

# PHYSIOLOGIE MOLECULAIRE ET INTEGRATIVE

*Présidente* Marie-France Bader *Ce rapport est une actualisation du rapport réalisé en 2006.*

## *Membres de la section*

Isabelle Baro  
Frédéric Bouillaud  
Marcel Crest  
Claude Delcayre  
Barbara Demeneix  
Daniel Henrion  
Eric Honoré  
Mohamed Jaber  
Philippe Kachidian  
Bertrand Lambolez  
Clément Léna  
Carina Prip-Buus  
Damien Roussel  
Martial Ruat  
Dominique Sigaud-Roussel  
Caroline Strube  
Nathalie Turque

## I. INTRODUCTION

Ce qui distingue la physiologie des autres disciplines qui en sont dérivées, c'est l'emphase sur l'étude des fonctions vitales à tous les niveaux de complexité de l'organisme. Dans cette optique, on peut partir du niveau moléculaire pour remonter à l'organisme tout entier en passant par la cellule, les différents tissus, les différents organes et les grands systèmes. On peut tout aussi bien faire la démarche inverse, partir d'une fonction et rechercher les explications au niveau moléculaire. La démarche essentielle est donc de toujours considérer la signification d'un mécanisme en relation avec l'intégrité du sujet. Pour accomplir ce programme, il faut donc faire appel à plusieurs niveaux d'analyse afin d'intégrer l'information recueillie pour comprendre l'organisme vivant.

La démarche physiologique est bi-directionnelle. Dans une démarche **descendante**, elle va de la fonction jusqu'à l'étage tissulaire puis cellulaire voire moléculaire. Cette approche descend les niveaux d'intégration pour essayer de démonter le système pièce par pièce. Auparavant, on ciblait une ou deux protéines (ou gènes) supposées être impliquées dans la fonction d'intérêt et on observait leurs modifications. Aujourd'hui on se propose de cribler des centaines voire des milliers de gènes sans à priori (hypothesis-free) lors d'une perturbation fonctionnelle. Cette stratégie est censée dépasser la vision réductionniste en répertoriant tous les gènes altérés dans une condition particulière. Elle pourrait s'avérer fructueuse si on s'intéresse à un organe ou à une cellule spécialisée mais elle n'est pas sans limites. En particulier, c'est la perturbation fonctionnelle qui provoque (cause) des modifications d'expressions de gènes et non l'inverse. Par ailleurs, la perturbation fonctionnelle agit sur un organisme entier et produit de multiples effets directs et indirects. Les développements de la génétique et surtout du décryptage systématique du génome des organismes animaux ont permis l'émergence d'une démarche physiologique **ascendante**, c'est-à-dire allant du gène ou plus exactement du ou des produits du gène à la fonction. De la fonction d'un gène (qui n'est rappelons le que de servir à la synthèse protéique), on opère un glissement sémantique vers la fonction physiologique qui ne se situe pas forcément au même niveau d'intégration et qui ne procède pas forcément de la même logique. Sachant que sur les 28 000 à 30 000 gènes identifiés dans le génome humain, beaucoup d'entre eux ont des fonctions encore inconnues, l'ampleur de la tâche est facile à mesurer. La physiologie bénéficie pleinement des progrès dans le décryptage du génome et dans la caractérisation moléculaire de chacune des protéines qui constituent

l'expression de ce génome. Elle a déjà révélé les limites du raisonnement linéaire : un gène, une protéine, une fonction. Un gène peut souvent coder pour plusieurs protéines différentes, ne serait-ce que par le jeu de l'épissage alternatif. Une même protéine peut avoir plusieurs fonctions extrêmement différentes, au sein même d'un type cellulaire donné ou selon le tissu. De plus, plusieurs protéines différentes peuvent jouer le même rôle ou remplir la même fonction. Enfin une fonction biologique n'est jamais remplie par une protéine isolée, mais par des ensembles macromoléculaires impliquant souvent des structures lipidiques et des complexes protéiques, le tout organisé en structures tridimensionnelles, par des ensembles cellulaires hiérarchisés au sein d'un organe, par des interactions entre plusieurs organes, voire par des organismes en interaction entre eux et avec leur environnement. Peut-être que le fait d'avoir attribué un rôle et un nom « fonctionnel » aux gènes et aux protéines au fur et à mesure de leur découverte (PAX6 qui était au départ décrit comme le gène spécifique responsable de la formation des yeux, s'exprime chez les animaux sans yeux et a également un lien avec la formation des tentacules chez le calmar ou le développement du système olfactif chez l'amphioxus) a fonctionné un peu comme un piège sémantique.

La modification phénotypique d'un animal modifié génétiquement est donc le résultat d'un nombre important de phénomènes cellulaires (effet pléiotropique des gènes, polygénie, épistasie, épissage alternatif des transcrits d'ARNm, par variation des sites de début et fin de translation, phénomènes compensatoires etc ...) parfois sans rapport direct avec la fonction étudiée même si celle-ci est finalement modifiée. Il est intéressant de voir que l'altération des fonctions vitales (respiration ou ingestion) est souvent l'explication qui est donnée pour rendre compte de la mort précoce de la plupart des animaux knock-out. Si l'établissement de ces chimères a quelquefois permis de répondre clairement à la question posée au départ, il a souvent révélé de nouvelles fonctions pour certaines protéines, de nouveaux partenaires d'une fonction déterminée, et de nouvelles fonctions ou interactions entre fonctions. Cette organisation architecturale et ces interactions définissent ce que l'on appelle la biocomplexité, pour désigner le fait qu'un ensemble fonctionnel ne peut se réduire à la somme des parties qui le composent.

La spécificité de l'approche physiologique est de prendre en compte cette complexité afin de fournir les outils conceptuels indispensables à l'avancée des connaissances sur les fonctions du vivant. Dans le contexte de ce qui précède, la physiologie peut être définie comme la composante de la biologie qui étudie les mécanismes mis en jeu dans une fonction donnée, leur dynamique, leur régulation et leur adaptation aux contraintes internes et externes.

L'étude des fonctions fait appel à des approches expérimentales - qualifiées parfois d'explorations fonctionnelles - à tous les niveaux d'organisation du vivant. Dans ce contexte, les concepts, les outils et les savoir-faire en exploration fonctionnelle deviennent de plus en plus recherchés par les autres disciplines de la biologie. Si les physiologistes ont su assimiler les principaux concepts et méthodes de la biologie moléculaire et de la génétique, l'inverse n'est pas vrai. Il est rare que nos collègues généticiens ou biologistes cellulaires possèdent

une connaissance intégrée des fonctions et de leurs adaptations. Cela place les chercheurs de la Section 25 en situation idéale pour relever les défis de la biologie post-génomique. Cet aspect n'est pas suffisamment pris en compte dans la définition des actions incitatives. Nous souhaitons par exemple que cette expertise de la Section soit prise en compte dans la structuration de plateformes d'exploration fonctionnelle au niveau national et des commissions interdisciplinaires. La physiologie a permis la création d'autres disciplines qui sont maintenant devenues des secteurs scientifiques à part entière et sont représentées par d'autres sections. En ce sens, les échanges réciproques entre notre section et les autres apparaissent souhaitables et ne sont que le prolongement d'une longue histoire. Toutefois, la démarche physiologique ne doit pas seulement importer des techniques et des concepts d'autres secteurs. Elle doit contribuer à réintégrer les données pertinentes dans le cadre d'une vision plus globale du fonctionnement du vivant.

Comme pour l'ensemble des sciences expérimentales, les connaissances en physiologie s'élaborent à partir de modèles et d'outils. Structurée par l'approche réductionniste, la physiologie a développé des modèles simplifiés permettant de séparer les systèmes étudiés en sous-systèmes plus facilement analysables. Si l'énorme accumulation des connaissances souligne l'efficacité d'une telle approche, elle ne saurait obérer le nécessaire regard critique qui doit être porté sur les résultats issus de telles approches. Se pose en effet la question de la vraisemblance dans le contexte d'un organisme vivant et agissant dans son écosystème. Pour cela, et à côté des modèles cellulaires, la place de modèles plus intégrés doit être confortée, au travers du recours aux approches *in vivo*.

En ce qui concerne l'approche méthodologique, la physiologie a su depuis longtemps forger ses propres outils, spécifiques de chaque niveau d'étude et/ou de chaque fonction. Elle a intégré et adapté les outils fournis par les autres disciplines telles que l'informatique, l'optique, la statistique, les mathématiques, la physique et bien sûr la chimie. Cependant, si les techniques importées d'autres secteurs disciplinaires ont permis de faire progresser les connaissances, elles ont aussi eu tendance à structurer les interprétations dans un sens souvent mécaniste, au mépris de la biocomplexité déjà évoquée.

Afin de déterminer, pour l'accomplissement d'une fonction donnée, les partenaires impliqués, leur organisation, leurs caractéristiques fonctionnelles et la dynamique de leurs interactions, la physiologie a volontiers recours à l'étude des conséquences de perturbations spontanées (la pathologie) ou volontaires dans le système biologique considéré. La liste des perturbateurs possibles va des modifications contrôlées de l'environnement à l'administration d'agents pharmacologiques. Les nouveaux outils issus de la biologie moléculaire et du post-génome fournissent des moyens d'intervention beaucoup plus sélectifs tant dans le choix de la cible que dans la fixation de la durée de la perturbation. Certes la connaissance des gènes et des protéines associées autorisent l'interaction avec les caractères phénotypiques et pourraient donc ouvrir des pistes intéressantes pour développer des modèles animaux de pathologies humaines. Cependant nous n'avons pas une compréhension réelle des phénomènes sous-jacents

en tout cas pas dans le cadre linéaire que sous-tend la notion idéalisée de programme génétique. La construction d'animaux chimériques s'apparente plus à du bricolage de haut vol (nécessitant de la technicité, de nombreux essais et un peu de chance) qu'à une expérimentation censée nous éclairer sur le fonctionnement du génome. Disposer d'animaux présentant des symptômes similaires à une pathologie donnée peut s'envisager dans une perspective thérapeutique voire industrielle (avec les réserves sur la transposition à l'homme qui n'est pas un rongeur) mais on ne peut réduire la recherche à cette seule dimension. Par ailleurs, l'étude des pathologies ne donneront pas forcément des indications sur le fonctionnement normal d'un organisme.

En ce qui concerne les espèces étudiées, la souris représente sans nul doute le modèle de choix, eu égard à l'importance des outils génétiques disponibles dans cette espèce. Contrairement à une croyance bien ancrée, ce n'est cependant pas la seule espèce qui permette le passage de la génomique fonctionnelle à la physiologie. La surexpression de gènes ou leur délétion sont appelées à devenir de plus en plus abordables sur d'autres espèces, ce qui devrait permettre aux physiologistes de ne pas avoir à abandonner leur espèce favorite pour l'étude d'une fonction donnée (le rat par exemple pour l'étude du fonctionnement cérébral ou des fonctions cardio-vasculaires, le mouton ou le hamster pour l'étude de la rythmicité saisonnière des fonctions, etc). Ainsi, le séquençage du génome de plusieurs espèces animales (*Xenopus tropicalis*, poisson zèbre, poulet) ouvre des possibilités importantes pour des analyses comparées des fonctions régulatrices et des interactions entre voies de signalisation et régulations transcriptionnelles.

## II. LES RESULTATS MARQUANTS DE CES DERNIERES ANNEES

### A- Physiologie évolutive, mise en place d'une fonction.

La physiologie est née comparée. Ses débuts ont reposé sur l'utilisation de nombreux modèles animaux adaptés aux questions physiologiques posées (le calmar ou l'aplysie et la transmission de l'influx nerveux, le chat et le cortex visuel, le chien et le réflexe conditionnel ou le canard et l'influence de la lumière sur la reproduction...). Les grandes fonctions physiologiques et un très grand nombre des acteurs de ces fonctions ont ainsi été découverts en exploitant la diversité dans l'unité du vivant. Le développement de la biologie moléculaire a entraîné une modification de l'approche physiologique qui s'est tournée vers la compréhension des mécanismes fins de régulation des gènes impliqués et enfin accessibles. Le décryptage de ces mécanismes nécessitait la mise au point de nombreux outils moléculaires. Par conséquent, faute de pouvoir développer ces multiples outils chez autant d'espèces, le nombre de modèles animaux exploités en physiologie s'est petit à petit réduit. De nouveaux modèles sont cependant apparus ces dernières années, choisis en partie pour leur position phylogénétique dans l'arbre du vivant, même si des considérations comme la taille réduite

du génome ont été déterminantes (*Caenorhabditis*, *Ciona* ou *Tetraodon*). Le séquençage du génome de ces animaux rend ainsi plus aisée la constitution des outils appropriés et permet de reconsidérer l'approche comparative et évolutive de la physiologie, ainsi que la physiologie adaptative et environnementale.

L'analyse comparée des génomes a permis de mettre en évidence des caractéristiques inattendues dans les mécanismes de régulation des gènes qui peuvent profiter à de nombreuses disciplines des sciences du vivant dont la physiologie. Il est apparu en effet que la complexité du fonctionnement du vivant reposait non pas sur le nombre de gènes constitutifs du génome mais sur la complexité des systèmes de régulations (promoteurs alternatifs avec leurs propres éléments régulateurs, micro-ARN, régulations épigénétiques, épissages alternatifs générant des produits de gènes variant d'un tissu à l'autre ou avec l'état physiologique). Par ailleurs, l'analyse comparée des génomes a montré que les séquences les mieux conservées entre espèces distantes sur le plan phylogénétique étaient non pas les séquences codantes mais les sites de fixation de facteurs de régulation transcriptionnelle. Ceci a permis de développer de nouveaux et performants outils d'identification de régions régulatrices, sur la base d'analyses comparées à l'aide de modèles dont la distance phylogénétique est choisie d'autant plus grande que les modalités de la régulation concernée sont conservées. Ces approches ont également permis de constater que de nombreux gènes co-régulés (des syn-expression groupes) possèdent des modules régulateurs communs composés de deux ou trois (voire plus) éléments de réponses (sites de fixation) pour des facteurs de transcription communs. La comparaison de nombreux génomes plus ou moins distants permet d'examiner la conservation ou non de ces éléments non-codants. Couplée à des analyses fonctionnelles, la signification physiologique de tels modules régulateurs/ intégrateurs transcriptionnels peut être déterminée.

Les derniers résultats obtenus grâce aux développements technologiques, telles les analyses de génomes entiers, introduisent le concept d'usines transcriptionnelles intra- et interchromosomales permettant l'intégration de plusieurs voies de signalisation. L'exploitation de modèles de physiologie comparée, soit avec des génomes simplifiés, soit avec des tissus permettant l'obtention de nombreuses cellules homogènes dans un état déterminé, facilitera le passage de l'emploi de ces techniques pour l'heure destinées essentiellement à des études *in vitro*, à des modèles *in vivo* permettant ainsi d'aborder des questions d'ordre physiologique.

En plus de ces aspects mécanistiques, la comparaison des fonctions de régulation et des acteurs mis en jeu entre groupes taxonomiques plus ou moins distants permet d'aborder l'analyse physiologique de façon différente. Les grandes fonctions physiologiques qui sont apparues au cours de l'évolution des groupes taxonomiques, ont été conservées ou non et se sont complexifiées en fonction des contraintes environnementales ou intrinsèques. Prenons l'exemple, du contrôle hypothalamique de la fonction thyroïdienne (stimulation du métabolisme cellulaire et du développement tardif). Dans tous les groupes de vertébrés à l'exception des mammifères, celui-ci est assuré par le CRF, facteur stimulant l'axe corticotrope, l'axe du

stress. Chez les mammifères, ce contrôle est exercé principalement par un autre facteur hypothalamique, peu spécifique ailleurs, la TRH. Pourquoi la TRH a-t-elle pris le relais du CRF exclusivement chez les mammifères, mériterait d'être exploré. Cette caractéristique permet cependant d'analyser les interactions entre l'axe du stress et l'axe thyroïdienne des mammifères sous un autre angle, ouvrant même sur les interactions complexes entre grands systèmes régulateurs tel le système immunitaire et les systèmes neuroendocriniens.

Ainsi, le contexte est devenu favorable au redéploiement de la physiologie comparative et évolutive. Le CNRS est, en France, le seul organisme de recherche où il est pleinement légitime d'afficher cette discipline dans ses missions. Il s'agit avant tout d'ouvrir l'éventail des retombées de la physiologie évolutive dans l'ère post-génomique, d'exploiter nos connaissances actuelles avec des approches de modélisation et de la biologie des systèmes, afin de contribuer à mieux comprendre le vivant dans son ensemble et sa diversité.

## **B- Energétique, métabolisme, nutrition**

L'activité des êtres vivants végétaux et animaux implique un flux constant d'énergie et l'homéostasie énergétique est une loi fondamentale en biologie. Les animaux tirent l'énergie de leur alimentation, et *in fine* des mécanismes moléculaires intracellulaires transforment l'énergie chimique d'oxydo-réduction des nutriments en une forme utilisable par les cellules vivantes : gradients ioniques ou molécules « riches en énergie » dont l'ATP. L'adaptation des entrées énergétiques aux besoins (gestation, allaitement, exercice physique...) ou de l'organisme à l'environnement (disponibilité et nature des nutriments, température, lumière, PO<sub>2</sub>...) ainsi que les mécanismes régulateurs impliqués sont une préoccupation constante de la recherche en biologie. Depuis ces dernières années, son intérêt est stimulé entre autre par les effets néfastes (diabète, obésité, dyslipidémies, maladies cardiovasculaires) induits par un déséquilibre prise alimentaire/dépense énergétique couramment observé dans les sociétés développées. Cette constatation appelle trois remarques : 1) Ce domaine se trouve de fait sous la pression d'attentes sociétales fortes. Toute nouvelle découverte en ce domaine est immédiatement mise en relation avec ses applications possibles qui vont de la cosmétique à la prévention de la mortalité liée aux affections cardiovasculaires ; 2) Il est nécessaire d'assurer une bonne gouvernance entre savoir et pouvoir pour se maintenir pour partie à l'écart de cette pression afin d'éviter la tentation de céder à des effets d'annonce déraisonnables. D'où la légitimité supplémentaire d'une physiologie fondamentale ; 3) La qualité des données quantitatives est essentielle, car les différences ayant des conséquences physiopathologiques peuvent être d'amplitude modeste et opèrent dans le domaine de la normalité physiologique. De ce point de vue toute amélioration des méthodes quantitatives qu'elles soient expérimentales ou théoriques est un progrès.

Depuis plusieurs années, des recherches s'attachent à identifier les liens entre les métabolismes

des divers tissus et types cellulaires. Il convient de signaler l'importance nouvelle des méthodes d'étude globale (« Omiques »). Celles-ci mettent souvent en évidence de façon inattendue des gènes du métabolisme dans des modèles physiopathologiques divers. Des avancées importantes ont été réalisées par des laboratoires relevant de la section permettant une compréhension croissante des mécanismes de la communication cellulaire et inter-organes en relation avec le métabolisme et la nutrition, et ceci dans des tissus périphériques aussi divers que le muscle squelettique, le foie, le cœur, le rein, le pancréas, l'intestin et les tissus adipeux. La mono-O-glycosylation des protéines constitue un nouveau mécanisme de régulation de l'activité des protéines, similaire à celle de la phosphorylation, qui est au carrefour entre métabolisme et régulation de l'expression des gènes. Un autre concept en émergence est l'impact de la nature des lipides (saturé, monoinsaturé ou polyinsaturé) et de leur métabolisme sur le fonctionnement de la cellule et la communication cellulaire. Ce nouveau champ de recherche nécessite le développement de nouvelles approches d'exploration telle que la lipidomique et la métabolomique. Plusieurs avancées dans le domaine des pathologies nutritionnelles ont été obtenues. Le rapport entre inflammation et ces pathologies est un concept qui a émergé au cours des dernières années, concept dont certaines équipes de la section ont été à l'origine. On sait maintenant par exemple que les cytokines décrites à l'origine au sein du système immunitaire sont également présentes dans les tissus adipeux, le foie et le muscle squelettique dans lesquels elles interviennent à la fois sur les voies métaboliques (lipolyse, lipogénèse) et leur régulation (sensibilité à l'insuline) mais aussi sur le devenir de la cellule (prolifération, différenciation, apoptose).

Métabolisme et nutrition sont étroitement liés à l'énergétique et à l'organelle impliqué de manière prédominante : la mitochondrie. La section 25 a soutenu la création du GDR 3159 « MeetOchondrie » qui rassemble tous les acteurs de la recherche dans le domaine de la mitochondrie afin de promouvoir les échanges interdisciplinaires. La mitochondrie joue un rôle central dans le métabolisme et la physiologie, et leur dysfonctionnement est maintenant mis en cause dans un nombre toujours croissant de pathologies. Les mécanismes de fusion-fission du compartiment mitochondrial apparaissent impliqués dans des pathologies spécifiques. Leur rôle et celui de l'autophagie dans un processus de contrôle qualité du compartiment mitochondrial est évoqué. Bien qu'un déficit énergétique puisse être mis en cause, les travaux actuels proposent aussi une implication du stress oxydant résultant de l'action de radicaux oxygénés dont une partie provient des mitochondries. Des équipes de la section ont montré que les altérations microvasculaires survenant dans le diabète et l'obésité, aggravées par l'âge, provenaient en partie d'un excès de stress oxydant empêchant l'adaptation des artérioles à leur environnement. En association avec des équipes d'autres sections (physique et chimie), ces mêmes équipes ont lancé un programme de recherche de substances végétales actives contre les perturbations métaboliques induites par le mode de nutrition occidental. Bien que ces travaux définissent les radicaux oxygénés comme néfastes, ces formes radicalaires sont depuis peu considérées aussi comme des indicateurs de l'état

énergétique cellulaire et constituent un signal biologique impliqué dans diverses fonctions (sécrétion d'insuline par le pancréas, régulation de la prise alimentaire).

Le contrôle nerveux et systémique du métabolisme représente un sujet capital qui est par essence un sujet intégré car il associe la neurophysiologie, la neuroendocrinologie et la neurobiologie de la prise alimentaire, la microanatomie hypothalamique fonctionnelle, et la contribution de signaux périphériques essentiels tels les métabolites (glucose, acides gras, protéines), mais également des hormones (leptine et autres cytokines adipocytaires, GLP-1 et ghréline intestinale, insuline pancréatique) donc l'endocrinologie et le métabolisme. Il s'agit d'un vrai sujet de biologie et physiologie qui est en passe d'aboutir à la description des circuits neuronaux précis impliqués, la nature des signaux, les récepteurs et les voies de signalisation. La découverte d'un dialogue neuro-hormonal entre les réseaux neuronaux de différentes régions cérébrales (hypothalamus, tronc cérébral) et différents tissus périphériques (tissus adipeux, intestin, plus récemment foie, muscle, pancréas, systèmes immunitaires) a constitué une révolution importante dans les mécanismes mis en jeu dans la régulation du poids de l'individu. Un exemple est l'importance de la gluconéogenèse intestinale dans le « sensing » central du glucose et dans l'homéostasie énergétique. Les avancées majeures dans le domaine de la nutrition et de la physiologie métabolique sont l'identification de nouvelles hormones et de nouveaux récepteurs contrôlant la prise alimentaire et le poids corporel. Une partie des approches est également faite en utilisant des modèles plus simples (nématode, drosophile, poisson zèbre) par exemple.

Il convient de rester attentif au développement de nouvelles méthodologies et à l'introduction de nouveaux modèles. Par exemple l'utilisation des caméras à émission de positrons se révèle fructueuse dans le domaine du métabolisme avec notamment l'introduction de marqueurs d'oxydation des corps cétoniques complémentaires du classique fluorodeoxyglucose. L'introduction de modèles animaux nouveaux, et supposés plus représentatifs de certaines adaptations ou situations physiopathologiques, est à l'ordre du jour. Les données génétiques/protéomiques qui devraient devenir disponibles sur ces nouveaux modèles leur permettront de combler les lacunes liées à leur nouveauté et leur étude pourrait ainsi atteindre un niveau de résolution comparable à celui des organismes modèles plus classiques.

## **C- Les rythmes biologiques**

La rythmicité biologique est une fonction qui permet aux organismes d'anticiper et de s'adapter aux contraintes cycliques auxquelles ils sont soumis. Elle permet l'occurrence des événements biologiques aux périodes les plus propices à leur bon fonctionnement, assurant ainsi une « homéostasie temporelle » indispensable à l'intégrité fonctionnelle des organismes. De nombreuses fonctions biologiques, du niveau moléculaire au niveau le plus intégré, se produisent selon une rythmicité précise et prédictible. Ainsi, la plupart des activités métaboliques et (neuro) endocrines, le sommeil, la reproduction, l'alimentation, l'activité générale, la régulation du poids corporel et, chez certaines espèces, l'hibernation et la migration, ont lieu à des périodes précises du cycle journalier et/ou saisonnier.

Ces dernières années, il a été démontré que certaines maladies (comme le cancer, la dépression, les troubles visuels ou l'autisme), des comportements ou contraintes sociales (travail en horaires décalés, voyages transméridiens) ou des phénomènes liés à l'âge, entraînent des altérations des rythmes biologiques qui induisent ou aggravent les troubles cliniques. En parallèle, la médecine commence à tenir compte de la sensibilité circadienne ou saisonnière des pathologies individuelles lors de l'application des traitements pharmacologiques (chronopharmacologie).

La rythmicité biologique requiert la présence d'horloges biologiques dont le fonctionnement est autonome mais dont l'activité en amont est synchronisée par différents facteurs et en aval transmet l'information temporelle au reste de l'organisme. Chez les mammifères, il existe une horloge centrale puissante localisée dans les noyaux suprachiasmatiques (NSC) de l'hypothalamus. L'absence ou le dysfonctionnement de cette structure entraîne la perte de l'homéostasie temporelle d'un organisme. Les oscillations endogènes de cette horloge reposent sur des mécanismes moléculaires qui impliquent une dizaine de gènes appelés « gènes horloge » : Per1, Per2, Per3, Clock, Bmal1, Cry1, Cry2, Rev-erb  $\alpha$ , Rorb. Les travaux actuels conduisent à un modèle de rythmicité circadienne basée sur des rétrocontrôles positifs (CLOCK/BMAL1) et négatifs (PER/CRY) qui fonctionnent en boucle avec une périodicité proche de 24h (circa-dienne). L'activité endogène de cette horloge est synchronisée à 24h exactement par différents facteurs. Il s'agit en premier lieu de la lumière transmise par le tractus rétinohypothalamique, mais d'autres facteurs, en particulier la prise alimentaire, des facteurs sociaux, certaines drogues sont capables de synchroniser l'activité de l'horloge. Le message temporel construit dans les NSC est transmis à l'ensemble de l'organisme par un réseau d'efférences neuronales et de signaux neuroendocrines capables de synchroniser les fonctions biologiques. Parmi ces signaux, la mélatonine, hormone synthétisée par la glande pinéale, joue un rôle fondamental pour la synchronisation des fonctions saisonnières comme la reproduction.

Une découverte majeure de ces dernières années par des équipes de la Section est que de nombreuses régions du cerveau et des tissus non neuronaux à la périphérie contiennent également une horloge endogène. Le rôle exact de ces horloges « secondaires » n'est pas encore bien connu. Elles jouent probablement un rôle important dans l'organisation temporelle des fonctions à l'échelle d'un organe et de l'organisme entier. Ce nouveau concept d'un système multi-oscillant a conduit à reconsidérer la notion de rythme biologique à la fois au niveau fondamental mais aussi clinique. Si l'horloge circadienne des NSC est toujours considérée comme le « chef d'orchestre » conduisant la rythmicité d'un organisme, il apparaît que les horloges secondaires forment des réseaux et dans certaines conditions peuvent fonctionner et être synchronisées de façon indépendante. En terme clinique, ce nouveau concept est important car il est maintenant certain que chez l'homme une désynchronisation endogène ou induite de certains éléments de ce système multi-oscillant perturbe l'intégrité fonctionnelle de l'organisme et conduit à des pathologies.

Le défi actuel dans le domaine des rythmes biologiques est d'exploiter les modèles génétiques générés

ces dernières années (souris déficientes en un ou plusieurs gènes horloge, rat/souris gène horloge-luciférase) et d'établir des mutations conditionnelles (tissu et/ou stade spécifique) afin d'appréhender l'étendue de l'implication des systèmes de mesure du temps sur la physiologie d'un organisme, tout en continuant à tenir compte de la grande biodiversité des modèles étudiés.

## D- Traitement et intégration des informations nerveuses

Le système nerveux central des animaux permet non seulement l'intégration et la régulation des principales fonctions physiologiques en temps réel mais également en temps différé, au travers des capacités de perception et de représentation du monde environnant. Si la compréhension du fonctionnement du cerveau est souvent présentée comme la dernière frontière de la biologie, la physiologie, au sens où elle a été définie précédemment, est certainement la discipline de choix pour le passage de cette frontière. Elle est en effet la seule à pouvoir prétendre faire le pont entre les différentes sous-disciplines constitutives des neurosciences, de la biologie moléculaire et cellulaire aux fonctions cognitives et comportementales. Les neurosciences dites intégrées se nourrissent des résultats des études les plus fondamentales sur les canaux ioniques, leur plasticité et leur dynamique de migration intracellulaire, les mécanismes moléculaires de la mort neuronale, les capacités de différenciation et de migration de nouveaux neurones, et les interactions entre les neurones et les différents éléments cellulaires constitutifs de la glie. La neurophysiologie inscrit ces éléments structuraux de base dans des circuits neuronaux, micro-circuits entre cellules adjacentes ou circuits macroscopiques révélés par les études de neuroanatomie et d'imagerie fonctionnelle, dont les propriétés émergentes déterminent plus directement la fonction. Cette intégration des problématiques de l'échelle moléculaire à celle des réseaux est ainsi nécessaire à la compréhension du fonctionnement des circuits neuronaux dans des conditions dites physiologiques, c'est-à-dire correspondant au fonctionnement de l'organisme animal dans son milieu.

Les travaux de la section reflètent cette intégration des échelles et déclinent l'étude fonctionnelle du système nerveux en chapitres, parfois interconnectés, tels que les déterminants de l'excitabilité et des modes de décharge des neurones, l'intégration et la plasticité synaptique dans ses aspects moléculaires et fonctionnels, la coordination de la décharge dans les réseaux centraux (synchronisation, oscillations, etc...), ou l'organisation de la connectivité fonctionnelle dans les réseaux. Ces travaux sont souvent corrélés à des aspects plus intégrés en documentant les corrélats comportementaux aux observations du fonctionnement des réseaux. Ainsi, les travaux menés reflètent de plus en plus fréquemment le caractère transverse de la physiologie, car ils combinent, dans la même étude, caractérisation *in vitro* et *in vivo*, outils comportementaux, pharmacologiques, moléculaires et génétiques. La neurophysiologie s'intéressant par définition aux propriétés émergentes d'un système complexe, elle fait de plus en plus appel à la modélisation, afin de tester le réalisme des hypothèses mécanistiques

issues des données expérimentales et de générer de nouvelles prédictions; physiciens et mathématiciens sont intégrés aux équipes et participent ainsi activement à l'effort de compréhension de la fonction du système nerveux. En révélant de nouveaux mécanismes et processus, la neurophysiologie fondamentale ouvre également des pistes vers la thérapeutique.

Ainsi, la découverte récente d'un nouveau processus de plasticité cérébrale, la neurogenèse dans le cerveau adulte, a ouvert un nouveau pan de recherche. Les questions déterminantes dans cet axe visent par exemple à identifier les mécanismes qui contrôlent la prolifération, la différenciation, la migration ou encore l'apoptose de ces nouvelles cellules au sein de structures telles que l'hippocampe et la zone sous-ventriculaire des ventricules latéraux et le rôle de ces mécanismes dans les processus mnésiques par exemple. Les études dans ce domaine suggèrent que la neurogenèse adulte est impliquée dans la mémoire et l'apprentissage spatial notamment dans l'hippocampe ou encore la discrimination olfactive dans le bulbe olfactif. Les facteurs qui favorisent la survie et l'intégration des nouveaux neurones dans les circuits préexistants sont en cours d'identification. Ces travaux devraient permettre d'apprécier si l'effet thérapeutique de nombreuses molécules telles que les antidépresseurs ou les antipsychotiques résulte d'une action sur ces nouvelles cellules. La caractérisation des voies de signalisations impliquées dans ces processus devraient permettre le développement de nouvelles classes de molécules et donc autoriser la modulation pharmacologique de ces phénomènes avec des applications dans le traitement de différentes pathologies neurodégénératives.

La compréhension au niveau cellulaire et moléculaire du processus d'addiction est un autre exemple des axes stratégiques de la discipline: l'usage abusif de drogues agit à long terme sur le cerveau, en provoquant des adaptations cellulaires et moléculaires complexes, entre autres dans le système dopaminergique qui appartient au système de récompense du cerveau. Les bases moléculaires de l'adaptation neuronale sous-tendant les mécanismes de l'addiction aux drogues restent à découvrir. Enfin, les pathologies neurodégénératives type Alzheimer ou Parkinson demeurent de vraies questions de santé publique, l'étude des processus de survie et de mort cellulaire neuronale, ainsi que les aspects biochimiques et génétiques impliqués dans le déclenchement de la pathologie constituent des enjeux cruciaux. Pour rester au niveau cellulaire, il convient de mentionner les récentes découvertes des rôles inattendus des cellules gliales, astrocytaires et des oligodendrocytes. En effet, leur rôle a longtemps été confiné au maintien de l'homéostasie dans le milieu cérébral. Récemment, des arguments expérimentaux sont venus étoffer nos connaissances : les cellules gliales pourraient jouer un rôle dans le contrôle de l'excitabilité neuronale, en constituant un système de transmission non-synaptique permettant de moduler les activités neuronales. Il reste à déterminer comment le réseau glial contribue aux grandes fonctions cérébrales. Enfin, la neurophysiologie ne peut se concevoir sans l'étude de l'interaction permanente entre les centres du système nerveux et leurs effecteurs. Il existe des liens indissociables entre les informations sensorielles, issues du milieu externe ou interne, le fonctionnement des centres

et les organes qui reçoivent les réponses effectrices. La neurophysiologie est ainsi une discipline ouverte dont les frontières dépassent la stricte limite du tissu nerveux.

Le large spectre de questions que regroupe la neurophysiologie contemporaine nécessite la mise en œuvre de nombreuses approches expérimentales: l'utilisation d'animaux transgéniques et recombinants, les techniques d'imagerie cellulaire, de détection des transcrits dans des neurones uniques, les enregistrements neuronaux multiples chez l'animal pendant la tâche, le dialogue données-modèle théorique, font désormais partie des outils couramment utilisés. Mais les travaux de la section attestent que le questionnement physiologique amène aussi au développement de nouveaux outils souvent sophistiqués et généralement nécessaires pour améliorer la résolution temporelle, la proximité avec les conditions naturelles ou la spécificité des mesures : nouvelles sondes intracellulaires codées génétiquement, microscopes bi-photoniques à accès aléatoire permettant d'illuminer sélectivement les points d'intérêt avec une résolution temporelle élevée, imagerie profonde in vivo par faisceaux de fibres optiques, dynamic-clamp in vivo pour tester le rôle de conductances simulées dans des neurones réels dans leur environnement natif, compensation active du filtrage des électrodes dans les enregistrements in vivo, etc.. Enfin, il faut souligner que la neurophysiologie va sans doute connaître une grande évolution avec l'avènement des techniques optogénétiques permettant non seulement de suivre l'activité de types neuronaux identifiés in situ mais également de les stimuler ou de les inhiber sélectivement avec une grande précision temporelle. Ces procédés ouvrent d'immenses perspectives pour les neurosciences intégratives, là où la diversité des types cellulaires, la faible résolution temporelle des approches pharmacologiques et la faible spécificité des approches électriques limitaient l'interprétation des données expérimentales.

Les neurosciences forment donc une discipline intégrée aux questionnements et méthodologies spécifiques. Son projet global de compréhension du lien entre les processus moléculaires et des fonctions qui comptent parmi les plus complexes du vivant requiert une multiplicité d'approches expérimentales et se caractérise par la multiplicité des échelles étudiées. Enfin, ce sont aussi des disciplines mixtes, le lieu des adaptations neuro-endocrines, neuro-musculaires, neuro-vasculaires qui démontrent tout l'intérêt de maintenir des chercheurs de ces spécialités associées au sein d'une même Section de Physiologie.

## **E- Les fonctions des canaux ioniques**

La fonction et la régulation des canaux ioniques sont des thèmes transversaux de la Section dans la mesure où leur étude ne fait pas référence à un organe mais à des mécanismes qui existent dans toutes les cellules, la régulation des flux ioniques et du potentiel de membrane. Plusieurs équipes de la Section sont reconnues pour leurs travaux sur les canaux sodium, calcium, potassium, chlore et sur les canaux TRP. Les faits récents à souligner sont relatifs à la constitution des canaux ioniques en complexes protéiques et au rôle des canaux ioniques dans des perceptions sensorielles telle que la mécano-sensibilité et la douleur, dans les couplages excitation/contraction cardiaque et squelettique, dans la physiologie rénale et

dans la régulation de l'excitabilité dans le système nerveux central. Ces thèmes ont été choisis du fait de résultats obtenus par des équipes de la Section.

Les canaux ioniques apparaissent maintenant comme des unités fonctionnelles hétéromériques très dynamiques. Les divers constituants des canaux interviennent dans leur maturation, leur trafic, leur localisation et ancrage à la membrane et l'activité du canal per se. C'est le cas par exemple des canaux TRPC1 et TRPC4, voies d'entrée du calcium dans le réticulum sarcoplasmique, ancrés à la dystrophine I par l' $\alpha$  1-syntrophine dans les muscles squelettiques. C'est aussi le cas du canal potassium, Kv1.5 mature des cardiomyocytes auriculaires ancré à la membrane des disques intercalaires par la protéine SAP97, ou stocké dans des vésicules sous-membranaires sous la dépendance de Rab11. Certaines structures comprennent plusieurs types de canaux ioniques tel le canal chlore CFTR impliqué dans la mucoviscidose, TRPC6 dans les cellules épithéliales bronchiques, ou KCNQ1 et HERG, deux canaux potassium cardiaques impliqués dans le syndrome du QT long, association à l'origine de régulations réciproques.

Les canaux ioniques mécano-sensibles sont impliqués dans la transduction de la force mécanique en signaux électriques et chimiques. Ils interviennent dans la perception tactile et auditive, la déformation des endothéliums, l'étirement de la muqueuse digestive et la déformation cellulaire sous l'effet d'un choc hypo osmotique. L'identité moléculaire des canaux mécano-sensible reste cependant incertaine. Des propriétés de mécano-sensibilité sont décrites pour divers types de canaux K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, TRP, pour le canal sodium épithélial ENaC et chez les invertébrés pour des canaux dont les équivalents chez les mammifères sont mal connus. Néanmoins ces propriétés ne reflètent que très partiellement celles des canaux mécano-sensibles de la peau ou de l'oreille interne. On peut souligner deux résultats importants relatifs aux canaux potassium à 2 pores (K2P) et aux canaux TRP. TREK-1 est un canal potassique K2P dont l'ouverture dépend de la tension membranaire. La force mécanique est transmise directement au canal par l'intermédiaire de la bicouche lipidique. De plus, TREK-1 est ouvert par la chaleur, l'acidose intracellulaire, les anesthésiques généraux volatils et les acides gras poly-insaturés. Les domaines moléculaires responsables de l'activation de TREK-1 ont été identifiés. Le canal TREK-1 est donc un canal ionique sensorial polymodal modulé par des stimuli physiques et chimiques. Le canal cationique TRPP2 (ou polycystine 2) forme le complexe polycystine avec la protéine membranaire polycystine1 (PC1). Ce complexe subit des mutations multiples dans la polykystose rénale autosomique dominante.

Le canal TRPP2 a la particularité de se localiser dans la membrane plasmique ou dans le réticulum endoplasmique. Couplées par leurs parties C-terminales, les fonctions des deux protéines sont régulées par leur interaction. La stimulation de PC1 par des facteurs mécaniques (comme le flux hydrique) dissocie le complexe et enclenche pour PC1 une fonction d'activateur des protéines G et pour TRPP2 une fonction de canal cationique. On est donc en présence d'un schéma inédit de couplage récepteur / canal et d'un nouveau type de détecteur mécanique. D'autres canaux de la famille TRP sont candidats à la détection de l'osmosensibilité (TRPV4) ou de la déformation mécanique

(TRPA1).

La douleur inflammatoire et la douleur neuropathique s'accompagnent de très nombreux changements dans l'expression et l'activité des canaux ioniques. Un point à souligner est la focalisation de plusieurs équipes de la Section sur les canaux ioniques du neurone sensoriel et des neurones intégrateurs de la moelle épinière, sur les mécanismes de la transduction nociceptive et sur les changements qui accompagnent la sensibilisation périphérique observée pendant la douleur inflammatoire. Ces compétences concernent les canaux sensibles à l'acide (ASIC), les canaux K<sup>+</sup> à 2P, les canaux Na<sup>+</sup> et les canaux Ca<sup>2+</sup>. La régulation des canaux sous l'effet des facteurs inflammatoires, l'organisation des complexes de signalisation associés à ces canaux et la fonction des canaux calcium médullaires pré et post-synaptique ont été particulièrement analysés.

Au niveau cardiaque, il a été démontré que le canal calcium Cav1.3 joue un rôle majeur dans l'origine de l'activité pacemaker en générant la dépolarisation diastolique dans les cellules du nœud sino-atrial. Des approches de génomique ont permis d'établir la redondance fonctionnelle de plusieurs canaux ioniques dans l'origine du mécanisme de pacemaker, améliorant nos connaissances physiopathologiques et les perspectives de traitement des ischémies cardiaques. Il était établi que pendant une arythmie avec échecs de contraction il se produit une accumulation de calcium via les récepteurs ryanodine ; nous savons maintenant que cette accumulation diminue le courant potassium diastolique IK1 des myocytes ventriculaires ce qui élargit les hypothèses physiopathologiques. Une analyse comparée de la fonction et de la régulation de ces récepteurs à la ryanodine dans le cœur et dans le muscle squelettique a conduit à la mise en évidence d'altération identique de la fonction de ces canaux au cours de l'insuffisance cardiaque, mais aussi au cours du diabète, rendant compte dans ces deux situations pathologiques d'une dysfonction myocardique et d'une fatigabilité musculaire accrue. L'apport de la génomique des canaux ioniques en cardiologie est un fait majeur de la Section. Par exemple, le syndrome d'Andersen désigne une paralysie périodique congénitale associée à un allongement du QT et à des dysmorphies de développement assez bénignes. Il a été montré que toutes les mutations identifiées conduisent à la perte de fonction du canal Kir2.1, produit du gène KCNJ2.

Au niveau rénal, des modèles d'invalidation génique ciblé sur le tubule proximal ont été réalisés. Lors de la réabsorption de bicarbonate au niveau du tubule proximal il se produit une alcalinisation qui active le courant K<sup>+</sup>2P Task2. L'absence de Task2 conduit à une acidose métabolique qui rappelle les symptômes cliniques observés dans le syndrome humain d'acidose tubulaire proximale. Le courant Task2 est essentiel pour la régulation du volume des cellules épithéliales du tubule proximal. TWIK1, un autre canal de la famille K<sup>+</sup>2P est exprimé dans le tubule proximal, la partie distale du tubule convoluté et la médulla du canal collecteur. Les souris TWIK1 -/- ont une capacité réduite à stabiliser les contenus en phosphates plasmatiques. Il est intéressant de noter que de même que pour les canaux TREK, l'environnement lipidique module la balance allostérique de l'échangeur Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>.

Enfin dans le système nerveux central, la notion

de plasticité de l'excitabilité, complémentaire de la plasticité synaptique, s'est imposée et révèle l'importance fonctionnelle de la régulation des canaux Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> des dendrites ou de l'axone. Souvent l'augmentation d'excitabilité est associée à une diminution des courants produisant l'hyperpolarisation suivant le potentiel d'action. Par exemple son niveau, et donc sa régulation, conditionnent la variabilité de la décharge des motoneurones spinaux. La régulation par les neurotransmetteurs des caractéristiques des courants Na<sup>+</sup> de l'axone et des dendrites est un autre mécanisme efficace de régulation de l'excitabilité, en particulier des potentiels d'action rétro propagés. L'activation des récepteurs métabotropiques du glutamate modifie à la fois la courbe d'inactivation de la composante transitoire et la courbe d'activation de la composante persistante du courant Na<sup>+</sup>.

La possibilité d'étudier les canaux ioniques de façon transversale et évolutive est riche de potentialités pour l'avenir et représente une spécificité de la recherche au CNRS.

## F- Mécanosensibilité

L'analyse des fonctions motrices et de leur régulation représente un domaine majeur et transversal de la physiologie qui résulte de la capacité du vivant à générer des forces mécaniques en réponse aux conditions de son environnement incluant, les forces de gravité et les contraintes mécaniques, les conditions physico-chimiques du milieu, les stimuli de la communication cellulaire ou de l'environnement. A l'échelle globale, la capacité motrice donne aux animaux une de ses spécificités essentielles qui les distingue du règne végétal: sa mobilité par rapport à son environnement.

Cette fonction motrice et la capacité à générer une force mécanique se retrouvent à tous les étages de l'organisation du vivant et des fonctions qu'il contrôle : à l'échelle moléculaire on la retrouve dans les interactions protéiques et dans la fonction des moteurs moléculaires, au niveau cellulaire la mise en jeu de ces forces est retrouvée dans le transport vésiculaire, le trafic intracellulaire, la migration et la division cellulaire, la phagocytose, l'adhérence et plus généralement dans la contraction cellulaire qui repose largement sur la relation contractile actomyosine. A l'échelle des organes, la fonction motrice s'illustre entre autre par la contraction musculaire, la motricité digestive, les fonctions respiratoires et cardiovasculaires comprenant l'angiogénèse. Chez l'individu, la coordination et le contrôle de ces processus définissent les très nombreuses modalités du mouvement en rapport avec leurs finalités biologiques et le milieu de vie.

A cette capacité à générer une force motrice s'ajoute, non moins importante, la capacité de transmettre ou de détecter le mouvement mécanique généré: à lui seul, à l'échelle cellulaire, le cytosquelette et ses échafaudages protéiques membranaires et sous-membranaires en relation avec la matrice extracellulaire constituent un système qui sert à la fois à donner sa forme et sa résistance à la cellule et à «sentir» l'extérieur, ses mouvements, ses contraintes mécaniques pour finalement adapter les réponses physiologiques. Que ces fonctions mécaniques soient altérées et il en résulte de graves dysfonctionnements,



mettant souvent en cause le pronostic vital comme le décrit la pathophysiologie qui ne peut se comprendre sans une approche détaillée des mécanismes physiologiques de base.

Les équipes de la Section 25 impliquées dans ce thème analysent d'une part les fonctions induites par des molécules impliquées dans la genèse de forces mécaniques que l'on retrouve classiquement dans les fonctions musculaires squelettiques, cardiovasculaires, digestives et respiratoires, et à un niveau moins spécialisé, elles concernent aussi toutes les cellules de l'organisme. Certaines de ces équipes étudient les adaptations fonctionnelles du vivant aux contraintes mécaniques.

Les avancées des connaissances ont concerné l'identification, la caractérisation, la régulation de déterminants moléculaires impliqués dans la génération de force et dans le couplage excitation-contraction des cellules musculaires de *C. elegans*. Une interaction fonctionnelle entre un canal cationique (UNC-105) et une chaîne de collagène (LET-2) a été identifiée avec des implications potentielles dans les mécanismes qui couplent étirement/déformation membranaire et excitabilité cellulaire. Pour le muscle squelettique de mammifère le rôle de l'oxyde nitrique dans la régulation du couplage excitation-contraction du muscle de mammifère a été démontré. De même, il apparaît que le calcium, au-delà de son rôle comme activateur de la fonction contractile, participe à des régulations fines de l'homéostasie générale de la cellule musculaire squelettique. Ainsi les transferts de  $Ca^{2+}$ , même au repos, sous forme de libérations quantiques entre les stocks internes et le cytosol s'exacerbent dans les cellules dystrophiques et mettent en jeu les récepteurs à l' $IP_3$ , dont le rôle avait été peu décrit dans ce type de préparation. Enfin il apparaît que le cytosquelette, intervient non seulement comme infrastructure de la cellule musculaire, mais aussi comme système de signalisation au travers des échafaudages protéiques (comme l'association dystrophine/alpha-syntrophine/TRPCs) permettant de moduler les transferts de calcium à travers les canaux TRPCs qui sont à la fois mécano-sensibles et dépendants des stocks internes en calcium.

TREK-1 est un canal mécanosensible présent sur les neurones sensitifs et apparaissait être un candidat potentiel dans la détection des pressions mécaniques à bas seuil au niveau cutané. Toutefois TREK-1 a été récemment localisé au niveau vasculaire. Il est majoritairement impliqué au niveau endothélial et pourrait ainsi participer à l'intégrité de la voie calcium dépendante du NO (à la suite de l'activation d'un récepteur couplé à une protéine G), nécessaire au développement de la vasodilatation induite par la pression.

La perte de l'homéostasie calcique intracellulaire serait impliquée dans le développement de la polykystose rénale autosomique dominante (PKRAD). Elle serait liée aux mutations des gènes PKD1 et PKD2, codant pour les polycystines TRPP1 et TRPP2 qui contrôlent les échanges d'ions calcium entre la cellule et milieu extérieur. Le rapport TRPP1/TRPP2 régule les canaux ioniques mécanosensibles via filamine A (FLNA) /F-actine du cytosquelette et module la réponse myogénique artérielle en réponse à la pression intraluminaire. Ainsi, une altération du rapport TRPP1/TRPP2 peut donc modifier la

transduction de la mécanosensibilité au niveau cellulaire.

Concernant les flux énergétiques qui conditionnent la contractilité cardiaque, des microdomaines énergétiques se créent au contact entre mitochondries et ATPases et conditionnent les mouvements de calcium et la contractilité dans le cardiomyocyte ou le muscle squelettique. Ces résultats mettent l'accent sur l'importance de l'architecture cellulaire et définissent un triptyque architecture/énergétique/fonction qui conditionne le rendement de la contraction du myocyte. Les altérations du cytosquelette (souris invalidées pour des protéines du cytosquelette MLP et desmine) perturbent ces microdomaines énergétiques, participent aux altérations fonctionnelles dans ces modèles et précipitent l'insuffisance cardiaque. Une autre découverte qui peut avoir des conséquences importantes pour la réponse du myocarde à l'étirement (Loi de Frank-Starling) est que les mitochondries exercent des contraintes mécaniques directes sur les myofilaments et modulent leur interaction et leur sensibilité au calcium.

Des données récentes montrent que la sensibilité au calcium du cardiomyocyte en réponse à l'étirement n'est pas uniforme à travers l'épaisseur ventriculaire, augmentant de la zone sous-épicaire vers la zone sous-endocardique et qu'elle est corrélée à l'augmentation de la tension passive. Cette activation myofibrillaire dépendante de la tension passive est associée à la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine (MLC2b) spécifiquement dans le sous-endocarde. Ce gradient de sensibilisation au calcium disparaît dans le sous-endocarde après infarctus du myocarde, contribuant à la défaillance contractile post-infarctus. Des travaux récents ont également permis de mettre en évidence le rôle de la stimulation  $\beta$ -adrénergique sur la sensibilité au  $Ca^{2+}$  des myofilaments de cardiomyocytes et de démontrer à l'aide d'une souris transgénique déficiente en protéine C (ou MyBP-C pour Myosin Binding Protein-C, KO) le rôle prépondérant de cette protéine.

Dans le muscle lisse vasculaire, le rôle des petites protéines G de la famille Rho dans le contrôle de la contractilité des muscles lisses vasculaires a été exploré. L'action vasodilatatrice exercée par l'endothélium sur le muscle lisse vasculaire est due en grande partie à une phosphorylation inhibitrice de la protéine RhoA induite par le recrutement de la protéine kinase G par la voie du monoxyde d'azote endothélial. Des résultats importants concernent la mécanosensibilité et les adaptations aux contraintes mécaniques dans le système vasculaire. Ainsi, la matrice extracellulaire, et les interrelations cellules-cellules semblent ordonner la forme et la fonction des cellules en produisant des changements du cytosquelette. De tels changements dépendant du substrat sont transmis par des structures adhésives des cellules à partir desquelles s'appliquent des forces contractiles générées par le complexe d'actomyosine. Les sites d'adhérences des cellules s'organisent autour de récepteurs membranaires considérés comme des jauges de contrainte/déformation. A ce titre, ces récepteurs sont des mécanosenseurs capables de déclencher des voies de signalisation. D'autres récepteurs ont une sensibilité modifiée par l'environnement physique des cellules ou alors activent des voies de transduction différentes.

L'endothélium vasculaire est le bon exemple d'un organe qui ressent des contraintes mécaniques diverses,

depuis les liaisons accrocheuses des p-sélectines des cellules sanguines, qui roulent sur l'endothélium et qui vont conditionner son activation, jusqu'aux forces de cisaillement produites par le débit sanguin et les contraintes pariétales générées par la pression. L'analyse des mécanismes de l'angiogénèse a montré que la phase d'activation de l'endothélium qui initie ce processus implique la phosphorylation sur tyrosine des VE Cadherines. Ce processus est impliqué de façon majeure dans l'angiogénèse tumorale. Plus généralement, l'angiogénèse implique une réponse vasculaire à des contraintes mécaniques modifiées durablement. Lorsqu'il s'agit de répondre à une ischémie ou à un exercice physique le débit sanguin modifié est perçu par les cellules endothéliales (augmentation des forces de cisaillement) et un processus inflammatoire est initié afin de dissocier la matrice extracellulaire, ce qui permet à la paroi artérielle de s'adapter dans sa structure et dans ses fonctions. Un débit augmenté chroniquement entraîne un remodelage artériolaire expansif hypertrophique et une amélioration des fonctions dilatatrices de l'endothélium. Dans les artères de gros calibre les contraintes de cisaillement déterminent des zones de susceptibilité de la paroi artérielle et participent au phénomène d'athérosclérose.

## G- Endocrinologie

Les régulations endocriniennes et neuroendocriniennes contrôlent et intègrent plusieurs processus physiologiques, incluant le développement, la croissance, la puberté et la reproduction. Impliqués dans le contrôle central et périphérique du métabolisme, des fonctions cardiovasculaires, ostéo-articulaires et immunes, les signaux endocrines sont à la base de plusieurs processus fondamentaux et pathologiques.

Des équipes de la Section ont apporté des contributions significatives dans la compréhension des interactions neuroendocriniennes et l'intégration des contrôles hypothalamiques/hypophysaires. En particulier, une meilleure compréhension des régulations gouvernant le comportement alimentaire, l'équilibre énergétique et les maladies métaboliques a été obtenue, ainsi que des informations essentielles sur les mécanismes centraux gouvernant ces fonctions. Le champ de la recherche dans ce domaine dépasse la neuroendocrinologie et inclut des aspects importants de régulations neurovégétatives. L'analyse des mécanismes des rétrocontrôles hormonaux constitue un autre aspect important dans lequel plusieurs équipes françaises apportent des contributions originales, la découverte des neurostéroïdes ayant ajouté une dimension supplémentaire à ces études. De plus des études importantes ont démontré l'implication fonctionnelle des processus de plasticité neurogliale dans la mise en place ou la physiologie de divers axes neuroendocriniens. Ces interactions participent au contrôle de la rythmicité propre à chacun de ces systèmes neuronaux. Ces mécanismes sont également impliqués dans la rythmicité circadienne, notamment des sécrétions hormonales. Les interactions neurones, glies, cellules endothéliales, sont également importantes dans le contexte du développement de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Les mécanismes moléculaires impliqués, incluant l'analyse de la signalisation intra et intercellulaire, sont étudiés tant

au niveau central qu'hypophysaire, et les cascades de facteurs de transcription impliqués dans le développement hypophysaire analysées.

Le domaine particulier du contrôle neuroendocrine de la reproduction devrait fournir des résultats prometteurs: compréhension du mécanisme de base à l'origine de l'activité pulsatile des neurones à GnRH et régulation par des facteurs internes et externes, détermination des interactions entre métabolisme et reproduction à tous les niveaux de contrôle de la fonction de reproduction chez la femelle, ou dans l'élucidation du rôle des xénobiotiques sur la fonction de reproduction chez le mâle.

La neuroendocrinologie est très présente dans les études concernant le vieillissement. S'il est acquis en effet que le contrôle central hypothalamique régulant l'équilibre et les interactions (neuro)-endocrines est réajusté lors du vieillissement, on ne sait toujours pas s'il s'agit d'une cause ou d'une conséquence. De plus, les analyses du rapport bénéfice/risque des traitements substitutifs permettant de préserver une qualité de vie chez les personnes âgées restent à être établies.

Les effets environnementaux sur l'expression de gènes et de réseaux de gènes cibles des signaux endocrines, en particulier sur les modifications épigénétiques au niveau de l'expression des récepteurs sont mieux appréhendés. En attestent les résultats démontrant que le promoteur du récepteur des glucocorticoïdes dans le cerveau est la cible de méthylations durables ou ceux montrant que la régulation de la transcription dépendant du récepteur aux oestrogènes implique des méthylations cycliques et rapides. Le décryptage des mécanismes moléculaires à la base des régulations endocriniennes et de leurs interactions centrales et périphériques, est par conséquent essentiel. Il repose en partie sur des études impliquant des approches de génomique comparée et sur l'exploitation d'approches de physiologie et d'endocrinologie comparée. Grâce à une meilleure compréhension des mécanismes fondamentaux, de nouvelles avancées dans l'identification des perturbateurs endocriniens et leurs actions sur la santé humaine et l'environnement sont prévisibles.

La recherche sur les tumeurs endocrines vise à comprendre les mécanismes de l'hypersécrétion hormonale et de la croissance tumorale des tumeurs bénignes et malignes. Des travaux se concentrent également sur les mécanismes de l'hormono-sensibilité d'un grand nombre de cancers (prostate, sein...), et portent principalement sur l'étude de la signalisation, en particulier les relais du message hormonal, et la génétique moléculaire spécifique aux tumeurs endocrines. Aussi, les recherches sur les tumeurs neuroendocrines sporadiques ou familiales, bénéficient de l'ensemble des études concernant les mécanismes moléculaires impliqués dans la tumorigénèse, ce qui ouvre de nouvelles perspectives en termes de cibles thérapeutiques.

Enfin, les maladies rares ne constituent pas un enjeu de santé publique mais sont des modèles permettant de mieux comprendre la physiologie hormonale et parfois l'opportunité de réfléchir à de nouveaux développements thérapeutiques. C'est le cas ainsi des maladies rares de la reproduction (insuffisances ovariennes et hypogonadismes

hypogonadotropes), des pathologies du métabolisme phospho-calcique ou des maladies liées à des anomalies des récepteurs membranaires. La constitution de cohortes de patients dans des Centres dédiés à l'étude des maladies rares tout comme le développement de projets de recherche translationnelle *via* des programmes de financement spécifiquement est à promouvoir.

Au vu de ces observations, l'endocrinologie reste une discipline dynamique. Néanmoins, en dépit des avancées obtenues et de l'importance des régulations endocriniennes dans de multiples processus physiopathologiques, la section attire l'attention sur le fait que la part de l'endocrinologie dans les publications françaises a baissé ces dernières années (de 5,1% à 3.4% entre 2005 et 2008). Cette observation semble être une conséquence de l'inquiétante diminution du nombre d'équipes françaises se consacrant à la neuroendocrinologie.

### III- CONCLUSION

La nature par essence intégrative de la physiologie repose sur l'interdisciplinarité. Cette pratique de l'interdisciplinarité rend le physiologiste apte à la communication avec les autres disciplines non physiologiques, soit en termes d'applications, soit en termes de concepts ou d'outils.

En ce qui concerne les applications, outre celles évoquées dans la section précédente, la physiologie se trouve en amont de la recherche thérapeutique car les mécanismes étudiés peuvent conduire à l'identification de nouvelles cibles moléculaires d'intérêt. C'est également dans ce contexte que les chercheurs/laboratoires de la section développent de plus en plus des analyses comparatives entre modèles sains et pathologiques. Les études physiopathologiques sont indispensables à la détermination de cibles thérapeutiques, mais elles apportent aussi beaucoup à la connaissance fondamentale. Les pharmacologues fournissent également des outils d'investigation précieux aux physiologistes. Les champs d'application de la physiologie concernent également l'homme au travail (l'ergonomie) et les sciences spatiales (l'homme dans l'espace). Ils nécessitent une articulation avec les disciplines correspondantes.

En ce qui concerne les concepts, de nombreuses complémentarités scientifiques existent entre la Section 25 et les autres Sections de l'Institut National des Sciences Biologiques (INSB) impliquées dans le développement, les neurosciences, le comportement, les biomolécules, la thérapeutique. Par exemple, les bases cellulaires, moléculaires et génétiques qui sous-tendent le fonctionnement des réseaux de neurones ont été révélées au cours des trois dernières décennies. Cependant ces connaissances ne permettent pas de comprendre les bases neurales des réseaux complexes impliqués dans le mouvement, la perception (système visuel, douleur, etc) ou la mémoire. Seule une approche multidisciplinaire permet de comprendre le fonctionnement des réseaux neuronaux et en conséquence celui du cerveau. En ce qui concerne les outils, nous avons vu que la physiologie exploite pleinement les outils du post-génome mais qu'elle repose aussi sur les progrès de nombreuses techniques y compris celles de la biologie et de la génétique moléculaires, de l'imagerie cellulaire ou d'organe, du traitement des signaux

physiologiques pour en extraire des informations nouvelles ou/et permettre leur traitement à distance, de modélisation des systèmes physiologiques complexes.

Ce n'est qu'en associant des cultures scientifiques de champs différentes que la physiologie pourra à partir de propriétés microscopiques des éléments constitutifs d'un ensemble comprendre les propriétés macroscopiques de l'ensemble. Si des collaborations entre mathématiciens ou physiciens ont déjà été mises en place dans plus de la moitié des laboratoires de la Section 25, une interdisciplinarité « élargie » doit cependant encore être développée afin d'aborder les fonctions organiques dans leur globalité. Le CNRS, fort de ses différents instituts, a les moyens de développer une interdisciplinarité réelle. Pour favoriser ces échanges il est nécessaire qu'à l'avenir l'ensemble des domaines de la physiologie soit maintenus et développés et que la Section 25 soit partie prenante dans les commissions interdisciplinaires, souhait déjà fortement émis pour participer à des CID.

Il reste à souligner plusieurs points. La tendance forte et récente des appels d'offre sur programme, souvent thématiques, peut rendre difficile le financement d'une recherche intégrative, c'est-à-dire à la frontière de plusieurs champs thématiques. D'autre part, l'évaluation des résultats et de la viabilité des équipes ou unités de recherche par l'AERES, évaluation faite sur des temps courts par rapport aux temps d'étude de systèmes complexes, risque d'entraîner une dérive des directeurs de recherche pour proposer uniquement des recherches rentables à court terme. L'Agence Vie et Santé (Aviesan), de création toute récente et dont la fonction n'est pas clairement définie, aura-t-elle un impact sur le pilotage des recherches en physiologie ? Enfin, les politiques de gouvernance de recherche des universités doivent s'harmoniser avec celles du CNRS. Si la discipline n'a pas changé, les conditions d'exercice de cette discipline sont donc en profond remaniement. Il faut espérer que les gouvernants seront assez perspicaces pour considérer qu'une recherche en physiologie, c'est-à-dire destinée à comprendre le fonctionnement des organismes sans forcément d'application immédiate, a toujours sa place au sein du système de recherche français. Les résultats des équipes de la Section 25 montrent que c'est le cas.

Notre section qui regroupe, plus que toutes autres, des laboratoires travaillant à différents niveaux d'intégration devrait permettre l'inter-fécondation entre différentes théories ou différentes écoles de pensée. La pression forte des « molécularistes » entraîne la disparition des compétences techniques et conceptuelles en physiologie des nouveaux entrants au CNRS et à l'université. Il est en effet très difficile d'envisager de présenter un candidat au CNRS ou à l'INSERM sur un sujet souvent qualifié, de manière condescendante, de physiologie classique. Seules les universités provinciales, soumises à moins de pression, peuvent parfois faire ce choix là, ce qui n'est pas le moindre des paradoxes. Concernant les unités labellisées, les UMRs de physiologie recrutent principalement de jeunes enseignants-chercheurs rompus aux techniques de la biologie moléculaire et de la génétique mais dont les compétences en physiologie intégrée sont fort peu assurées. L'enseignement futur de la physiologie sera donc effectué par des chercheurs, certes compétents dans

leur domaine, mais avec une vision très réductionniste du fonctionnement d'un organe voire d'un organisme . Même si on a une foi solide en la vision post-génome, il ne faut pas oublier que si on veut des physiologistes pour tester des modèles animaux, il faudra les former. Sinon on risque de se retrouver avec des chercheurs ayant une vision purement livresque de la physiologie et dont les expérimentations et les interprétations peu approfondies poseront un problème de crédibilité, ce qui dans une perspective thérapeutique, n'est pas sans danger...