avec la dose administrée. Au plan comportemental, un accroissement de l'activité des animaux traités avec le fluorène, reflétée par une réduction des latences de sortie et de choix dans le labyrinthe en T, une augmentation du nombre total de branches visitées dans le labyrinthe en croix surélevé et une hausse du nombre total d'appuis dans le test d'évitement d'un stimulus aversif, a été observé aux doses 10 et 100 mg/kg aussi bien par voie i.p. que par voie orale. Par contre, aucune atteinte spécifique de la mémoire et de l'anxiété n'a été observée après 28 jours de traitement quelle que soit la voie d'administration utilisée. En conclusion, ces premiers résultats suggèrent un potentiel neurotoxique pour ce polluant qui dépend de la dose administrée. Cependant, l'intensité de la réponse comportementale varie sensiblement entre les deux études, suggérant une modulation des effets du fluorène en fonction de la voie d'entrée et donc de son métabolisme.

# **Brain derived neurotrophic factor (BDNF) enhances the expression of the neuronal monocarboxylate transporter MCT2 by a translational mechanism in cultured cortical neurons**

**Robinet C, Pellerin L**

Département de Physiologie, Université de Lausanne  
*camille.robinet@unil.ch*

MCT2 is the predominant monocarboxylate transporter in neurons involved in the transport of lactate which seems to play a key metabolic role. It was recently shown that noradrenaline, insulin and IGF-1 can upregulate the expression of MCT2 in cultured cortical neurons by a mechanism involving activation of phosphoinositide 3-kinase/Akt and translational activation via the mTOR/S6 kinase pathway. BDNF is known to activate different signalling pathways via the TrkB receptor that leads to a translational activation, e.g. PI3K/Akt, p38 Kinase and MAPK pathways. Indeed, western blot analysis showed that p44/p42 mitogen-activated protein kinase (MAPK), Akt and S6 were strongly phosphorylated upon BDNF treatment. Western blot analysis and immunocytochemistry quantification also revealed that BDNF significantly increased the level of MCT2 protein, but not mRNA in cultured cortical neurons, suggesting a translational regulation. In order to determine by which signal transduction pathway(s) BDNF mediates its upregulation of MCT2 expression, the effect of specific inhibitors for p38 MAPK (SB202190), PI3K (LY294002), mTOR (rapamycin), MEK (PD98058) and JAK2 (AG490) was evaluated. It could be observed by western blot that the BDNF-induced increase in MCT2 protein expression was almost completely blocked by each of these inhibitors except AG490. These data indicate that BDNF induces an increase in neuronal MCT2 protein expression by a mechanism involving a parallel stimulation (and possible synergistic effect) of PI3K/Akt, p38 MAPK and p44/p42 MAPK. Moreover, it further suggests that changes in MCT2 expression could participate in the process of synaptic plasticity induced by BDNF.



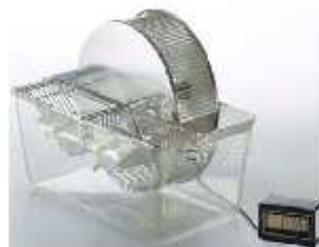
Appareil de mesure des troubles de la marche (rat ou souris)



Roue asservie permettant l'étude de l'effort physique



Tous types de labyrinthes, Porsolf, contention, plateau à féces



Cage de vie avec compte-tours de roue pour mesure de l'activité spontanée

**GARDEZ UNE LONGUEUR D'AVANCE !**

**INTELLIBIO  
MET SA CAPACITE D'INNOVATION  
AU SERVICE DE VOTRE DEVELOPPEMENT**

**Etude**

**Conception**

**Commercialisation**

**Labellisée entreprise innovante, nous concevons et commercialisons des systèmes d'analyses et appareils de tests comportementaux destinés à la recherche pré clinique.**

**Ensemble, innovons aujourd'hui pour la recherche de demain...**



Pour vos études, vous êtes à la recherche de spécificités et de services associés, vous avez besoin de tests évolués à haut niveau de performance dans le strict respect de l'éthique relative aux travaux sur les animaux.

IntelliBio répond à vos problématiques techniques et économiques avec des développements sur mesure.

IntelliBio, c'est aussi une large gamme d'appareils de tests pour vos travaux : Locomotion - Activité - Exercice - Nutrition - Anxiété et Dépression - Mémoire et Apprentissage,...



Cage de vie avec mangeoire motorisée pour restriction alimentaire et pesée en g. des quantités de nourriture ingérée



Roue d'activité avec enregistrement de : rotations, vitesse, accélération, durée... (rat ou souris)



Système d'analyse vidéo automatisé pour de nombreux tests de mémoire et apprentissage

[www.intelli-bio.com](http://www.intelli-bio.com)

**Société INTELLIBIO**

17 avenue du Général de Gaulle - 54280 SEICHAMPS - FRANCE

Tel : +33(0)3 83 28 16 04 Fax : +33 (0)9 58 49 16 04



L'innovation à vos exigences

Photos non contractuelles - Mars 2009