

Les connexines astrocytaires nourrissent les synapses

Nathalie Rouach

Inserm U840, Collège de France,
11, place Marcelin Berthelot,
75005 Paris, France.
nathalie.rouach@college-de-france.fr

> Le traitement de l'information cérébrale est onéreux [1]. En effet notre cerveau ne représente que 2 % de notre masse corporelle mais consomme 20 % de son glucose et de son oxygène, tous deux fournis par le sang. Le rôle des cellules gliales, qui constituent les cellules majoritaires du cerveau, et plus particulièrement des astrocytes, dans l'approvisionnement énergétique des neurones, fait partie des fonctions qui leur sont le plus anciennement attribuées. En effet, en 1886, les travaux de Golgi soulignaient déjà la position stratégique des prolongements astrocytaires entre les capillaires sanguins et les neurones, suggérant que les astrocytes constituaient une voie de passage privilégiée pour le transfert de substrats énergétiques de la circulation sanguine vers le neurone (→) [2].

(→) voir l'article de N. Spassky et I. Caillé, page 17 de ce numéro

Cette fonction métabolique nutritive des astrocytes, depuis lors confirmée, est influencée par des signaux neuronaux tels que le glutamate, qui leur permettent d'adapter la capture de glucose via leurs transporteurs, au niveau d'activité neuronale [3]. Le glucose peut alors être stocké sous forme de glycogène et être métabolisé en lactate, un substrat énergétique utilisé par les neurones [3]. Mais les astrocytes régulent aussi l'apport de glucose aux neurones en modulant le flux sanguin par la vasodilatation ou la vasoconstriction des vaisseaux, qui augmente ou diminue, respectivement, la quantité de glucose disponible. En effet, plusieurs études ont récemment montré que les astrocytes contrôlent

l'hypémie fonctionnelle, consistant en un couplage entre l'activité neuronale et le flux sanguin, via une augmentation de leur concentration intracellulaire en calcium et une production de métabolites de l'acide arachidonique, des messagers qui régulent le tonus vasculaire [4-7]. Les astrocytes jouent donc un rôle important dans l'apport local de substrats énergétiques aux neurones, en contrôlant la microcirculation sanguine et en capturant et métabolisant le glucose. Cependant, les mécanismes moléculaires de délivrance de substrats énergétiques des astrocytes aux neurones, et le rôle de ce transfert dans l'activité neuronale ne sont pas bien compris. Nos travaux ont récemment identifié une propriété des astrocytes impliquée de façon majeure dans cette fonction : leur organisation en réseau via les jonctions communicantes ou jonctions *gap* [8].

Jonctions communicantes et connexines

Les jonctions communicantes assurent aux astrocytes une continuité cytoplasmique et constituent la base morphologique d'une communication inter-astrocytaire directe, consistant en des échanges d'ions et de petites molécules (< 1,2 kDa) [9]. Elles sont constituées de canaux intercellulaires, chacun étant formé par l'apposition de deux hémicanaux de cellules adjacentes, les connexons, eux-mêmes composés de six protéines transmembranaires, les connexines (Cx). Ces jonctions communicantes ont longtemps été décrites comme des autoroutes inter-

cellulaires assurant le transfert passif d'ions et molécules. Cependant de nombreux travaux ont remis en cause cette conception en démontrant la grande diversité de la structure moléculaire des connexines (plus de 20 gènes de Cx ont été clonés chez l'homme), de leurs propriétés biophysiques, de leur sélectivité et de leurs modes de régulation, notamment par des neurotransmetteurs [10].

Organisation et rôle des réseaux astrocytaires métaboliques

Les deux principales connexines astrocytaires sont les Cx43 et Cx30, le chiffre désignant leur poids moléculaire, 43 et 30 kDa [11]. Elles sont particulièrement concentrées dans les pieds astrocytaires périvasculaires et délimitent les contours des vaisseaux sanguins ; cette distribution suggère qu'elles pourraient redistribuer le glucose initialement capté à partir de la circulation sanguine à travers le réseau astrocytaire périvasculaire. Afin de tester cette hypothèse, nous avons analysé la distribution d'un analogue fluorescent du glucose, le 2-NBDG ([N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino]-2 désoxyglucose) dans des tranches d'hippocampe. Cette molécule, comme les colorants injectés par *patch-clamp* dans un astrocyte unique en contact direct avec un capillaire sanguin, diffusent dans le réseau astrocytaire via les jonctions communicantes composées de Cx43 et Cx30 et cette distribution est particulièrement active le long de leurs pieds périvasculaires (Figure 1). Ainsi, les Cx constituent la base moléculaire de réseaux



fonctionnels d'astrocytes perméables au glucose, permettant de proposer la notion de réseaux astrocytaires métaboliques à l'interface gliovasculaire. Ces réseaux se caractérisent par leur plasticité dans leur étendue et dans leur forme : le trafic du glucose à travers les astrocytes connectés dépend en effet de l'activité neuronale. Il est diminué par l'inhibition de l'activité neuronale spontanée et augmenté lors de stimulations synaptiques répétées ou dans des conditions épileptogènes (Figure 1). Dans tous les cas, c'est l'activité synaptique glutamatergique de type AMPA (alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique, agoniste des récepteurs-canaux dont le ligand naturel est le neurotransmetteur glutamate) qui augmente le trafic du glucose. De

façon surprenante cette régulation est restreinte au trafic du glucose et n'intervient pas dans celui de traceurs inertes, démontrant que le glutamate ne régule pas la perméabilité des canaux jonctionnels. En fait, en utilisant la remarquable architecture en couches cellulaires de l'hippocampe, nous avons montré que l'activité synaptique excitatrice déclenche une demande énergétique neuronale locale, provoquant la diffusion du glucose à travers le réseau astrocytaire vers les neurones gourmands. Mais quel est le rôle du glucose des réseaux astrocytaires ? Dans des conditions d'hypoglycémie, qui induisent normalement une inhibition de l'activité neuronale, l'apport de glucose ou de lactate sélectivement à un astrocyte unique permet de maintenir une activité

neuronale intacte, à condition que cet astrocyte soit connecté à ses voisins par des jonctions communicantes formées de Cx43 et de Cx30 (Figure 2). Les astrocytes forment donc un réseau métabolique contribuant au maintien de l'activité synaptique normale, mais aussi d'une activité pathologique de type épileptique, suggérant que les connexines pourraient représenter des cibles alternatives d'intervention thérapeutique dans certaines neuropathologies.

Conclusion

Ces travaux apportent de nouveaux éléments au modèle classique du rôle métabolique nutritif des astrocytes : on les considérait jusqu'à présent comme des cellules isolées, importantes dans l'apport activité-dépendant de

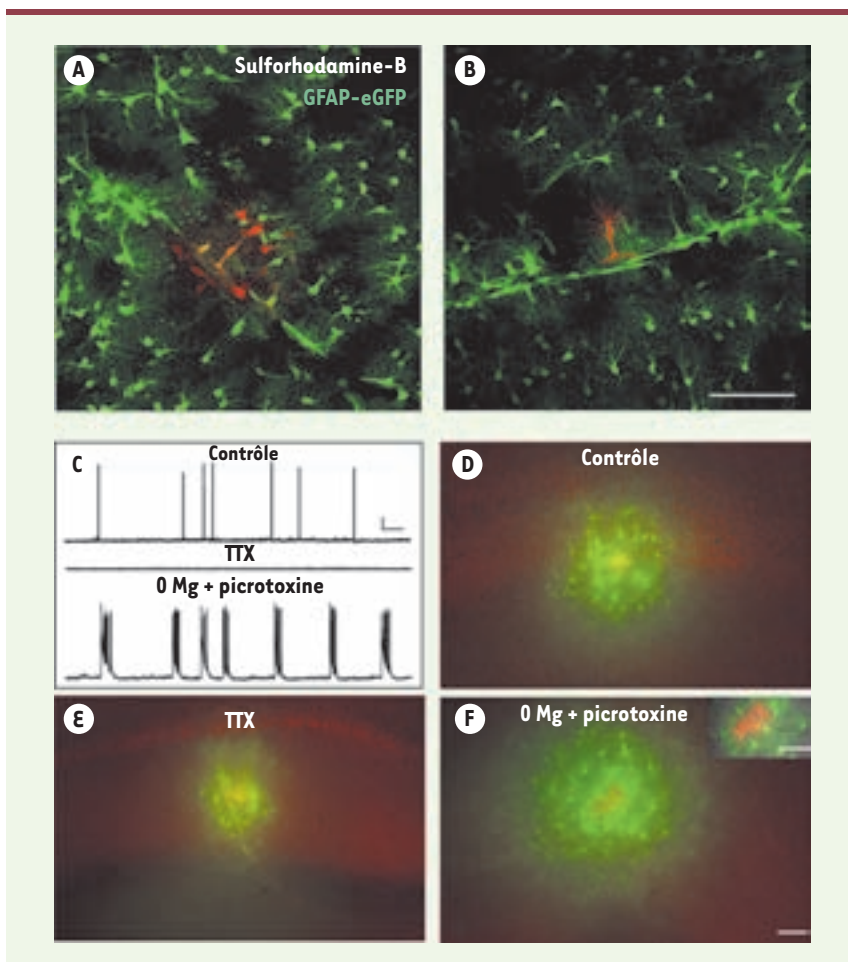


Figure 1. Les réseaux astrocytaires métaboliques périvasculaires sont régulés par l'activité neuronale. **A.** Couplage fonctionnel des astrocytes périvasculaires chez les souris GFAP-eGFP, visualisé par la diffusion d'un colorant, la sulforhodamine-B, dialysée pendant 5 minutes par *patch-clamp* dans un astrocyte périvasculaire et révélant une diffusion préférentielle le long d'un vaisseau sanguin. **B.** Cette diffusion intercellulaire est sous-tendue par les jonctions communicantes car elle est abolie par un inhibiteur des canaux jonctionnels, le carbénoxolone (150 μ m). Échelle, 100 μ m. **C.** Activité spontanée des cellules pyramidales de l'aire CA1 de l'hippocampe enregistrée en courant imposé dans des conditions contrôles, en présence de tétrdotoxine (TTX, 0,5 μ m, 1-4h), un inhibiteur des canaux sodiques et de 0 Mg-picrotoxine (100 μ m, 1-4h), induisant une activité épileptiforme. Échelle, 20 mV, 6.7 sec. **D, E, F.** Illustrations représentatives montrant que la diffusion dans les astrocytes de l'analogue fluorescent du glucose, le 2-NBDG, est diminuée lors d'inhibition de l'activité neuronale (TTX) (**E**) et augmentée dans des conditions épileptiques (0 Mg-picrotoxine) (**F**), comparé aux conditions contrôle (**D**). **F.** Insert illustrant l'astrocyte périvasculaire enregistré, identifié par son marquage par un colorant non

perméable aux canaux jonctionnels, le dextran tétraméthylrhodamine (rouge, 10 kDa) et le 2-NBDG (vert), inclus dans la pipette de *patch-clamp*. Échelles, 50 μ m. GFAP : *glial fibrillar acidic protein* ; eGFP : *extended green fluorescent protein*.

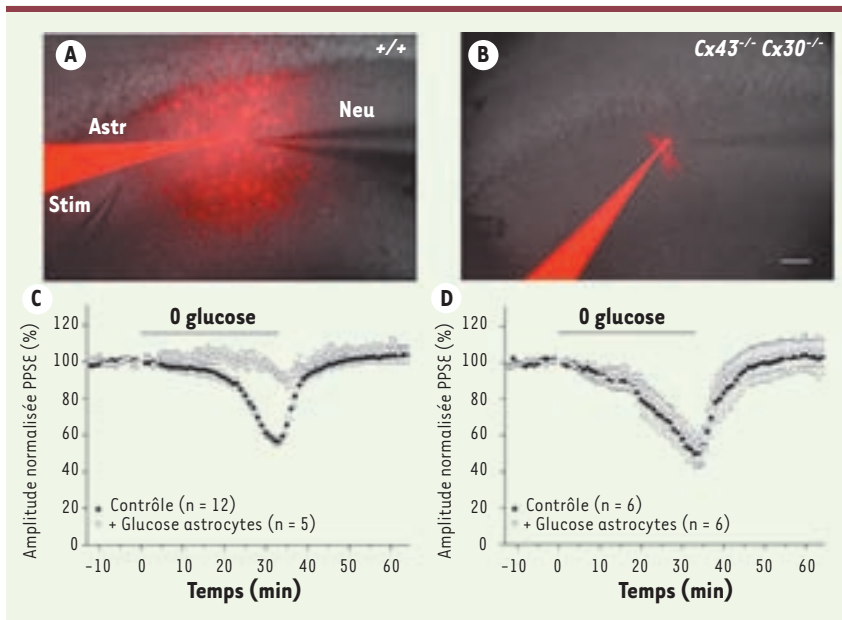


Figure 2. L'apport de substrats énergétiques au réseau astrocytaire soutient la transmission synaptique durant une déprivation exogène de glucose. **A, B.** Illustrations représentatives de la configuration d'enregistrements simultanés, dans des tranches d'hippocampe, de réponses neuronales, consistant en des potentiels de champ post-synaptiques excitateurs (PPSE) (Neu) évoqués par stimulation des collatérales de Schaffer (Stim), et d'un astrocyte (Astr), avec une pipette de patch contenant du glucose ou du lactate (20 mM) et un colorant de faible masse moléculaire perméable aux canaux jonctionnels, la sulforhodamine-B (rouge, 0,1 %). La sulforhodamine-B diffuse massivement dans les astrocytes connectés de souris sauvages (+/+), mais non dans ceux des souris invalidées pour les connexines 43 et 30 (Cx43^{-/-}Cx30^{-/-}), dépourvus de communication jonctionnelle. Échelle, 50 µm. **C-D.** L'apport intracellulaire de glucose (20 mM) à un astrocyte unique (+ glucose astrocytes) par une pipette de patch-clamp inhibe la dépression de l'activité synaptique (amplitude des PPSE) induite par la déprivation exogène de glucose (0 glucose, 32 minutes) chez les souris sauvages (**C**), mais non chez les souris Cx43^{-/-}Cx30^{-/-} (**D**). Ces résultats démontrent le rôle du réseau astrocytaire sous-tendu par les jonctions communicantes dans le soutien de la transmission synaptique.

tion jonctionnelle. Échelle, 50 µm. **C-D.** L'apport intracellulaire de glucose (20 mM) à un astrocyte unique (+ glucose astrocytes) par une pipette de patch-clamp inhibe la dépression de l'activité synaptique (amplitude des PPSE) induite par la déprivation exogène de glucose (0 glucose, 32 minutes) chez les souris sauvages (**C**), mais non chez les souris Cx43^{-/-}Cx30^{-/-} (**D**). Ces résultats démontrent le rôle du réseau astrocytaire sous-tendu par les jonctions communicantes dans le soutien de la transmission synaptique.

substrats énergétiques aux neurones par la régulation du flux sanguin, et par la capture et la métabolisation du glucose. Nos travaux montrent que les réseaux d'astrocytes sous-tendus par les jonctions communicantes jouent un rôle important dans l'apport nutritif, et suggèrent que l'implication des groupes d'astrocytes connectés permettrait au glucose d'atteindre plus efficacement et distalement les sites neuronaux lors d'une forte demande énergétique. Les jonctions communicantes astrocytaires sont donc directement impliquées dans le traitement de l'information cérébrale en organisant une voie intercellulaire de trafic du glucose des vaisseaux sanguins vers les neurones distaux, régulée par l'activité cérébrale. Une telle voie pourrait être importante pour maintenir l'activité et la survie neuronales dans des conditions pathologiques qui diminuent la production d'énergie,

par exemple en cas d'hypoglycémie et d'anoxie/ischémie, conditions dans lesquelles les canaux jonctionnels restent fonctionnels. ♦

Astroglial connexins fuel synapses

REMERCIEMENTS

Human Frontier Science Program Organization (Career Development Award), Agence Nationale de la Recherche (Programme Jeunes Chercheurs), Inserm, German Research Association et IBRO.

RÉFÉRENCES

1. Attwell D, Laughlin SB. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001; 21 : 1133-45.
2. Nathalie Spassky, Isabelle Caillé La niche neurogénique adulte entre dans la troisième dimension. *Med Sci (Paris)* 2009; 25 : 17-8.
3. Pellerin L, Magistretti P. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis : a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91 : 10625-9.

4. Zonta M, Angulo MC, Gobbo S, et al. Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. *Nat Neurosci* 2003; 6 : 43-50.
5. Mulligan SJ, MacVicar BA. Calcium transients in astrocyte endfeet cause cerebrovascular constrictions. *Nature* 2004; 431 : 195-9.
6. Takano T, Tian GF, Peng W, et al. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow. *Nat Neurosci* 2006; 9 : 260-7.
7. Gordon GR, Choi HB, Rungta RL, et al. Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. *Nature* 2008; 456 : 745-9.
8. Rouach N, Koulakoff A, Abudara V, et al. Astroglial metabolic networks sustain hippocampal synaptic transmission. *Science* 2008; 322 : 1551-5.
9. Theis M, Sohl G, Eiberger J, Willecke K. Emerging complexities in identity and function of glial connexins. *Trends Neurosci* 2005; 28 : 188-95.
10. Rouach N, Tencé M, Glowinski J, Giaume C. Costimulation of NMDA and muscarinic neuronal receptors modulates gap junctional communication in striatal astrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99 : 1023-8.
11. Rouach N, Avignone E, Mème W, et al. Gap junctions and connexin expression in the normal and pathological central nervous system. *Biol Cell* 2002; 94 : 457-75.

TIRÉS À PART

N. Rouach