RÉFÉRENCES

5. McDonald DM, Baluk P. Significance of blood vessel leakiness in cancer. *Cancer Res* 2002 ; 62 : 5381-85.
6. Nicolas J, Couvreur P. Les nanoparticules polymères pour la délivrance de principes actifs anti-cancéreux. *Med Sci (Paris)* 2017 ; 33 : 11-17.
7. Taherkhani S, Mohammadi M, Daoud J, et al. Covalent binding of nanoliposomes to the surface of magnetotactic bacteria acting as selfpropelled target delivery agents. *ACS Nano* 2014 ; 8 : 5049-60.
8. Jain RK, Forbes NS. Can engineered bacteria help control cancer? *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 14748-50.
9. Schübbe S, Williams TJ, Xie G, et al. Complete genome sequence of the chemolithoautotrophic marine magnetotactic coccus strain MC-1. *Appl Environ Microbiol* 2009 ; 75 : 4835-52.
10. Felfoul O MM, Taherkhani S, de Lanauze D, et al. Magneto-aerotactic bacteria deliver drug-containing nanoliposomes to tumour hypoxic regions. *Nat Nanotechnol* 2016 ; 11 : 941-7.

NOUVELLE

Rôle des réseaux astrocytaires métaboliques dans le maintien de l'éveil

Jérôme Clasadonte^{1,2}

¹Inserm U1172, Équipe « Développement et plasticité du cerveau neuroendocrine », Centre de recherche Jean-Pierre Aubert, bâtiment Biserte, 1, place de Verdun, 59045 Lille, France.

²Faculté de médecine, université de Lille, projet de recherche fédératif hospitalo-universitaire 1000 jours pour la santé, 59045 Lille, France.

jerome.clasadonte@inserm.fr

Gliotransmission et organisation en réseaux : deux modes de communication privilégiés par les astrocytes pour interagir avec les neurones

Depuis ces deux dernières décennies, les travaux portant sur les astrocytes, les cellules gliales majoritaires du cerveau, ont révélé des fonctions essentielles pour ces cellules dans le domaine de la communication cellulaire [1]. Longtemps réduit au simple rôle de cellule de soutien du tissu cérébral, l'astrocyte est aujourd'hui considéré comme un partenaire actif du neurone capable d'influer directement sur le fonctionnement de la synapse [2] (→).

Les astrocytes sont en effet capables de détecter les neurotransmetteurs libérés dans la fente synaptique suite à l'activité neuronale et d'y répondre de manière active par des augmentations intracellulaires de calcium qui initient la libération de substances neuroactives appelées gliotransmetteurs (comme l'ATP, le glutamate, la D-sérine). Par analogie avec la neurotransmission, cette communication bidirectionnelle qui s'établit entre les neurones et les astrocytes est connue sous le nom de gliotransmission. L'autre propriété

majeure des astrocytes est leur capacité à s'organiser en réseaux de cellules connectées entre elles par des jonctions communicantes ou jonctions *gap* [3]. Les jonctions communicantes sont constituées de deux hémicanaux, les connexons, provenant chacun de cellules adjacentes. Chaque connexon est formé de six protéines transmembranaires appelées connexine (Cx) dont il existe plus d'une vingtaine d'isoformes. Les principales isoformes exprimées par les astrocytes sont les Cx43 et Cx30. Ces jonctions communicantes permettent le transfert entre cellules de petites molécules (d'une taille inférieure à 1,2 kDa) telles que les ions potassium, les seconds messagers intracellulaires (calcium, inositol triphosphate) et les substrats énergétiques (glucose, lactate). Les principales fonctions des réseaux astrocytaires sont de dissiper les ions potassium libérés dans le milieu extracellulaire au cours de l'activité neuronale, de fournir des substrats énergétiques aux neurones, et de faciliter la propagation des signaux calciques qui sont essentiels pour induire la libération des gliotransmetteurs [4]. Il est désormais admis que les astrocytes influencent l'activité des neurones non pas en tant que cellule individuelle, mais comme des groupes de cellules connectées qui communiquent

entre elles *via* les jonctions communicantes. Ce réseau de communication inter-astrocytaire renforcerait notamment la synchronisation de populations neuronales distantes afin de moduler les rythmes biologiques dans divers contextes physiologiques et pathologiques [5] (→).

Des travaux pionniers dans le domaine des interactions neurone-glie avaient notamment démontré le rôle des astrocytes dans la régulation d'un rythme biologique clé pour notre organisme, le sommeil [6]. Cependant, ces travaux exploraient la fonction astrocytaire uniquement à l'échelle des cellules individuelles, ignorant le rôle potentiel de ces réseaux dans cette fonction cérébrale vitale. Les réseaux astrocytaires jouent-ils un rôle dans la physiologie du sommeil ? Dans le but de répondre à cette question, nous avons étudié les conséquences fonctionnelles d'une déconnexion des astrocytes sur le sommeil.

Les réseaux astrocytaires jouent un rôle clé dans le maintien de l'éveil

Afin de déconnecter le réseau d'astrocytes, nous avons étudié des souris transgéniques chez lesquelles le gène codant la Cx43, l'une des principales sous-unités protéiques constitutives des jonctions

(→) Voir la Nouvelle de A. Panatier et R. Robitaille, *m/s* n° 6-7, juin-juillet 2012, page 582

(→) Voir la Nouvelle de O. Chever et al., *m/s* n° 10, octobre 2016, page 820

Figure 1. Localisation des neurones à orexine. **A.** Image en fluorescence, d'une coupe coronale de cerveau de souris passant par l'hypothalamus latéral, prise au microscope confocal et montrant la distribution bilatérale des neurones à orexine (en rouge) positifs pour le neuropeptide orexine-A. Échelle : 200 μ m. tm : tractus mamillaire, fx : fornix, 3V : troisième ventricule, EM : éminence médiane, HL : hypothalamus latéral, HDM : hypothalamus dorsomédian, HVM : hypothalamus ventromédian, NA : noyau arqué. **B.** Grossissement de la zone comprise dans le cadre blanc en (A), montrant les interactions entre les neurones à orexine (en rouge) et les astrocytes (en vert) positifs pour la GFAP (glial fibrillary acidic protein), un marqueur spécifique des astrocytes. Échelle : 25 μ m.

communicantes astrocytaires, a été invalidé sélectivement dans ces cellules [7]. Des enregistrements électroencéphalographiques (EEG) et électromyographiques (EMG), réalisés chez ces souris, mettent en évidence une hypersomnolence au cours de la phase d'activité (la nuit pour la souris). Une analyse de l'hypnogramme, qui rapporte la distribution des épisodes de sommeil et d'éveil au cours d'un cycle jour/nuit de 24 heures (12 heures de lumière pour 12 heures d'obscurité), révèle par ailleurs, une fragmentation des épisodes d'éveil nocturne fréquemment entrecoupés par de courts épisodes de sommeil. L'hypersomnolence et l'éveil instable pendant les phases d'activité sont des signes cliniques de la narcolepsie, un trouble du sommeil causé par un dysfonctionnement du système orexinergique (ou hypocrétergique) [8]. Nous avons donc analysé le fonctionnement des neurones synthétisant l'orexine (ou hypocréatine) localisés dans l'hypothalamus latéral (Figure 1) chez ces souris. Grâce à des enregistrements en *patch-clamp*¹ sur tranches d'hypothalamus

maintenues en survie, nous avons observé que ces neurones présentaient une forte diminution de leur fréquence de décharge spontanée. Ces données laissent ainsi supposer que la région de l'hypothalamus latéral était responsable du phénotype observé. L'utilisation *in vivo* d'un vecteur viral adéno-associé, qui restreint la déconnexion des astrocytes à l'hypothalamus latéral, permet de mimer le phénotype narcoleptique et conforte ainsi cette hypothèse. L'ensemble de ces résultats indique donc que l'hypersomnolence et la fragmentation de l'éveil nocturne, chez ces souris, sont dues à une atteinte spécifique des réseaux astrocytaires de l'hypothalamus latéral, qui retentit sur l'activité des neurones à orexine.

Les réseaux astrocytaires alimentent en énergie les neurones à orexine

D'un point de vue mécanistique, comment l'absence de Cx43 dans les astrocytes peut-elle rendre les neurones à orexine silencieux ? Il est important de rappeler que les astrocytes constituent une voie de passage privilégiée pour le transfert de substrats énergétiques de la circulation sanguine vers le neurone [9] et que les jonctions communicantes constituées de connexine facilitent ce transfert au

sein des réseaux astrocytaires [10]. Par conséquent, la question sous-jacente était de déterminer si la perte d'activité des neurones à orexine, observée à la suite de l'invalidation des Cx43 dans les astrocytes, était due à une altération du trafic du glucose et de son dérivé métabolique, le lactate, à travers le réseau astrocytaire dans l'hypothalamus latéral. Par des approches électrophysiologiques et pharmacologiques sur des tranches de cerveau, nous avons décrit, dans un premier temps, que les neurones à orexine en présence de concentrations physiologiques de glucose (2,5 mM) utilisent préférentiellement le lactate (provenant de la dégradation du glucose) comme substrat énergétique. Plus précisément, une privation exogène de glucose au sein des tranches d'hypothalamus supprime l'activité des neurones à orexine, un effet qui peut être contrecarré en supplémentant en lactate un astrocyte voisin à l'aide d'une électrode de patch-clamp. L'effet restaurateur du lactate est, par ailleurs, bloqué par le 4-CIN (α -cyano-4-hydroxycinnamate), un inhibiteur des transporteurs du lactate (ou transporteurs d'acide monocarboxylique), ce qui suggère l'implication des mouvements de lactate à travers les membranes cellulaires. Ces résultats indiquent donc que les neurones à orexine sont métaboliquement couplés aux astrocytes qui leur fournissent du lactate pour maintenir leur activité. Il est à noter que cette coopération métabolique entre les astrocytes et les neurones, plus connue sous le nom de navette lactate astrocyte-neurone [9], est fonctionnelle dans d'autres régions cérébrales et permet de suppléer aux besoins énergétiques de certaines populations de neurones du cortex et de l'hippocampe [10, 11]. Nous avons évalué, dans un deuxième temps, la fonctionnalité du réseau astrocytaire dans l'hypothalamus latéral au sein de tranches de cerveau en analysant la diffusion d'un traceur intercellulaire, la biocytine. La biocytine injectée dans un seul astrocyte de l'hypothalamus latéral *via* une électrode de patch-clamp

¹ Le *patch-clamp* est une technique électro-physiologique cellulaire d'enregistrement des courants ioniques à travers la membrane plasmique.

Figure 2. Les réseaux astrocytaires métaboliques régulent l'activité des neurones à orexine et sont impliqués dans les mécanismes de contrôle de l'éveil. **A.** Schéma illustrant chez une souris sauvage, le transfert du glucose et du lactate à travers les réseaux astrocytaires de l'hypothalamus latéral (HL) et des capillaires sanguins vers les neurones à orexine. Le glucose circulant dans les capillaires sanguins est capturé par les astrocytes puis converti en lactate au cours du processus de glycolyse. Le lactate, tout comme le glucose, passent à travers les jonctions communicantes constituées de connexine 43 (Cx43) et ainsi transitent au sein des réseaux astrocytaires pour alimenter en énergie les neurones à orexine distants. La décharge de potentiels d'action des neurones à orexine qui en découle permet de stimuler la libération du neuropeptide, ce qui a pour conséquence de maintenir l'état de veille pendant la phase d'activité nocturne de la souris. **B.** Lorsque les astrocytes sont déconnectés, par exemple, chez des souris dont le gène codant la Cx43 astrocytaire a été invalidé, le glucose et le lactate ne sont plus transférés de manière efficace au sein des réseaux astrocytaires de l'HL. Les neurones à orexine subissent ainsi un déficit énergétique qui se traduit par une dépression de leur activité électrique. Ceux-ci ne peuvent donc plus assurer un maintien normal de l'éveil, ce qui entraîne une hypersomnie nocturne chez ces souris.

diffuse d'un astrocyte à l'autre, mettant en évidence des réseaux astrocytaires constitués de plus d'une centaine de cellules. Afin de déterminer si les réseaux astrocytaires de l'hypothalamus latéral permettaient le transfert de substrats énergétiques, un analogue fluorescent du glucose, le 2-NBDG([N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino]-2 désoxy-glucose), a été injecté, comme la biocytine, dans un seul astrocyte. Le 2-NBDG diffuse alors entre les astrocytes et met

en évidence des réseaux astrocytaires formés de plus d'une vingtaine de cellules. Lorsque les expériences ont été réalisées chez les souris n'exprimant pas la Cx43 astrocytaire, l'étendue de la diffusion du 2-NBDG à travers les réseaux astrocytaires a été réduite de moitié. Ce résultat conforte l'hypothèse qu'une perte d'activité des neurones à orexine chez ces animaux, pouvait être la conséquence d'un déficit de transfert de substrats énergétiques (glucose et lactate)

au sein des réseaux astrocytaires de l'hypothalamus latéral. Nous avons également démontré qu'un apport exogène de lactate chez les souris dont le gène codant la Cx43 astrocytaire a été invalidé restaure à la fois l'activité des neurones à orexine *in situ*, mais également les longues périodes d'éveil pendant la phase d'activité nocturne *in vivo*.

En résumé, ces travaux proposent un nouveau concept de régulation du sommeil faisant intervenir les réseaux astro-