



HAL
open science

Comment le cerveau se débarrasse des synapses surnuméraires au cours du développement

Sabine Lévi, Christophe Bernard

► **To cite this version:**

Sabine Lévi, Christophe Bernard. Comment le cerveau se débarrasse des synapses surnuméraires au cours du développement. *Médecine/Sciences*, 2022, 38 (6-7), pp.511-513. 10.1051/medsci/2022076 . hal-03810392

HAL Id: hal-03810392

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-03810392v1>

Submitted on 11 Oct 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Comment le cerveau se débarrasse des synapses surnuméraires au cours du développement

How the brain gets rid of supernumerary synapses during development

Authors: Sabine Lévi ¹ and Christophe Bernard ²

Affiliations:

¹ INSERM UMR-S 1270, Sorbonne Université, Institut du Fer à Moulin, 75005, Paris, France.

² Aix Marseille Univ, INSERM, INS, Inst Neurosci Syst, Marseille, France.

Contacts chercheurs :

Sabine Lévi

DR CNRS,
sabine.levi@inserm.fr
+33688033509
Institut du Fer à Moulin (Inserm/Sorbonne Université)
17 rue du Fer à Moulin
75005 Paris

Christophe Bernard

DR Inserm
christophe.bernard@univ-amu.fr
+33491299806
Institut de neurosciences des systèmes (Aix-Marseille Université/Inserm)
27, bd Jean Moulin
13005 Marseille

Au cours du développement, les étapes de formation des synapses dans le système nerveux central font appel à un mécanisme stéréotypé appelé synaptogenèse. Cela débute avec l'élongation de l'axone, l'exploration de l'environnement par le cône de croissance axonal, la reconnaissance de la cible puis la formation en tant que telle de la synapse avec la différenciation des éléments pré- et post-synaptiques [1]. Les vésicules synaptiques enrichies en neurotransmetteur (i.e. contenant l'acide γ -aminobutyrique (GABA) aux synapses inhibitrices GABAergiques ou le glutamate aux synapses excitatrices glutamatergiques) s'accumulent progressivement dans l'élément présynaptique alors que les récepteurs aux neurotransmetteurs correspondants (récepteur GABA_A et récepteurs AMPA et NMDA) qui diffusent librement dans la membrane plasmique sont alors capturés aux synapses via leur liaison aux molécules d'échafaudage (la géphyrine et la PSD95 aux synapses inhibitrices et excitatrices respectivement), qui les ancrent au cytosquelette sous-membranaire [1]. La différenciation de la synapse et l'adéquation pré- et post- synaptique requièrent des molécules d'adhésion cellulaire trans-synaptiques comme les neuroligines postsynaptiques qui interagissent avec les neurexines présynaptiques et les protéines de la famille Slit et Trk-like postsynaptiques qui se lient aux protéines présynaptiques tyrosine phosphatases [1-2].

Les connexions synaptiques sont produites en surnombre. Le mécanisme par lequel le cerveau en développement se débarrasse des synapses surnuméraires est mal compris. Seules les synapses actives capables de libérer le neurotransmetteur sont maintenues [1, 3]. Le neurotransmetteur GABA et le récepteur GABA_A sont impliqués de manière activité-dépendante dans la stabilisation et l'élagage des synapses GABAergiques [3]. L'adénosine triphosphate (ATP) et l'adénosine, un produit de transformation de l'ATP, sont libérés avec le GABA au niveau des synapses [4] pour être perçues par les récepteurs métabotropiques A_{2A} et A₁ de l'adénosine, des récepteurs couplés à des protéines Gs et Gi et dont l'activité est de contrôler le niveau intracellulaire d'AMP cyclique et ainsi l'activité de la Protéine Kinase A

qui a de nombreuses cibles neuronales [5]. Nous avons donc testé le rôle de la signalisation adénosine dans la stabilisation et l'élimination des synapses GABAergiques naissantes.

Pour être impliquée dans les étapes cruciales de la synaptogenèse, une molécule et/ou une voie de signalisation doit répondre à certains critères [1]. Cette molécule et/ou voie de signalisation : 1) doit être opérante pendant la fenêtre temporelle de la synaptogenèse, 2) le blocage de son activité ou sa suppression doivent avoir un impact majeur sur le nombre de synapses, 3) doit réguler/se lier aux molécules clés impliquées dans la synaptogenèse, et 4) le mécanisme sous-jacent doit dépendre de l'activité neuronale. Nous avons cherché à savoir si la signalisation adénosine répondait à ces exigences.

Nous avons montré dans l'hippocampe de souris en développement, entre les jours postnataux P5 et P16 i.e. pendant la période de synaptogenèse, une augmentation de la libération d'ATP et d'adénosine dépendante de l'activité neuronale. Cela s'accompagnait d'une augmentation de l'expression de CD73, l'enzyme de conversion de l'AMP en adénosine. Ces effets étaient transitoires : il y a plus d'ATP et d'adénosine libérés aux synapses pendant la période de synaptogenèse qu'au stade adulte. Cela s'accompagnait *in vitro* et *in vivo* d'une augmentation transitoire pendant la phase de synaptogenèse de l'expression du récepteur A_{2A} mais pas du récepteur A_1 , un autre récepteur de l'adénosine majoritaire dans l'hippocampe [5]. Une analyse morphologique, effectuée dans des neurones hippocampiques en culture en microscopie à super-résolution et *in vivo* en microscopie électronique, a révélé que le récepteur A_{2A} s'accumulait à la périphérie de la densité postsynaptique des synapses inhibitrices GABAergiques pendant cette période clé du développement alors que ces mêmes récepteurs étaient détectés à distance de la synapse dans des neurones matures. Ces résultats nous ont amené à proposer que le récepteur A_{2A} et son ligand jouent un rôle particulier dans la formation des synapses GABAergiques.

Nous avons alors montré que les récepteurs A_{2A} contrôlent le destin des synapses GABAergiques. La suppression des récepteurs A_{2A} par une approche shRNA, leur blocage pharmacologique ou l'élimination de l'adénosine ambiante entraînaient la déstabilisation des sites pré- et post-synaptiques (Figure 1A). Ainsi, la synapse est déstabilisée et se détache en absence d'une activation du récepteur A_{2A} . Ces observations s'accompagnaient d'une perte de synapses fonctionnelles d'après la réduction de la fréquence des courants synaptiques inhibiteurs dans les tranches d'hippocampe pré-traitées avec un antagoniste du récepteur A_{2A} . En suivant en vidéomicroscopie le devenir des synapses actives – celles capables de recycler le neurotransmetteur lors de cycles répétés d'exocytose et d'endocytose- nous avons montré que seules les synapses actives sont régulées par l'adénosine. Puis, nous avons constaté que si les récepteurs A_{2A} restaient inactifs pendant plus de 20 minutes, la déstabilisation des synapses était irréversible. Sachant qu'il faut 3 à 4h pour former une nouvelle synapse [6], ce résultat nous permet de proposer que la voie adénosine est impliquée dans la stabilisation plutôt que dans la formation de nouvelles synapses inhibitrices. Puis, nous avons cherché le mécanisme moléculaire sous-jacent.

Il est connu que le GABA et les récepteurs $GABA_A$ activés ont un rôle similaire dans la stabilisation des synapses inhibitrices naissantes [3]. Dans le cerveau en développement (jusqu'à la deuxième semaine postnatale), la transmission synaptique médiée par le récepteur $GABA_A$ est excitatrice [7]. L'effet excitateur du GABA est crucial pour le bon développement du cerveau. Il contrôlerait un grand nombre de processus développementaux dont la migration et la différenciation neuronale, la neuritogénèse et la synaptogenèse [7]. Son activation induit l'ouverture de canaux calciques dépendants du voltage et il en résulte un influx de calcium dans le neurone. Il a été proposé que cet influx de calcium stabilise la synapse nouvellement formée par un mécanisme inconnu. Nous avons voulu savoir si les récepteurs A_{2A} et $GABA_A$ étaient interchangeables pour stabiliser les synapses. Nous avons constaté que l'activation des

récepteurs A_{2A} est nécessaire et suffisante pour la stabilisation des synapses GABAergiques, alors que l'activation des récepteurs $GABA_A$ n'est pas requise tant que les récepteurs A_{2A} restent activés. Ainsi, le récepteur $GABA_A$ agirait en amont de la voie de signalisation couplée au récepteur A_{2A} . Nous avons ensuite montré que la voie de signalisation des récepteurs $GABA_A$ converge au niveau des adényl cyclases stimulées par la calmoduline calcium-dépendante pour produire de l'AMP cyclique. En effet, l'activation simultanée des récepteurs A_{2A} et $GABA_A$ avait des effets additifs sur la production d'AMP cyclique. Ainsi, l'adényl cyclase agit comme un détecteur de coïncidence de l'activité des récepteurs A_{2A} et $GABA_A$ pour stabiliser les synapses. L'AMP cyclique une fois produite active à son tour la Protéine kinase A qui phosphoryle ensuite la géphyrine, qui stabilise les synapses GABAergiques en ancrant au cytosquelette d'une part les récepteurs $GABA_A$ et d'autre part les molécules trans-synaptiques Slitrk3 qui sont reliées à l'élément pré-synaptique via leur liaison aux protéines transmembranaires présynaptiques PTP- δ .

Ces données permettent de proposer que le récepteur A_{2A} agit comme un détecteur d'activité de la terminaison présynaptique et un mécanisme qui élimine la synapse lorsque le détecteur n'est pas activé (Figure 1B). Nous avons montré que le détecteur de synapses actives est opérant pendant une fenêtre temporelle périnatale. La caféine, la drogue psychoactive la plus couramment consommée dans le monde, y compris pendant la grossesse et l'allaitement, est un bloqueur naturel du récepteur A_{2A} . L'exposition à la caféine pendant la période périnatale de la synaptogenèse pourrait déclencher la suppression de certaines synapses, avec des effets délétères à long terme. Nos données montrent qu'une exposition transitoire à la caféine pendant cette phase cruciale du remaniement synaptique amène à des déficits cognitifs. De plus, des travaux récents ont montré une régulation à la hausse du récepteur A_{2A} dans le cerveau âgé qui serait instrumental au déclin de la fonction synaptique et à la neurodégénération [8-9]. Des études futures diront si le mécanisme identifié ici de

stabilisation/élimination des synapses au cours du développement est réactivé dans les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer et si le ciblage de cette voie pourrait limiter la perte synaptique et le déclin cérébral dans la maladie d'Alzheimer.

Pour en savoir plus: Convergence of adenosine and GABA signaling for synapse stabilization during development. Gomez-Castro F, Zappettini S, Pressey JC, Silva CG, Rousseau M, Gervasi N, Figueiredo M, Montmasson C, Renner M, Canas PM, Gonçalves FQ, Alçada-Morais S, Szabó E, Rodrigues RJ, Agostinho P, Tomé AR, Caillol G, Thoumine O, Nicol X, Leterrier C, Lujan R, Tyagarajan SK, Cunha RA, Esclapez M, Bernard C, Lévi S. *Science*. 5 novembre 2021. doi: 10.1126/science.abk2055.

Références:

1. Südhof TC. Towards an understanding of synapse formation. *Neuron* 2018; 100, 276-93.
2. Craig AM, Kang Y. Neurexin-neuroigin signaling in synapse development. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2007; 17, 43–52.
3. Huang ZJ, Scheiffele P. GABA and neuroigin signaling: Linking synaptic activity and adhesion in inhibitory synapse development. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2008 ; 18, 77–83.
4. Pankratov Y, Lalo U, Verkhratsky AR, et al. Vesicular release of ATP at central synapses. *Pflugers Arch - Eur J Physiol.* 2006; 452, 589-97.
5. Fredholm BB, Chen JF, Cunha RA, et al. Adenosine and brain function. *Int Rev Neurobiol.* 2005; 63, 191-270.
6. Dobie FA, Craig AM. Inhibitory synapse dynamics: Coordinated presynaptic and postsynaptic mobility and the major contribution of recycled vesicles to new synapse formation. *J. Neurosci.* 2011; 31, 10481-93.
7. Ben-Ari Y. Excitatory actions of gaba during development: the nature of the nurture. *Nat Rev Neurosci.* 2002; 3, 728-39.

8. Temido-Ferreira M, Ferreira DG, Batalha VL, et al. Age-related shift in LTD is dependent on neuronal adenosine A_{2A} receptors interplay with mGluR5 and NMDA receptors. *Mol Psychiatry*. 2020; 25, 1876-1900.

9. Carvalho K, Faivre E, Pietrowski MJ, et al. Exacerbation of C1q dysregulation, synaptic loss and memory deficits in tau pathology linked to neuronal adenosine A_{2A} receptor. *Brain* 2019; 142, 3636-54.

Légende de la figure :

Figure 1. Mécanisme de stabilisation/élimination des synapses GABAergiques naissantes.

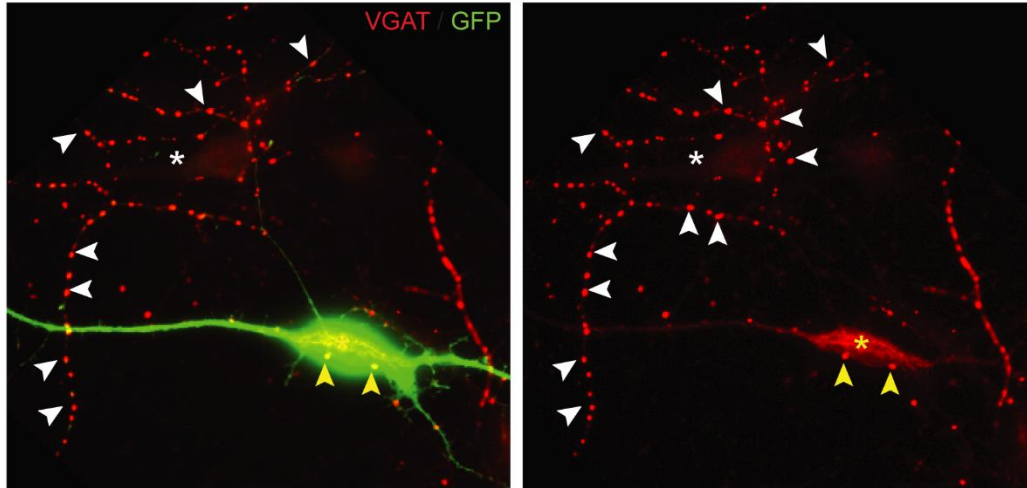
A, Images montrant un neurone d'hippocampe qui a perdu ses synapses GABAergiques en l'absence du détecteur d'activité. En rouge : les synapses GABAergiques marquées avec VGAT; en vert: un neurone transfecté (GFP) dans lequel le récepteur A_{2A} a été supprimé avec un shRNA. Le neurone qui n'exprime plus le récepteur A_{2A} n'a que quelques connexions synaptiques (flèches jaunes) autour de son corps cellulaire (étoile jaune). En revanche, un neurone non fluorescent, situé à proximité du neurone vert et dans lequel le récepteur A_{2A} est conservé présente un grand nombre de synapses (flèches blanches) autour de son corps cellulaire (étoile blanche) et le long de ses ramifications.

B, Schéma montrant à la synapse naissante active (gauche), la libération conjointe d'ATP/GABA et la transformation locale d'ATP en adénosine active les A_{2A}R et les GABA_AR, qui convergent au niveau de l'adényl cyclase sensible à la Ca²⁺-Calmoduline. L'AMPC ainsi produite va à son tour stabiliser la synapse, via le recrutement par la géphyrine phosphorylée sur la Serine 303, les GABA_AR et les molécules trans-synaptiques Slitrk3-PTPδ. A la synapse inactive (droite), en l'absence de libération d'ATP/GABA, cette voie n'est pas activée et la synapse est rapidement éliminée. ATP: adénosine triphosphate; ADO:

adénosine; GABA: acide γ -aminobutyrique; $A_{2A}R$: récepteur de l'adénosine de type 2A; $GABA_A R$: récepteur GABA de type A; VDCC : canal calcique dépendant du voltage; AC1/8: adényl cyclases 1/8; PTP δ : protéine tyrosine phosphatase δ ; Slitrk3 : membre 3 de la famille Slit- et Trk-like.

© Ferran Gomez-Castro & Sabine Lévi

A



B

