

Proposition de Projet de Master 2, encadrant : Grégory Karadjian (Equipe Paralim, UMR BIPAR, gregory.karadjian@anses.fr) et Ladislav Simo (Equipe NeuroPaTick, UMR BIPAR, ladislav.simo@vet-alfort.fr)

Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Anses – Laboratoire de Santé Animale/ UMR Bipar

Adresse : 14 Rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort Cedex

Responsable du Laboratoire / Entreprise : Dr Pascal Boireau

Responsable de l'encadrement : Dr Grégory Karadjian

Téléphone : 01 49 7 28 18

E-mail : gregory.karadjian@anses.fr

Co-encadrant éventuel : Dr Ladislav Simo

Titre : Etude des Neuropeptides de *Trichinella spiralis* (NeuropepTrich)

Contexte

La trichinellose est une maladie zoonotique causée par des nématodes parasites du genre *Trichinella* (Gottstein et al., 2009). Cette maladie est un problème de santé publique dans le monde entier (Pozio, 2001 ; Dupouy-camet et al., 2000). Les principales sources d'infection humaine sont les larves de la viande de porc, de gibier et de cheval. Bien que les infections humaines n'ont pas été signalées pour certains génotypes, toutes les espèces de *Trichinella* sont considérées comme zoonotiques (Dupouy-Camet et al, 2002).

Le système nerveux des nématodes parasites joue un rôle clé dans le contrôle de toutes les activités du ver et est donc la cible principale lorsque de nouveaux médicaments antiparasitaires sont mis au point. La distribution et le fonctionnement de différents neurotransmetteurs ont été étudiés dans de nombreux groupes d'helminthes (Terenina & Gustafsson, 2003, 2014). Les neuropeptides de certains nématodes ont assez largement été étudiés, en particulier ceux de *Caenorhabditis elegans* (Chase & Koelle, 2007). Mais peu l'ont été chez *Trichinella* spp. et les données sur le système nerveux et les neurotransmetteurs de *Trichinella* spp. sont rares. Néanmoins, la présence d'une activité cholinestérasique (enzyme du système cholinergique) (Ramisz, 1965 ; De Vos & Dick, 1992) ainsi que de récepteurs cholinergiques (Karadjian et al., soumis) spécifiques à *Trichinella spiralis*, et la présence de plusieurs neurones catécholaminergiques dans l'extrémité antérieure de ce nématode (Lee &

Ko, 1991) ont été décrits. Récemment, des prédictions ont pu être réalisées à partir des données de génomiques notamment l'existence de précurseur du Leucokinin (Mitrova et al., 2011). Enfin une étude immunocytochimique a mis en évidence la présence d'une sérotonine de *T. pseudospiralis* (Terenina et al., 2016). Malgré son importance médicale, il n'existe aucun rapport traitant de la localisation et de la fonction des différents neuropeptides présents chez *Trichinella* spp.

Les séquences des neuropeptides entre les arthropodes et les nématodes sont très conservées et de nombreux anticorps monoclonaux ont été produits afin de réaliser des marquages de différents neuropeptides chez les arthropodes (Simo et al., 2009, 2012, 2013, 2014 ; Vancova et al., 2019). Des premiers essais ont été réalisés dans notre laboratoire, sur des larves musculaires (L1M) de *T. spiralis*, au moyen d'anticorps monoclonaux liant le Corazonin (Roller et al., 2003), le SIF-amide (Sellami et Veenstra, 2015) et le Sulfakinin chez des arthropodes (figure 1). Ces données préliminaires ont permis de mettre en évidence la présence de ces trois neuropeptides chez *T. spiralis*. Leur localisation et leurs fonctions restent à être déterminée. La présence d'autres neuropeptides nécessaires au système nerveux de *T. spiralis* est également à étudier.

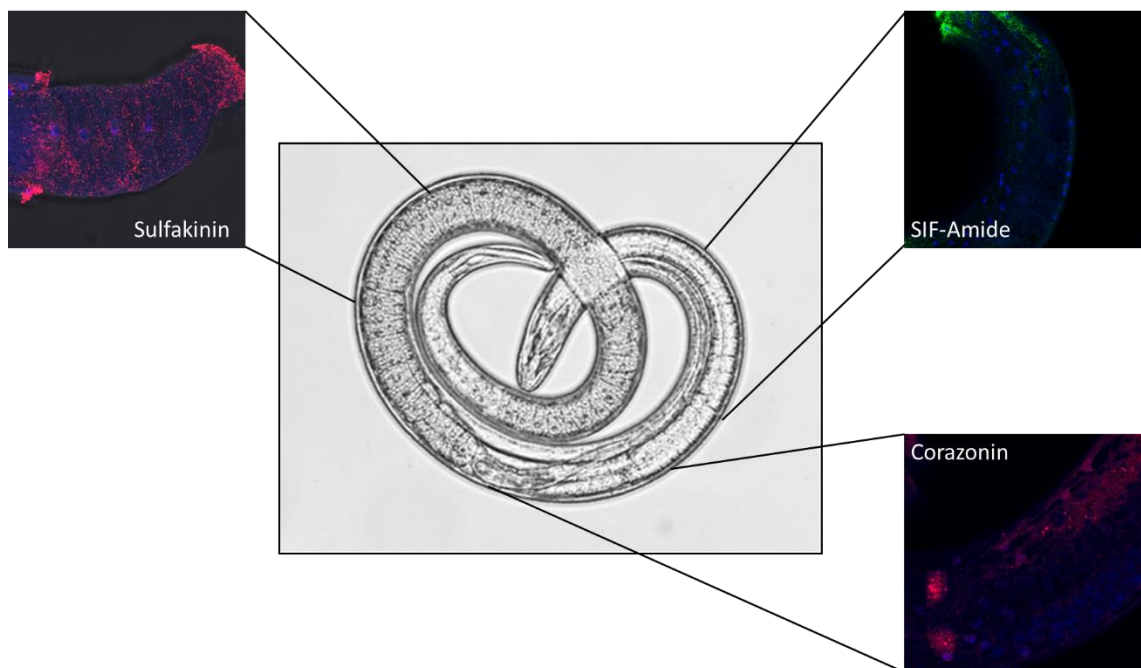


Figure 1: immunomarcage du SIF-amide (vert), sulfakinin et du corazonin (rouge) d'une de *T. spiralis*.

Objectifs

Notre projet est d'étudier la localisation et la fonction des neuropeptides de *T. spiralis* mis en évidence lors de nos expériences préliminaires et d'autres neuropeptides pour lesquels

les anticorps sont déjà disponibles au laboratoire (Myoinhibitory Peptide I, Vasopressine, Orcokinin, ...) sur les larves musculaires mais également d'autres stades du parasite.

Le sujet proposé à l'étudiant de Master 2 sera d'étudier la localisation tissulaire des neuropeptides en réalisant des immuno-marquages de larves musculaires, de larves nouveau-nés et d'adultes de *T. spiralis*, avec les anticorps disponibles. Il travaillera à partir de cryosections ou de morceaux du parasite découpés sous loupe binoculaire et fixés au formaldéhyde (figure 1). Les analyses seront effectuées en microscopie confocale afin d'avoir une approche tri-dimensionnelle des localisations tissulaires. Des tests d'inhibition d'activité de neuropeptides ou de leurs récepteurs seront également réalisés au moyen de molécules connues pour être inhibitrices de l'activité d'un neuropeptide spécifique ou d'agonistes et antagonistes de récepteurs connus de certains neuropeptides chez les arthropodes .

Résultats attendus

Des marquages spécifiques de neuropeptides de *Trichinella spiralis* permettront de les localiser dans les différents tissus/cellules du parasite et de savoir à quel (s) stade (s) parasitaire(s) ils sont le plus exprimés. D'autre part, grâce aux tests d'inhibition de l'activité neuropeptidique, il sera possible de savoir quelle classe de molécules sera la plus intéressante à étudier pour les stratégies de contrôle.

Perspectives

Aucun vaccin et traitement efficace dirigé contre *Trichinella* n'existe à l'heure actuelle. Les neuropeptides pourraient être de bons candidats chez le porc afin d'empêcher le développement et la transmission de *Trichinella*.

Références bibliographiques

CHASE, D.L., KOELLE, M.R. (2007): Biogenic amine neurotransmitters in *C. elegans*. In: The *C. elegans* Research Community, Wormbook.

DE VOS, T., DICK, T.A. (1992): Characterization of cholinesterases from the parasitic nematode *Trichinella spiralis*. *Comp. Biochem. Physiol. C.*, 103(1): 129 – 134.

DUPOUY-CAMET, J. (2000): Trichinellosis: a worldwide zoonosis. *Vet. Parasitol.*, 93 (3 – 4): 191 – 200.

DUPOUY-CAMET, J., KOCIECKA, W., BRUSCHI, F., BOLAS-FERNANDEZ, F., POZIO, E. (2002): Opinion on the diagnosis and treatment of human trichinellosis. *Expert. Opin. Pharmacother.*, 3 (8): 1117 – 1130.

GOTTSTEIN, B., POZIO, E., NÖCKLER, K. (2009): Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control of Trichinellosis. *Microbiol. Rev.*, 22 (1): 127 – 145.

- KARADJIAN, G., NEVEU, C., HECKMANN, A., GRASTEAU, A., BOIREAU, P., MARTIN, C., BLANCHARD, A., VALLEE, I. Investigating anthelmintic targets in adult *Trichinella spiralis* by RNA interference. *Parasite*, soumis.
- LEE, D.L., KO, R.C. (1991): Catecholaminergic neurons in *Trichinella spiralis* (Nematoda). *Parasitol. Res.*, 77 (3): 269 – 270.
- MITREVA, M., JASMER, D. P., ZARLENGA, D. S., WANG, Z., ABUBUKER, S., MARTIN, J., TAYLOR, C. M., YIN, Y., FULTON, L., MINX, P., YANG, S. P., WARREN, W. C., FULFOTN, R. S., BHONAGIRI, V., ZHANG, X., HALLSWOTH-PEPIN, K., CLIFTON, S. W., McCARTER, J. P., APPLETON, J., MARDIS, E. R., ... WILSON, R. K. (2011). The draft genome of the parasitic nematode *Trichinella spiralis*. *Nature genetics*, 43(3), 228–235.
- POZIO, E. (2001): New patterns of *Trichinella* infections. *Vet. Parasitol.*, 98 (1 – 3): 133 – 148.
- RAMISZ, A. (1965): Studies of the nervous system of nematodes by means of histochemical method for active acetylcholinesterase: I. *Trichinella spiralis* and *Syphacia obvelata*. *Acta Parasitol. Polonica.*, 13 (21): 205 – 214.
- ROLLER, L., TANAKA, Y., & TANAKA, S. (2003). Corazonin and corazonin-like substances in the central nervous system of the Pterygota and Apterygota insects. *Cell and tissue research*, 312(3), 393–406.
- SELLAMI, A., & VEENSTRA, J. A. (2015). SIFamide acts on fruitless neurons to modulate sexual behavior in *Drosophila melanogaster*. *Peptides*, 74, 50–56.
- SIMO, L., & PARK, Y. (2014). Neuropeptidergic control of the hindgut in the black-legged tick *Ixodes scapularis*. *International journal for parasitology*, 44(11), 819–826.
- SIMO, L., KOCI, J., & PARK, Y. (2013). Receptors for the neuropeptides, myoinhibitory peptide and SIFamide, in control of the salivary glands of the blacklegged tick *Ixodes scapularis*. *Insect biochemistry and molecular biology*, 43(4), 376–387.
- ŠIMO, L., ZITNAN, D., & PARK, Y. (2012). Neural control of salivary glands in ixodid ticks. *Journal of insect physiology*, 58(4), 459–466.
- SIMO, L., ZITNAN, D., & PARK, Y. (2009). Two novel neuropeptides in innervation of the salivary glands of the black-legged tick, *Ixodes scapularis*: myoinhibitory peptide and SIFamide. *The Journal of comparative neurology*, 517(5), 551–563.
- TERENINA N.B., GUSTAFSSON M.K.S. (2003): Neurotransmitters in helminths. Moscow, Nauka. 176 pp.
- TERENINA N.B., GUSTAFSSON M.K.S. (2014): The functional morphology of the nervous system of parasitic flatworms (trematodes, cestodes). Moscow, KMK Scientific Press Ltd. 296 pp.
- TERENINA N. B., MOCHALOVA N.B., ODOEVSKAYA I. M., KRESHCHENKO N. D., GUSTAFSSON M. K.S. FAGERHOLM H-P. (2016). Serotonin in *Trichinella pseudospiralis*: An immunocytochemical study. *Helminthologia*, 53, 2: 113 – 119.
- VANCOVA, M., BILY, T., NEBESAROVA, J., GRUBHOFFER, L., BONNET, S., PARK, Y., & ŠIMO, L. (2019). Ultrastructural mapping of salivary gland innervation in the tick *Ixodes ricinus*. *Scientific reports*, 9(1), 6860.