

26

FONCTIONS DU VIVANT ET RÉGULATION

JEAN-PAUL ROUSSEAU

Président de la section

BERNARD DUFY

Rapporteur

Claude Andrieux

Hélène Astier

Jacques Audin

Jean-Charles Blanchard

Marcel Crest

Gabriel Crouzoulon

Amaury De Luze

Monique Denavit-Saubie

Jean-Claude Dussaule

Denis Escande

Pascal Ferré

Philippe Jourdon

Michel Manneville

Claudine Masson

Joël Nargeot

Guy Raymond

Bernard Renaud

Monique Synguelakis

Jean-Pierre Ternaux

INTRODUCTION

La compréhension des fonctions d'un organisme vivant nécessite la connaissance approfondie de ses différents éléments constitutifs, mais aussi celle des modalités de leur mise en place et de leur cohésion. La matière vivante étant constituée d'éléments chimiques tout à fait ordinaires, carbone, hydrogène, azote..., rien dans la composition chimique de base d'un organe ou d'un tissu ne peut rendre compte de sa fonction. L'unicité et la spécificité d'un tissu résident dans son organisation, tant au niveau moléculaire que cellulaire. La physiologie, qui est par essence la science des phénomènes de la vie et du vivant, s'intéresse à l'émergence des fonctions d'un tissu, d'un organe à partir de sa complexité moléculaire et structurale. Le physiologiste ne peut, de ce fait, se désintéresser des aspects cellulaires et moléculaires des fonctions étudiées.

L'étude des fonctions du vivant implique le recueil d'informations à différents niveaux : préparations subcellulaires, cellules isolées, amas cellulaires, tissus, organes, organismes au moyen d'approches et de méthodologies variées. La démarche consiste à coordonner les informations recueillies à ces différents niveaux et à analyser les mécanismes assurant leur intégration et la cohérence de l'ensemble... Utilisant des approches et des méthodologies variées, elle bénéficie largement

des développements technologiques récents dans les domaines de la biochimie, de la biologie moléculaire, de l'imagerie, de l'électrophysiologie moléculaire.

Les trois grands systèmes de régulation, nerveux, endocrinien et immunitaire qui assurent la cohérence et l'unité de l'organisme, se sont quelque peu détachés de la physiologie, à la suite des nouvelles approches "microscopiques" cellulaires et moléculaires, pour se constituer en disciplines autonomes au seul niveau moléculaire. Mais les mécanismes similaires, les finalités communes qui se dégagent, montrent la nécessité d'une convergence. Celle-ci s'opère à travers les questions que pose, depuis longtemps, la pathologie, mais que la physiologie elle-même, retrouvant son objet et sa raison d'être, doit reformuler en termes actuels. Elle y est aidée par les nouveaux défis de la biologie moléculaire pour identifier les gènes orphelins, paradoxalement aussi par les difficultés auxquelles se heurte la thérapie génique et par les nouveaux modèles, passionnants quoique soumis aux mêmes limites, que nous offrent les généticiens comme les animaux transgéniques.

La démarche physiologique classique appréhende l'analyse d'une fonction du niveau intégré vers l'étage cellulaire et moléculaire. La révolution génétique et l'apport considérable des méthodes de biologie moléculaire ont introduit une démarche physiologique inverse en permettant l'identification d'un gène, et donc d'une protéine, dont la fonction à l'échelon moléculaire ou cellulaire devra être déterminée. De ce va-et-vient entre différents niveaux d'analyse émerge une nouvelle approche physiologique des fonctions du vivant.

Cette démarche a déjà permis l'émergence de concepts nouveaux dans les domaines de la neurobiologie, de l'endocrinologie, de la neuroendocrinologie, de la cardiologie, de la néphrologie ou de la nutrition. Nous citerons :

- la capacité de certains tissus à synthétiser des hormones ou à exprimer des récepteurs qui étaient classiquement "réservés" à d'autres tissus. Ces observations soulèvent le problème du "nouveau" rôle physiologique de ces hormones récepteurs et de leurs modalités d'action (autocrine, paracrine...),

de l'importance relative de ce nouveau rôle par rapport aux fonctions conventionnelles. On notera l'importance de ces observations dans les domaines de la thérapie génique ou de la transgénose ;

- le clonage de facteurs de transcription, cible directe des effets de nutriments comme le cholestérol ;

- la coexistence dans une même cellule de plusieurs voies de transduction, leur mise en jeu pouvant intervenir de façon sélective, séparée ou de façon interconnectée au niveau de différents maillons des chaînes de transduction. Il en résulte qu'un seul agoniste peut être couplé à plusieurs voies de signalisation ;

- les progrès de la neuroanatomie, de la neurochimie et de la biologie moléculaire ont révélé que les ensembles neuronaux sont vraisemblablement aptes à traiter les informations à la fois de "façon séquentielle et/ou convergente" (focalisation d'un message précis), mais aussi "en parallèle" (informations synchrones provenant d'un ensemble de territoires).

Ces quelques exemples montrent que la physiologie subit actuellement une mutation spectaculaire. Son champ d'application s'ouvrant à des méthodologies et concepts nouveaux, une nouvelle génération de chercheurs doit être formée. La formation et le travail en équipes pluridisciplinaires restent l'enjeu majeur d'une meilleure compétitivité.

1 - DYNAMIQUE DE LA PRODUCTION DES CONNAISSANCES

1. 1 GÉNÉRALITÉS

La dynamique de production des connaissances fait apparaître une évolution du stade de l'observation phénoménologique vers l'étude des mécanismes, et surtout la caractérisation des éléments cellulaires et moléculaires impliqués dans une fonction.

Il faut insister sur l'importance des avancées technologiques avec, bien évidemment au tout premier plan, la biologie moléculaire et toutes les techniques qui en sont issues (marqueurs génétiques, hybridation *in situ*, stratégies antisens, transgénose...). D'autres développements technologiques doivent aussi être mentionnés tels que le patch-clamp, l'utilisation des sondes fluorescentes, l'électrophorèse capillaire, la microdialyse, l'imagerie. Dans notre domaine, l'évolution des concepts paraît directement liée aux développements technologiques.

1. 2 DÉVELOPPEMENTS SPÉCIFIQUES AU NIVEAU MOLÉCULAIRE ET CELLULAIRE

Au niveau cellulaire, une découverte importante a été la détermination de la structure moléculaire des canaux ioniques et de leur régulation par des processus de phosphorylation/déphosphorylation et/ou par les protéines G, la mise en évidence d'isoformes, le rôle des sous-unités et de leur multiplicité, de leur distribution anatomique. On note des retombées importantes dans le domaine de la pharmacologie (développement de molécules spécifiques) et de la physiopathologie (notamment les maladies génétiques ayant pour origine la mutation d'un gène codant pour une protéine membranaire

à activité de canal ionique). À noter un intérêt récent pour les canaux chlore, vraisemblablement suscité par leur implication dans différentes pathologies.

Nos connaissances sur la biologie des neurones ont largement bénéficié du développement des techniques de l'électrophysiologie moléculaire comme le patch-clamp. En dehors des neurones, cellules excitables capables de générer des potentiels d'actions, les électro-physiologistes commencent à s'intéresser aux propriétés électro-physiologiques des cellules non excitables. Ils montrent que les perméabilités ioniques membranaires interviennent également dans les fonctions biologiques de ces cellules. C'est ainsi que des études récentes montrent que des canaux aux ions potassium (K^+) participeraient au processus prolifératif dans les lymphocytes, les mélanocytes ou les cellules de la glande mammaire ou de la prostate.

Au niveau cellulaire, une autre découverte importante est la caractérisation, puis la détermination, de la structure moléculaire d'un bon nombre de récepteurs (neurotransmetteurs, neuropeptides et hormones peptidiques, facteurs de croissance...), découvertes qui permettent le développement de nouveaux agonistes, antagonistes, de ligands fluorescents, la création d'animaux transgéniques sur-exprimant ou n'exprimant pas les dits récepteurs.

Il semble que les progrès majeurs concernent incontestablement la signalisation cellulaire à tous ses niveaux. Si on considère la mise en évidence du premier médiateur intracellulaire, l'AMPcyclique, en 1958, et celle des premiers récepteurs (par leur activité de liaison), dans les années 1970, la progression des connaissances s'est considérablement accélérée au cours des quinze dernières années et d'une manière qui peut être qualifiée d'exponentielle au regard des cinq dernières années.

Cette thématique devrait encore connaître une progression étonnante au cours des prochaines années. En effet, un concept nouveau est en train d'émerger, à savoir que la transduction du signal dans une cellule donnée peut être "combinatoire". Dans une même cellule, plusieurs voies de transduction coexistent, leur mise en jeu pouvant intervenir de façon sélective, séparée, ou de façon inter-

connectée au niveau de différents maillons des chaînes de transduction. Il en résulte qu'un seul agoniste peut être couplé à plusieurs voies de signalisation. En même temps qu'apparaît une grande unicité fonctionnelle, la diversité paraît conditionnée aussi bien par la présence d'éléments spécifiques que par l'absence de certains autres (régression, inactivation, dégradation). Dans le même ordre d'idée s'est développée la notion qu'une fonction adaptative, l'utilisation préférentielle d'une voie de signalisation intracellulaire ou l'expression d'un gène spécifique étaient déterminées par des combinatoires multifactorielles.

À noter que la découverte du rôle du monoxyde d'azote dans la signalisation cellulaire et intercellulaire est considérée comme une avancée récente et importante dans le domaine des neurosciences comme dans celui des systèmes cardio-vasculaire et rénal.

En physiologie cardio-vasculaire, les progrès sont évidents : connaissance plus fine de la fonction endothéliale, étude minutieuse des mécanismes de la contraction, de la relaxation, identification du support génétique d'un nombre croissant de cardiopathies. Si l'on considère le domaine de l'électrophysiologie cellulaire cardiaque, les études de ces dernières années ont été riches en données nouvelles, qui sont aussi essentielles à la compréhension des mécanismes physiologiques qu'à celle des mécanismes physiopathologiques. Le clonage, l'analyse structurale et électrophysiologique des canaux ioniques illustrent bien cela. Par exemple, la connaissance de la structure et des propriétés fonctionnelles des canaux sodiques et potassiques a permis de mettre en évidence que des anomalies de ces canaux sont impliquées dans le développement du syndrome du QT long d'origine génétique. On sait aujourd'hui à quoi correspondent les trois gènes considérés comme responsables des risques d'apparition de ce syndrome : l'un code en effet pour un canal sodique dont la forme anormale s'inactive incomplètement, les deux autres codent pour deux canaux potassiques dont les structures anormales conduisent à des canaux partiellement ou totalement inopérants.

Les modèles expérimentaux d'ischémie ont montré que les lésions post-ischémiques étaient

moins graves et moins fréquentes, si l'on faisait précédé l'ischémie prolongée d'épisodes ischémiques répétés, très courts, ce que l'on appelle le préconditionnement. Les études de biologie moléculaire et l'utilisation d'animaux transgéniques suggèrent fortement que l'amélioration consécutive à ce préconditionnement serait médierée par certaines protéines-signaux : les "heat-shock proteins" (hsp).

L'utilisation d'animaux transgéniques a également permis d'étudier la fonction physiologique d'une protéine. Ainsi de telles expériences de physiologie inverse montrent que l'on peut modifier un paramètre de la fonction cardiaque en changeant l'expression d'un gène. Par exemple, on peut accélérer la vitesse de relaxation cardiaque en supprimant le phospholamban, co-facteur de la Ca-ATPase du réticulum sarcoplasmique, ou augmenter la contractilité en surexprimant le gène du récepteur $\beta 1$ ou $\beta 2$ adrénergique.

Dans le domaine de la physiologie rénale, l'importance des communications intercellulaires médiées par des facteurs paracrines au sein du glomérule a été largement démontrée. Citons en particulier, le rôle des dérivés de l'acide arachidonique, de l'endothéline ou du monoxyde d'azote : la même observation peut être faite dans les microvaisseaux du cortex rénal. Globalement, ces facteurs locaux interviennent pour moduler les signaux nerveux et endocrines régulant le flux plasmique et la filtration glomérulaire. D'autres types de communications intercellulaires seront probablement démontrés dans l'avenir entre cellules épithéliales tubulaires et vasa recta.

On remarquera le rôle encore marginal des approches d'électrophysiologie moléculaire pour l'étude des molécules intervenant dans la communication intercellulaire.

1. 3 DÉVELOPPEMENTS SPÉCIFIQUES AU NIVEAU DES SYSTÈMES INTÉGRÉS

Les apports moléculaires et cellulaires ont permis un nombre considérable d'avancées dans la connaissance des constituants essentiels d'un tissu ou d'un organe et de leur fonctionnement, mais il

faut absolument souligner l'importance du niveau intégré dans l'étude des fonctions du vivant.

Dans les domaines de la neurobiologie, de l'endocrinologie ou de la neuroendocrinologie, on note la capacité de certains tissus à synthétiser des hormones ou à exprimer des récepteurs qui étaient classiquement "réservés" à d'autres tissus. On peut citer, par exemple, la présence de récepteurs au peptide vasoactif intestinal, VIP, et à la galanine dans l'hypophyse. Ces observations soulèvent le problème du "nouveau" rôle physiologique de ces hormones, récepteurs et de leurs modalités d'action (autocrine, paracrine...), de l'importance relative de ce nouveau rôle par rapport aux fonctions conventionnelles. Tout ceci concerne plus particulièrement les domaines des interactions entre système nerveux et système immunitaire, système nerveux et système digestif. De ce fait, le physiologiste semble avoir perdu de sa "tissu spécificité".

Par contre, les progrès réalisés dans la caractérisation des récepteurs, des canaux, des voies de transduction etc. permettent d'envisager la vectorisation des molécules et donc un ciblage tissulaire spécifique. De ce fait, le pharmacologue gagnerait en "tissu spécificité".

Les progrès de la neuroanatomie, de la neurochimie et de la biologie moléculaire ont révélé que les ensembles neuronaux sont vraisemblablement aptes à traiter les informations à la fois de "façon convergente" (focalisation d'un message précis), mais aussi "en parallèle" (informations synchrones provenant d'un ensemble de territoires). Il en est ainsi pour les noyaux gris centraux ; de ce fait, l'approche physiologique et surtout physiopathologique des territoires extrapyramidaux doit aboutir à une nouvelle conceptualisation de maladies comme celle de Parkinson ou de Huntington. En effet, l'akinésie ou l'hyperkinésie ne sont pas de simples troubles exécutoires, mais renvoient à des dysfonctionnements plus graves de la planification et du contrôle du mouvement.

De plus, l'observation d'adaptations physiologiques par régulation de l'expression de gènes en réponse à des stimulations prolongées débouche sur l'émergence d'une discipline nouvelle à la frontière de la physiologie et de la génétique.

2 - THÉMATIQUES À FORT CARACTÈRE NOVATEUR

Les avancées technologiques dans le domaine de la régulation des gènes et de leur expression ouvrent la voie aux outils de la biologie moléculaire. Il en est de même de la biologie structurale, de l'immunofluorescence, de l'hybridation *in situ*, des stratégies anti-sens, de la RT-PCR et des modèles animaux transgéniques, de la thérapie génique. À noter également un intérêt marqué pour l'imagerie *in vitro* et surtout *in vivo* : l'imagerie fonctionnelle des fonctions intégrées du système nerveux et la biologie structurale ouvrant la voie à l'étude des interactions ligand/récepteur, protéines/protéines, protéines/ADN.

Les succès récents de la génétique et du clonage positionnel ont contribué à définir une démarche physiologique inverse en permettant l'identification d'un gène et donc d'une protéine dont la fonction à l'étage moléculaire, cellulaire puis intégré est à première vue encore inconnue. Cette démarche nouvelle qui définit la physiologie inverse et qui remonte du gène vers la fonction est appelée à un développement rapide dans un futur proche, conséquence de l'avancée du projet génome humain, projet multinational et coordonné. L'achèvement de ce projet titanique est en effet pour demain puisque les évaluations les plus récentes planifient la disponibilité de la carte d'expression chez l'homme en 2002. À cette date, 100 000 séquences codantes seront disponibles et, pour la très grande majorité, sans fonction connue. La physiologie doit dès à présent se préparer à traiter cette énorme quantité d'informations non ordonnées. Les progrès dans l'analyse du génome d'autres espèces, comme la souris ou le rat, offrent également de nouvelles perspectives aux physiologistes. Dans des temps plus éloignés, les biologistes n'ont-ils pas eu à répertorier et à classifier 300 000 insectes et au total 1 million d'espèces animales ? Il est clair que ce défi tout aussi titanique que le projet génome lui-même ne pourra se faire dans le désordre, mais selon une démarche rationnelle. À titre d'exemple, la compréhension de la fonction du gène CFTR aura nécessité les efforts d'une quarantaine de laboratoires entre 1989 et 1996. Un tel

effort est inenvisageable pour 100 000 gènes ! La taxonomie des gènes pourrait par exemple s'attacher à distinguer dans un premier temps les protéines membranaires des protéines cytosoliques. Une classification secondaire basée sur les homologies de séquence demeurera probablement la démarche la plus logique. Ainsi, les quelque 200 gènes différents codant pour des canaux potassiques chez l'homme seraient répertoriés dans une même catégorie. Commencera alors le patient travail de physiologie qui tentera d'assigner une fonction spécifique à chaque gène identifié. L'ensemble de ce travail que certains qualifient de "après-gène" est déjà planifié aux États-Unis et au Japon. Sans parler des problèmes inhérents aux éventuels brevets sur les connaissances fondamentales ainsi acquises, notre pays, probablement intégré dans des réseaux européens, assurera sa part de découverte. Il nous faut dès à présent préparer cet avenir qui pourrait passer par l'avènement de structures de recherches mixtes physiologie-génétique.

Dans le cadre de la signalisation, on peut citer comme thématique émergente ou en fort développement : les mécanismes d'interconnexion entre les différentes voies de transduction, les régulations transcriptionnelles, l'étude des interactions protéine-protéine (et protéines ADN ou ARN) assistées par modélisation sur ordinateur et/ou cristallographie. En outre, alors que la prédominance a été donnée aux processus synthétiques, un intérêt grandissant devrait revenir aux mécanismes de dégradation (des protéines, des acides nucléiques...) ou d'inactivation (déphosphorylation, activités phosphatasiques etc.), leurs rôles ayant été jusqu'à maintenant la plupart du temps sous-estimés, sinon inconsidérés.

En ce qui concerne les thématiques proprement dites, on note un intérêt particulier pour le développement et la maturation neuronale, la plasticité synaptique, le rôle du cytosquelette, l'apoptose. La compréhension des mécanismes, cellulaires et moléculaires, qui président à la construction du cerveau, représente l'un des enjeux majeurs des neurosciences modernes. De nombreux travaux sont consacrés au développement, au guidage axonique, au rôle des facteurs trophiques, à la maturation des neurotransmetteurs et de leurs récepteurs, ainsi qu'à la plasticité synaptique. Toutefois, la plu-

part des données concernent le niveau cellulaire, et pratiquement aucune recherche ne s'attache à l'étude des aspects visant à décrire, de façon pertinente, les contributions respectives des différents éléments (neurones) dans la maturation du réseau de neurones (système) qu'ils constituent.

On peut, sans grand risque, postuler que la maturation des propriétés d'un réseau de neurones ne reflète pas la simple sommation temporelle des capacités fonctionnelles de ses éléments, mais que celle-ci dépend d'un dialogue subtil, au cours de l'ontogénèse, entre l'expression de mécanismes contrôlés par des facteurs programmés et ceux associés à des facteurs épigénétiques, dont les rôles respectifs sont tout aussi structurants pour la construction du réseau. Au cours du développement du réseau, ces mécanismes sont eux-mêmes modulés par les interactions réciproques entre neurones, ce qui conduit à favoriser ou bien à inhiber l'émergence de propriétés spécifiques, et, in fine, à la sélection de propriétés fonctionnelles permettant à l'animal adulte (organisme-système intégré) la réalisation de conduites parfaitement adaptées. De telles questions concernent spécifiquement les physiologistes. Les travaux doivent nécessairement être menés simultanément à plusieurs niveaux d'organisation et à travers plusieurs approches expérimentales, intégrant conjointement les préparations *in vitro* (cultures et co-cultures cellulaires), les réseaux identifiés *in vivo*, et la modélisation.

En ce qui concerne les études intégrées sur la motricité, on note un déplacement d'intérêt vers les territoires néocorticaux associatifs. À la suite de l'exploration systématique de néocortex primaires (moteur, somesthésique, visuel) menée ces vingt dernières années, les cinq années écoulées ont vu se développer l'analyse unitaire de territoires associatifs tels que le cortex pariétal associatif et surtout le cortex préfrontal.

Dans ce domaine, il est clair que les techniques d'imagerie cérébrale fonctionnelle sont appelées à un développement important : visualisation des sites de libération des neurotransmetteurs, aspects ligands/récepteurs, localisations de perturbations neuropharmacologiques ou de lésions. Déjà, l'intérêt pour l'analyse de l'activité unitaire des territoires associatifs préfrontaux et

pariétaux a induit ou a été concomitant de l'étude par l'imagerie cérébrale (IRM fonctionnelle et PET Scan) chez l'homme de ces mêmes fonctions cognitives, attention sélective, mémoire de travail, exécution de tâches séquentielles... Ces études demeurent encore "parallèles" à la neurophysiologie unitaire comportementale, mais il existe des complémentarités incontestables dans la dissection fonctionnelle de ces territoires "à haute valeur codante".

À noter également un intérêt marqué pour les relations système nerveux-système immunitaire, avec le regret que le retentissement des effets du stress sur le système immunitaire ne soit pas davantage pris en compte au niveau français.

Dans le domaine du métabolisme, des avancées importantes sont réalisées. On citera la découverte par les généticiens d'une nouvelle hormone, la leptine, produite par l'adipocyte. L'adipocyte n'est plus considéré comme une simple cellule de stockage mais comme une véritable cellule endocrine. La leptine contrôle au niveau central (des récepteurs à cette hormone ont été localisés dans le noyau ventromédian de l'hypothalamus) la prise alimentaire, la thermogénèse et la dépense énergétique. Il s'agit là d'un exemple d'interactions entre différents organes soulignant le caractère très intégré de ces régulations. On notera également un intérêt soutenu pour les effets des nutriments au niveau moléculaire sur l'expression de gènes spécifiques, un domaine réservé jusqu'alors aux prokaryotes ou aux eucaryotes primitifs.

3 - IMPORTANTES PISTES DE RECHERCHES S'ÉTANT SOLDÉES PAR DES ÉCHECS OU SUJETTES À UN DÉSINTÉRÊT MARQUÉ

Concernant les pistes sans issues, on ne citera que celles résultant d'hypothèses non vérifiées et donc sans véritable importance, sauf en ce qui concerne le temps perdu.

Les recherches effectuées dans le domaine des greffes de neurones se sont avérées décevantes, en particulier en ce qui concerne leurs applications thérapeutiques dans certaines maladies dégénératives chez l'homme. Par exemple, les greffes de cellules fœtales dopaminergiques n'ont pas encore apporté les résultats escomptés dans la compensation des déficits liés à la dégénérescence du système extrapyramidal. Néanmoins, ce champ d'investigation reste cependant prometteur, car des progrès techniques récents dans le domaine de la purification des neurones, dans celui de la mise au point d'outils pharmacologiques évitant la prolifération gliale, dans la manipulation des facteurs trophiques et des protecteurs des cellules nerveuses greffées, constituent aujourd'hui des éléments majeurs pour faire progresser ce domaine temporairement infructueux en terme d'application. L'application de cette méthodologie à l'homme restera toujours entachée de problèmes éthiques.

De même, les modèles permettant des études liées au vieillissement sont difficiles à obtenir (quasiment impossible chez le primate subhumain, eu égard au coût). Pour ces raisons, les études liées au vieillissement neurobiologique et psychomoteur devront restées cantonnées au petit animal.

On note le désintérêt marqué ayant frappé certaines disciplines et thématiques, faute de soutien financier (disciplines dites ou devenues "non porteuses"). On peut citer, par exemple, la physiologie comparée (qui pourrait pourtant fournir des modèles intéressants, par la dimension évolutive et pour la compréhension de systèmes plus élaborés),

ou, dans le même ordre d'idées, l'étude d'organismes simples (tels que les arthropodes...). Dans une certaine mesure et pour les mêmes raisons, la physiologie intégrée a subi un préjudice similaire. La physiologie cellulaire classique a pu paraître en perte de vitesse, en ce qui concerne notamment l'étude du rôle des neuro-transmetteurs et des neuropeptides dans certaines fonctions. La physiologie intégrée devrait cependant susciter dans un avenir proche un regain d'intérêt pour l'étude des animaux transgéniques, gènes orphelins...

Enfin, le clonage d'un grand nombre de récepteurs n'a pas encore débouché sur des applications thérapeutiques intéressantes. D'autres déceptions (provisoires ?) concernent les données fournies par des animaux transgéniques, ou (à plus petite échelle) par les anti-sens (mais peut-être sont-ils encore sous-utilisés). Il apparaît, en effet, que les mécanismes de régulation et de feed-back au niveau de l'organisme entier permettent de compenser la suppression ou l'addition de certains gènes. Concernant les anti-sens, leur spécificité et la durée de leurs effets demandent à être encore améliorées.

4 - DÉBATS ET CONTROVERSES

Les systèmes vivants sont hiérarchisés par l'inclusion successive de structures et de fonctions, gènes, cellules, organes, individus. Chaque niveau ne peut se résumer à la simple juxtaposition des éléments du niveau inférieur, il constitue un ensemble distinct caractérisé par ses propriétés particulières. Ainsi, le physiologiste est confronté au problème de l'extrapolation des résultats obtenus par des manipulations *in vitro* au fonctionnement de la cellule *in vivo*.

Parmi les controverses et débats très spécifiques à caractère ponctuel ou d'actualité, il faut citer : les effets membranaires des stéroïdes et, plus généralement, tous les problèmes relevant du mécanisme d'action des neurostéroïdes, la régula-

tion et le rôle du calcium nucléaire, la libération vésiculaire versus cytoplasmique des neurotransmetteurs, l'action sur le cerveau de molécules ne traversant apparemment pas la barrière hémato-encéphalique (cytokines), les propriétés intrinsèques de certains neurones versus les propriétés des réseaux, le rôle des prédispositions familiales dans le développement de l'insuffisance rénale.

Dans le domaine de la nutrition, il faut prendre en compte les conséquences de l'introduction d'aliments génétiquement modifiés dans l'alimentation humaine, les vitamines, celle de la mélatonine...

5 - INSTRUMENTATION, SIMULATION, RESSOURCES TECHNOLOGIQUES

5. 1 ÉVOLUTION DU RÔLE DE L'INSTRUMENTATION SCIENTIFIQUE

Comme indiqué plus haut, la technologie et l'instrumentation jouent un rôle déterminant majeur dans la progression des connaissances dans notre domaine : au niveau des gènes et des protéines, de la cellule isolée (PCR, mesure dynamique des flux de Ca^{2+} ou autres métabolites en temps réel, imagerie, etc. et miniaturisation). On notera le rôle important des techniques d'électrophysiologie moléculaire (patch-clamp). À noter un développement souhaitable dans le domaine des capteurs biologiques et des études sur tranches de tissus organisés, étapes intermédiaires entre le cellulaire et l'intégré. Des formations spécifiques sous la forme de stages individuels ou collectifs ou d'écoles thématiques seraient souhaitables dans ces domaines.

5. 2 PARTAGE EXPÉRIMENTATION ANIMALE/ÉTUDE IN VITRO

Ces deux approches semblent relativement bien partagées, au moins si l'on considère l'ensemble de la communauté scientifique. Il est évident que l'une ne remplace pas l'autre et qu'elles doivent être utilisées en complémentarité. C'est d'ailleurs la démarche suivie dans un certain nombre de laboratoires. L'expérimentation *in vitro* sera utilisée de préférence ; néanmoins, certaines études – physiopathologiques notamment – renvoient au modèle animal et au primate subhumain éventuellement.

5. 3 SIMULATION

Concernant la simulation, elle semble peu développée dans le domaine. La simulation des réseaux neuronaux n'apparaît pas encore satisfaisante. Par contre, dans le domaine de la biologie structurale, elle s'avère fondamentale. La modélisation sur ordinateur est utile, de concert avec l'analyse par cristallographie RX, comme support de l'expérimentation.

5. 4 ANIMAUX TRANSGÉNIQUES : SUREXPRESSION, DÉLÉTION DE GÈNES

Une alternative en plein développement, elle aussi complémentaire des précédentes, consiste à créer des animaux transgéniques. Cette approche n'a assurément pas encore donné la pleine dimension de ses possibilités. D'autre part, eu égard à la somme de données acquises en général chez le rat, et parce que la transposition au modèle souris n'est pas toujours possible, ne serait-il pas souhaitable de privilégier à cet égard le modèle rat ? Les délétions, notamment celles inducibles chez l'animal adulte, sont certainement plus prometteuses que les surexpressions. Le physiologiste sera directement concerné par ces approches.

5. 5 THÉRAPIE GÉNIQUE

Un développement potentiel important concerne la thérapie génique. Alors que nous n'en sommes qu'aux premiers, les physiologistes comme les pharmacologues doivent se sentir directement impliqués dans son développement. La thérapie génique est aujourd'hui affaire de virologistes, mais ceux-ci ne peuvent rien sans l'apport indispensable de l'étude de la fonction et de ses modifications sous l'effet de la transfection. Historiquement, la pharmacologie moderne n'a pas été le fait des seuls chimistes mais de l'association chimie-biologie. Cette règle s'appliquera de la même façon à la thérapie génique. Il faut nous préparer à cette évolution. Le CNRS occupe aujourd'hui la "pôle position" en matière de thérapie génique, et la place de la France au niveau international dans cette discipline naissante est remarquable. Une tendance commence à se faire jour en France afin que des équipes de généticiens et de physiologistes s'associent dans une structure commune. Cette tendance est encore bien timide. Son frein principal est surtout culturel, lié à des différences de langage et à une méconnaissance réciproque. Faire tomber ces barrières demandera du temps et de l'énergie. La commission 26 pourrait participer à cet effort en prenant l'initiative de discussions et éventuellement d'un partenariat avec les commissions 23 et 24.

6 - INTERDISCIPLINARITÉ - ORGANISATION DE LA COMMUNAUTÉ

On notera les bienfaits de l'interdisciplinarité. Il faut dire que cette pratique a toujours existé. Elle dépend surtout des besoins et des opportunités. Peut-on l'améliorer sans que cela devient trop contraignant et trop systématique ?

L'augmentation des échanges scientifiques au niveau européen est significative ; elle est favorisée par la recherche de partenaires compétents pour la

mise en place de contrats de recherche dans le cadre de la communauté européenne et par les nouvelles possibilités de financement des stages post-doctoraux au niveau européen.

7 - ENJEUX, OBJECTIFS

L'objectif à terme est une meilleure connaissance fondamentale des mécanismes impliqués dans les grandes fonctions pour permettre des applications dans les domaines de la santé publique, de l'exploration fonctionnelle, de la thérapeutique, de l'industrie chimique et pharmaceutique. La réalisation de ces objectifs nécessite tout d'abord un rapprochement entre physiologie et génétique. Un des objectifs prioritaires des années à venir sera de rassembler "molécularistes" et "intégristes". Dans peu de temps, la structure du génome humain sera connue, le stade actuel de l'analyse génétique sera nécessairement suivi d'un stade d'étude fonctionnelle qui concerne tous les

domaines de la physiologie. En effet, que faire des gènes identifiés dont la fonction ne serait pas connue ?

En ce qui concerne le système nerveux, le défi reste celui de la compréhension des mécanismes cellulaires du traitement de l'information nerveuse, de la mise en place du système nerveux, du développement du neurone et des réseaux neuronaux fonctionnels. À côté de l'ontogénèse, un défi aussi important concerne l'étude des processus du vieillissement et des maladies de type neurodégénératif. Les recherches dans ce domaine, bien que parcellaires, constituent un axe de développement à l'interface de la recherche fondamentale et de la recherche appliquée.

Dans le domaine de la nutrition, l'enjeu reste la connaissance des conséquences de l'absorption d'aliments spécifiques, génétiquement modifiés ou aliments de substitution, et la maîtrise des maladies de pléthora (obésité, diabète de type 2) avec une interaction nécessaire entre généticiens, physiologistes et cliniciens.