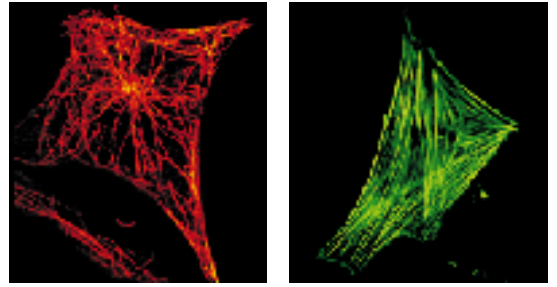


Microtubules, filaments intermédiaires et microfilaments sont les fondations de l'intégrité architecturale de nos cellules



Cytosquelette une charpente dynamique

Christian Cognard est directeur de recherche au CNRS et dirige l'équipe Physiologie et pathologie musculaire dans le laboratoire Biomembranes et signalisation cellulaire (UMR 6558) de l'Université de Poitiers. Bruno Constantin a obtenu l'an passé le prix de la Fondation pour la recherche médicale et vient d'être nommé chargé de recherche CNRS dans ce laboratoire.



L'Actualité. – Quels sont les principaux thèmes de recherche de votre équipe ?

Christian Cognard. – Nous étudions les mouvements de calcium à travers la membrane de cellules musculaires squelettiques normales ou issues de patients présentant une certaine forme de myopathie : la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD). Ces mouvements ont lieu soit par l'intermédiaire de protéines-canal traversant la membrane plasmique des cellules, soit grâce à un échangeur sodium-calcium lui aussi présent dans la membrane.

Pourquoi avoir choisi d'étudier plus particulièrement le calcium ?

C. C. – Dans les cellules DMD en culture, nous avons pu enregistrer, comparativement aux cellules normales, un taux anormalement élevé de calcium intracellulaire. Il est vraisemblable que c'est cette surcharge de calcium qui induit petit à petit la nécrose des cellules observée dans cette dystrophie, en particulier par l'activation de toute une palette d'enzymes, telles que des protéases dont l'activité est dépendante du calcium. D'autre part, le calcium est un messenger secondaire ubiquitaire très important dans la cellule. Son rôle est extrêmement varié. Il intervient par exemple au niveau du muscle dans le couplage excitation-contraction, mais aussi dans la régulation de nombreuses enzymes ou de l'expression du génome. Si le calcium est tant utilisé par les cellules, c'est parce qu'il présente une grande différence de concentration entre l'extérieur et l'intérieur des cellules. Cette différence permet une importante dynamique de variation dans le temps. La modification anormale des taux intra- ou extra-cellulaires provoque rapidement d'importants dérèglements dans les cellules.

Quelles sont les techniques utilisées ?

C. C. – L'intérêt de l'électrophysiologie est de permettre une étude «en direct» des transferts de calcium à travers la membrane cellulaire. Pour cela, nous utilisons des techniques d'enregistrement des courants transmembranaires telles que le *patch-clamp*. Ces techniques nous permettent de visualiser l'activité électrique d'une cellule, voire d'un canal, unique. Nous réalisons aussi des études d'immunofluorescence assistée d'imagerie confocale, qui nous permettent de

● Propos recueillis par
Laetitia Becq-Giraudon
Photos Bruno Veyssset

visualiser l'emplacement des protéines-canal sur la surface des cellules. Enfin, nous effectuons des études de biologie moléculaire dont certaines en collaboration avec une équipe de l'Université de Nantes, dirigée par le professeur Dimitri Levitsky. Nous avons aussi des partenariats avec le docteur Dupont du CHU de Poitiers et avec d'autres équipes du campus.

Ces travaux présentent un intérêt biomédical évident, mais qu'en est-il des questions plus fondamentales ?

C. C. – Il faut savoir que le taux anormalement élevé de calcium dans les cellules DMD semble être en corrélation avec l'absence d'une protéine sous-membranaire : la dystrophine. Cependant, on ne connaît presque rien concernant la relation causale entre l'absence de dystrophine et l'augmentation de calcium.

Bruno Constantin. – En fait, la dystrophine est une protéine qui appartient au cytosquelette intracellulaire. Jusque-là, cette structure moléculaire était perçue uniquement comme une charpente structurale relativement passive. On pensait qu'il servait uniquement au maintien de la forme et de l'intégrité de la cellule. La conséquence de l'absence de la dystrophine dans les cellules DMD serait dans ce cas uniquement une déstabilisation mécanique de la membrane. Celle-ci ne jouerait plus son rôle de barrière sélective, entraînant des entrées de calcium dans la cellule puis sa nécrose. En réalité, il semble que cela soit plus compliqué. Fondamentalement, le cytosquelette pourrait ne plus être perçu uniquement comme un modèle passif, mais aussi comme une part intégrante de tout le système de signalisation cellulaire. Ce modèle permet d'envisager différemment les études concernant le rôle de la dystrophine dans nos cellules.

Qu'est-ce que le cytosquelette ?

B. C. – Cette structure intracellulaire est formée, tout au moins chez les animaux, de trois grandes composantes. En premier lieu, les microtubules, qui sont des câbles creux, constitués par une protéine appelée tubuline. En second lieu, les filaments intermédiaires, formés essentiellement par la desmine dans la cellule musculaire. Enfin, les microfilaments d'actine peuvent former des faisceaux ou des filets entrecroisés. A ce cytosquelette sont associées des protéines permettant de réguler son organisation.

D'autre part, ce système est associé à la membrane des cellules par l'intermédiaire de protéines d'ancrage, telles que l'ankyrine, et de

protéines formant un filet sous-membranaire : la spectrine et la dystrophine par exemple. Il est vraisemblable que l'aspect structural de maintien de forme de la cellule ne soit pas le seul rôle à donner au cytosquelette. Celui-ci est impliqué dans des aspects plus dynamiques des fonctions cellulaires. Il intervient par exemple dans la motilité cellulaire lors de l'embryogenèse, de la réponse immunitaire ou de la formation des métastases (pour devenir invasive, une cellule, normalement immobile, devient mobile après une réorganisation de son cytosquelette). Il est impliqué dans tous les aspects du trafic intracellulaire et en particulier dans le transport des vésicules. Il a un rôle de compartimentalisation, en particulier au niveau membranaire où il permet la création de domaines, comme c'est le cas pour la jonction neuro-musculaire.

Quel est donc le nouveau modèle vers lequel s'orientent les études actuelles sur le cytosquelette ?

B. C. – Il semble que le cytosquelette soit capable de transmettre un message à la cellule. Ce nouvel aspect du cytosquelette, qui serait non plus uniquement une charpente passive, mais aussi un régulateur actif et un transduc-



teur, est au cœur des recherches que nous effectuons au laboratoire. En effet, dans ce cas, la dystrophine serait un maillon non plus d'une chaîne structurale, mais plutôt d'une chaîne de signalisation. Concrètement, cela signifie que cette protéine pourrait réguler l'activité de récepteurs et de canaux transmembranaires.

Ce nouveau modèle pourrait expliquer pourquoi l'absence de la dystrophine dans les cellules DMD est associée à une surcharge calcique responsable de la nécrose. Mais cela reste à démontrer. ■

Ci-contre, images en microscopie confocale de fluorescence du cytosquelette de la cellule, réalisées par Bruno Constantin et Anne Cantereau.

A gauche, marquage des microtubules ; à droite, marquage des microfilaments d'actine.

Portraits page de gauche, Christian Cognard, ci-dessous, Bruno Constantin.