



Une approche protéomique pour mieux appréhender les dialogues et conflits moléculaires entre hôtes et parasites

Nous avons utilisé l'électrophorèse bidimensionnelle et la spectrométrie de masse afin d'identifier les éventuelles protéines d'intérêt. L'étude des protéines exprimées par le génome de l'hôte et par celui du parasite à l'aide de la protéomique (ou parasitoprotéomique) offre une vision rapide et globale du dialogue moléculaire mis en place au cours de la manipulation [5]. Prenant en compte la possibilité d'éventuels croisements moléculaires entre la sauterelle et son parasite *via* la synthèse de protéines mimétiques, nous avons réalisé des recherches de protéines exprimées de manière différentielle dans le cerveau d'hôtes manipulés comparés à des hôtes sains et confronté ces protéines avec celles produites par le parasite.

Des protéines mimétiques pour modifier le comportement de l'hôte

Les principaux résultats de cette étude montrent que le nématomorphe, *S. tellinii*, peut modifier le comportement de la sauterelle, *M. thalassinum*, en produisant des molécules effectrices qui agissent directement sur le système nerveux central de l'hôte. L'un des résultats les plus fascinants de cette étude est que deux de ces protéines sécrétées par le

nématomorphe sont mimétiques à celles produites par la sauterelle. Ces protéines appartiennent à la famille des Wnt et sont exprimées de manière différentielle dans les cerveaux de sauterelles lors de l'expression du comportement modifié. Ces protéines mimétiques auraient ainsi une place importante dans la cascade d'événements à l'origine de l'altération du comportement de l'hôte. Il est souvent admis que les parasites exploitent principalement des méthodes indirectes ou moins coûteuses en énergie pour modifier le comportement de leur hôte. Toutefois, la particularité de notre système est très certainement la grande taille du parasite, ce qui rend possible la production en assez grande quantité de molécules mimétiques effectrices qui agiraient directement sur le système nerveux des insectes hôtes. Aussi, plusieurs familles de protéines liées au fonctionnement normal du système nerveux central de l'hôte sont perturbées durant la manipulation par *S. tellinii*. Finalement, l'expression différentielle de protéines liées à l'apoptose cellulaire a été observée, et cela corrobore des études suggérant la modulation possible de ce mécanisme cellulaire par les parasites.

Un avenir prometteur dans la lutte des maladies vectorielles

De nombreuses maladies parasitaires nuisibles à l'homme sont transmises par

des insectes vecteurs hématophages. Un nombre croissant de travaux montre que la sélection a favorisé les parasites capables de manipuler leurs vecteurs afin d'augmenter leur chance d'être transmis [6]. Ainsi la protéomique sera dans les années à venir un outil essentiel pour comprendre les mécanismes sous-jacents de ces altérations du comportement et pourrait apporter des informations précieuses dans la lutte contre ces maladies. ♦

Parasitic manipulation : where are we and where should we go ?

RÉFÉRENCES

1. Thomas F, Adamo S, Moore S. Parasitic manipulation : where are we and where should we go ? *Behav Process* 2005 ; 68 : 185-99.
2. Moore J. *Parasites and the behaviour of animals*. Oxford series in ecology and evolution. New York : Oxford University Press, 2002.
3. Thomas F, Schmidt-Rhaesa A, Martin G, et al. Do hairworms (*Nematomorpha*) manipulate the water-seeking behaviour of their terrestrial hosts ? *J Evol Biol* 2002 ; 15 : 356-61.
4. Biron DG, Marché L, Ponton F, et al. Behavioural manipulation in a grasshopper harbouring hairworm : a proteomics approach. *Proc Roy Soc Lond B* 2005 (sous presse).
5. Biron DG, Moura H, Marché L, et al. Towards a new conceptual approach to parasitoproteomics. *Trends Parasitol* 2005 ; 21 : 162-8.
6. Hamilton JGC, Hurd H. Parasite manipulation of vector behaviour. In : Lewis EE, Campbell JF, Sukhdeo MVK, eds. *The behavioural ecology of parasites*. London : CABI publishing, 2002.

NOUVELLE

Et l'épilepsie devient une maladie de l'astrocyte

Hervé Chneiweiss

Inserm U.114, Collège de France, 11, place
Marcelin Berthelot, 75231 Paris Cedex 05, France.
hervé.chneiweiss@college-de-france.fr

► Qu'il devient lointain le temps du dogme central de la neurobiologie où le tissu noble, seul habilité à transporter l'information, était constitué par les réseaux de neurones, tandis que les cellules gliales étaient réduites au rôle de tissu de

soutien, tout juste dignes de fournir quelques substrats énergétiques à leurs augustes voisins ! Depuis 20 ans, les travaux portant sur la macroglie, astrocytes et oligodendrocytes, ont révélé de multiples fonctions pour ces cellules, y

compris des fonctions essentielles dans le domaine de la communication cellulaire [1]. La synapse, zone de contact entre deux neurones où l'information est transférée de l'un à l'autre sous forme d'amplitude de libération d'une molécule

de communication, le neurotransmetteur, est devenue neuro-astrocytaire.

Astrocyte et synapse

En effet, les astrocytes jouent un rôle majeur dans l'élimination rapide des ions et des neurotransmetteurs par des systèmes de recapture puissants, permettant ainsi une régénération rapide de la capacité de transmission de l'information. L'exemple même de cette fonction est la synapse excitatrice la plus fréquemment rencontrée dans le système nerveux : la synapse glutamatergique. Les transporteurs astrocytaires, essentiellement EAAT2/GLT1 chez l'adulte, éliminent rapidement le glutamate de la synapse. Il existe de plus un couplage métabolique entre l'entrée de glutamate et la libération par l'astrocyte de glucose ou de lactate, permettant un fonction-

nement harmonieux de la synapse. La perte des transporteurs, observée dans certaines maladies neurodégénératives humaines comme la sclérose latérale amyotrophique (SLA), entraîne une augmentation des concentrations de glutamate extracellulaire et une excitotoxicité qui aboutit à la perte neuronale. Il en est de même lors d'une ischémie où la modification morphologique de l'astrocyte (*swelling*) induit une inactivation des transporteurs du glutamate, aggravant la perte neuronale. Il est également possible d'observer des situations où les transporteurs fonctionnent à l'envers, c'est-à-dire où les astrocytes libèrent du glutamate au lieu de le recapter. Au cours des dernières années, plusieurs groupes travaillant sur un modèle de tranches d'hippocampe maintenues en survie ont mis en évidence une libération

de glutamate *in situ* à partir des astrocytes. Cette libération provoque l'apparition de courants transitoires lents dans les neurones voisins par stimulation de récepteurs de type NMDA [2, 3].

Astrocyte et épilepsie

L'épilepsie est la pathologie neurologique la plus fréquente après la migraine. Elle se caractérise par la décharge paroxystique et hypersynchrone d'un groupe de neurones. Une des questions fondamentales de l'épileptologie réside dans la compréhension du mécanisme de synchronisation des cellules lors des crises focales. Un article du groupe de Maiden Nedergard [4] place aujourd'hui l'astrocyte au cœur du mécanisme de synchronisation. Depuis les années 60, il est connu grâce aux enregistrements EEG que la crise d'épilepsie corticale focale se caractérise par l'apparition d'une onde de dépolarisation lente de 50 à 200 millisecondes, observée dans tous les neurones au même moment et baptisée PDS (*paroxysmal depolarization shift*). L'analyse fine du PDS a montré qu'il était lié à un potentiel synaptique dépendant de l'activation des récepteurs AMPA, les principaux récepteurs-canaux sensibles au glutamate, et que les récepteurs NMDA, également canaux et sensibles au glutamate, jouaient un certain rôle dans la phase tardive du PDS [5]. La principale différence existant entre le PDS et les crises généralisées réside dans l'existence d'une phase inhibitrice finale lors du PDS.

Où sont nos astrocytes dans cette affaire ? Jusqu'à présent, de pauvres victimes collatérales de la pathologie neuronale. Il est effectivement bien connu que la survenue de crises comitiales provoque une modification morphologique des astrocytes avec hypertrophie du corps cellulaire et augmentation apparente de leur nombre, la gliose réactive chronique. Des enregistrements électriques lors des crises montraient également une onde de dépolarisation lente correspondant bien à la capture passive de potassium, massivement libérée à la

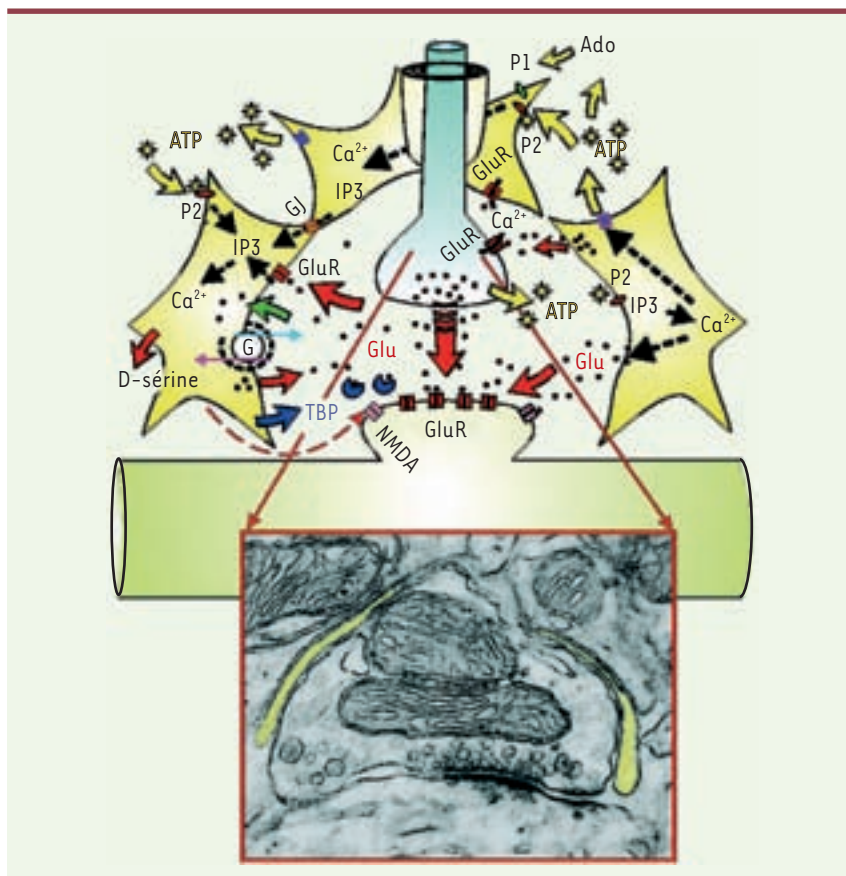


Figure 1. Les astrocytes (en jaune) participent de façon active au fonctionnement des synapses (ici glutamatergique, agrandie dans l'encart en microscopie électronique).



suite de la décharge neuronale, par des cellules largement connectées grâce à des jonctions de type *gap* [6]. Il semble toutefois possible d'observer une gliose précédant la survenue des crises dans certains modèles. La réaction astrocytaire ne serait donc pas obligatoirement secondaire à la crise.

Le travail présenté aujourd'hui bénéficie des dernières avancées de la technologie d'imagerie cellulaire du calcium. Les auteurs ont chargé les cellules de l'hippocampe (gyrus et CA1) avec du calcium « cagé ». L'exposition à une source laser permet la libération et la brusque élévation intracellulaire du calcium. La technique utilisée, couplée à la technologie de microscopie en double photon, permet de cibler une cellule particulière et d'enregistrer les conséquences dans les cellules voisines. Lorsque le calcium est libéré au sein d'un astrocyte, on observe dans les neurones avoisinants l'appari-

tion d'une dépolarisation typique d'un PDS. Si le calcium est libéré dans le cytoplasme d'un neurone, rien ne se passe. De façon intéressante, les auteurs ont testé 5 modèles différents de genèse des crises. Dans chaque cas, l'interférence avec la transmission neuronale n'affecte pas le PDS tandis que le blocage des vagues calciques se transmettant d'astrocytes en astrocytes ou l'inhibition de l'augmentation intracellulaire du calcium astrocytaire inhibe totalement l'apparition du PDS.

Ce travail place donc l'astrocyte au cœur du mécanisme de synchronisation de la crise. Comment s'intègrent ces données dans la véritable clinique d'une crise chez l'homme ? Au moins dans le phénomène de réentrée qui met en résonance la décharge neuronale et la réponse gliale lors de la crise. Quel est l'œuf et quelle est la poule ? La réponse reste ouverte, mais la modulation des trans-

porteurs astrocytaires du glutamate devient une nouvelle cible thérapeutique pour le contrôle de crises particulièrement invalidantes. ♦

An astrocytic basis of epilepsy

RÉFÉRENCES

1. Araque A, Perea G. Glial modulation of synaptic transmission in culture. *Glia* 2004 ; 47 : 241-8.
2. Fellin T, Pascual O, Gobbo S, et al. Neuronal synchrony mediated by astrocytic glutamate through activation of extrasynaptic NMDA receptors. *Neuron* 2004 ; 43 : 729-3.
3. Angulo MC, Kozlov AS, Charpak S, Audinat E. Glutamate released from glial cells synchronizes neuronal activity in the hippocampus. *J Neurosci* 2004 ; 24 : 6920-7.
4. Tian GF, Azmi H, Takano T, et al. An astrocytic basis of epilepsy. *Nat Med* 2005 ; 11 : 973-81.
5. Dingledine R, Hynes MA, King GL. Involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in epileptiform bursting in the rat hippocampal slice. *J Physiol (Lond)* 1996 ; 380 : 175-89.
6. Nett WJ, Olhoff SH, McCarthy KD. Hippocampal astrocytes *in situ* exhibit calcium oscillations that occur independent of neuronal activity. *J Neurophysiol* 2002 ; 87 : 528-37.

NOUVELLE

Dynamique d'assemblage des machineries nucléolaires après la mitose, en temps réel et en cellules vivantes

Danièle Hernandez-Verdun

Institut Jacques Monod, 2,
place Jussieu, 75251 Paris
Cedex 05, France
dhernand@ccr.jussieu.fr

protéines-protéines dans les PNB [6]. Notre but est de comprendre le rôle des PNB au cours de l'assemblage du nucléole.

Méthodes utilisées

Nous avons utilisé la vidéo microscopie pour comparer la dynamique des protéines avec des étiquettes fluorescentes vertes (GFP) ou rouge (DsRed). Nous avons comparé les concentrations des protéines de maturation précoces ou tardives dans les PNB. Enfin nous avons utilisé une méthode de FRET (*fluorescence resonance energy transfer*) fondé sur la décroissance de la durée de vie de la GFP (donneur) en présence de DsRed (accepteur) [7]. Cette analyse non invasive, est réalisée pendant l'assemblage du nucléole et mesure la distance entre les deux étiquettes fluorescentes. La distance entre la GFP et la DsRed est inférieure à 7 nm s'il y a FRET ce

> Le noyau des cellules est réorganisé après chaque mitose. Ce qui implique la reformation de l'enveloppe nucléaire, la décondensation de la chromatine et la réorganisation des machineries nucléaires. Il faut réadresser les machineries au bon endroit au bon moment pour rassembler un noyau fonctionnel.

La re-formation du nucléole, site de la biogenèse des ribosomes, a été choisi comme système modèle [1, 2]. Nous cherchons à comprendre comment les machineries de maturation des ARN ribosomiques (ARNr) sont recrutées sur les

sites de transcription des gènes ribosomiques. Pendant la mitose, les machineries de maturation nucléolaires sont localisées à la périphérie des chromosomes et donc à distance des gènes ribosomiques.

On sait que le recrutement des protéines de maturation n'est pas direct mais fait intervenir une étape intermédiaire : la formation de corps appelés PNB (*pre-nucleolar body*) [3-5]. Dans un travail récent, nous avons comparé la dynamique de formation des PNB, le tri des protéines en fonction du temps et les interactions