

Ontogénèse des canaux transmembranaires

Professeur Daniel BALAS

NATURE ET PROPAGATION DE L'INFLUX

- TRANSMISSION SYNAPTIQUE -

1. POTENTIEL D'ACTION ET PROPAGATION DE L'INFLUX

Toute cellule développe une différence de potentiel entre les deux versants, interne et externe, de la membrane plasmique. Mais dans la plupart des cellules cette ddp reste sensiblement constante. A l'inverse, les cellules musculaires et surtout les neurones, sont capables de moduler leur activité électrique, non seulement in situ (potentiel évoqué : excitabilité locale) mais également en la propageant (influx nerveux) grâce à un contrôle ordonné des variations de perméabilité de la membrane plasmique au Na^+ et K^+ .

Rappel Physiologique :

Des études sur des axones géants ont permis de mesurer avec précision les événements électriques.

Après implantation de microélectrodes et enregistrement des variations [1], on constate que l'influx propagé, ou potentiel d'action, est caractérisé par un déplacement de charges et une onde de "dépolérisation" le long de l'axolemme [2A]. La variation du potentiel d'action atteint environ 95mv (de -60 mv au repos à + 35 mv au maximum du potentiel d'action). Elle est brève, n'excédant pas 1ms et elle se propage très rapidement : de 1 à 100 m.s⁻¹ selon les axones

La dépolérisation est ensuite suivie par une stade d'hyperpolarisation d'amont où le potentiel enregistré se situe au dessous de la valeur de base (-75 mv). Le stade d'hyperpolarisation est un temps relativement long (près de 2 ms)

On a pu démontrer que le profil électrique enregistré résulte d'une perméabilité accrue au Na^+ (flux entrant) suivie d'une perméabilité accrue au K^+ (flux sortant) [2B, 3]

NB : La dépolérisation correspond en fait au passage à des valeurs moins négatives sur l'enregistrement.

Les différentes expérimentations d'electrophysiologie permettent d'établir un schéma explicatif suivant pour les mécanismes membranaires impliqués :

Des techniques plus fines permettent de mieux cerner les mécanismes ioniques à l'échelle membranaire et moléculaire. Il convient de citer la **TECHNIQUE EN PATCH-CLAMP**

Les enregistrements locaux en patch-clamp sont particulièrement utiles et ont représenté un grand progrès technologique.

Les avantages principaux de la méthode sont :

- de pouvoir étudier des canaux ioniques unitaires à partir d'un fragment de membrane plasmique excessivement petit (soit directement in situ [1], soit après arrachement [2])
- de pouvoir mesurer à ddp constante le courant de passage correspondant au flux ionique au travers du canal protéique, grâce à des procédés de régulation et enregistrement électroniques sophistiqués.
- de pouvoir inverser le sens de la membrane sur la pipette, mais aussi de pouvoir faire varier la composante ionique de part et d'autre de la membrane
- de pouvoir tester très finement divers agents pharmacologiques

Les enregistrements en patch-clamp de la figure suivante montrent :

- que chaque canal s'ouvre brutalement en loi du tout ou rien (laissant passer plusieurs milliers d'ions par ms avec une très grande conductance).
- que la vitesse instantanée de passage est identique d'un canal à l'autre. Par contre la durée d'ouverture, ainsi que de fermeture, peuvent être variables d'un canal à l'autre.
- que la sommation de plusieurs dizaines de canaux aboutit à retrouver le tracé classique d'électrophysiologie (voir page 40). Le potentiel d'action évoqué est donc bien la résultante probabiliste du nombre de canaux unitaires activés à un instant donné.

Associées à d'autres méthodologies fines, les techniques en patch clamp permettent en outre de constater

- que les canaux passent par différents états transitionnels parfaitement régulés à l'échelle moléculaire.

Nous décrivons les différents états du canal Na⁺ voltage dépendant

- que le réglage par la tension dépend des contraintes de charge subies par les protéines transmembranaires sous l'effet de la ddp. Cette ddp (environ 95 mv) est en fait considérable lorsqu'on songe à la ramener à l'épaisseur du diélectrique que représente la bicouche phospholipidique (5nm) :

il faut alors imaginer que le gradient électrique peut atteindre 100 000 v/cm !

- que les canaux protéiques sont des exemples remarquables de configurations stériques particulièrement adaptées, constituant des familles bien conservées dans l'évolution.

2. FONCTIONNEMENT DES CANAUX VOLTAÏQUES

Tous les canaux ioniques protéiques voltage dépendants possèdent 4 domaines transmembranaires (I à IV) constituant l'entité conductrice. Chaque domaine est lui même composé de 6 hélices transmembranaires (1 à 6).

Dans le cas des canaux Na^+ et Ca^{++} , une seule chaîne (donc un seul gène) de 250 000 KD forme le canal : les 4 domaines sont reliés par des séquences peptidiques formant des boucles inégales.

Le canal K^+ est partiellement différent : il est formé de l'association tétramérique de 4 chaînes identiques; mais chacune possède les 6 hélices transmembranaires.

En bout de compte la configuration stérique des canaux Na^+ , K^+ et Ca^{++} est très similaire. Le tableau montre les fortes homologies de séquence de l'hélice 4 pour les trois types de canaux. Il faut surtout remarquer la répétition tous les 3 acides aminés de résidus électropositifs, arginine (R) et lysine (K).

La présence des résidus R et K transforme l'hélice 4 en jauge de tension : c'est elle qui va pouvoir subir les plus fortes modifications de configuration par attraction électrostatique au moment de la dépolarisation (hélice d'admission). La transconformation protéique initiée sur l'hélice 4 va ensuite retentir sur l'ensemble de la molécule et va déplacer le restant des domaines membranaires, et ainsi ouvrir transitoirement le canal. Les séquences localisées entre l'hélice 5 et 6 ont une structure en feuillet β qui tapissent la paroi interne du pore. Elles servent de "soupape" de fermeture/ouverture du canal.

La figure suivante détaille le cycle présumé du canal Na^+ en fonction des variations de charges.

Les 3 états du canal sont expliqués: fermeture de repos, ouverture brutale voltage-dépendant, fermeture en période réfractaire.

La configuration du canal K^+ est également illustrée. Seuls, 2 des 4 domaines transmembranaires sont représentés. Les séquences fléchées correspondent aux régions en feuillet β .

La même figure représente (sous forme imagée) le mécanisme d'inactivation rapide du canal ionique à K^+ : les domaines NH_2 terminaux intracytosoliques forment des "balles" pouvant obstruer l'entrée cytosolique du canal. Quatre balles, une pour chaque unité, peuvent participer au mécanisme d'inactivation (mais seulement 2 ont été dessinées).

Un mécanisme similaire explique l'inactivation du canal Na^+ et/ou son entrée en période réfractaire en moins de 1 ms après l'ouverture. Néanmoins les séquences servant de "balles" de fermeture ne sont pas les mêmes que pour le canal K^+ .

3. TRANSMISSION SYNAPTIQUE

3.1 DU POTENTIEL D'ACTION A LA NEUROSECRETION PRESYNAPTIQUE

3.1.1 L'INFLUX EST UNIDIRECTIONNEL SUR L'AXONE

Un neurone donné reçoit simultanément des stimuli excitateurs ou inhibiteurs exprimés par de faibles variations des potentiels de membrane qui diffusent vers le pericaryon puis le cône d'émergence en rayonnant à partir des diverses synapses (voir le neuropile page 26 : ne pas oublier le nombre considérable de contacts synaptiques autour de chaque neurone).

Le déclenchement d'un potentiel d'action au départ de l'axone dépend alors de l'intégration quantitative, topographique et temporelle des divers stimuli reçus.

Pour qu'un potentiel apparaisse il faut que la valeur du potentiel membranaire au niveau du cône d'émergence tombe au dessous d'une certaine valeur seuil : le seuil de déclenchement (modulable). Il faut donc considérer le neurone comme une véritable centrale informative (sinon informatique) qui gère la décision de déclencher ou non le potentiel d'action qui va courir le long de l'axone.

Les stimuli reçus tendent donc à ouvrir quelques canaux Na^+ (canaux de fuite) qui dépolarisent la membrane. Mais la plupart des neurones possèdent simultanément des canaux K^+ similaires qui s'ouvrent immédiatement et viennent repolariser la membrane en s'opposant au déclenchement du potentiel : ce sont les canaux K^+ instantanés. Ce n'est qu'au delà d'un seuil de dépolarisation atteint, propre à chaque neurone, que les canaux voltages dépendants vont se déclencher.

Le potentiel d'action sera alors initié en loi du tout ou rien. Le seuil va donc dépendre d'une intégration du nombre relatif de canaux de fuites Na^+ et K^+ par rapport à celui des canaux voltaiques.

Une fois initié au cône d'émergence la propagation unidirectionnelle est facilitée par l'onde d'hyperpolarisation liée à l'ouverture retardée des canaux voltaiques K^+ : l'hyperpolarisation transitoire associée à la période réfractaire du canal voltaïque Na^+ interdit toute nouvelle dépolarisation, imposant à partir du cône d'émergence que les nouvelles dépolarisation s'effectuent plus en aval sur l'axone, sur des canaux encore au repos.

3.1.2 LE POTENTIEL D'ACTION OUVRE DES CANAUX VOLTAIQUES Ca^{++} AU NIVEAU DE LA SYNAPSE

Lorsque le potentiel d'action propagé arrive à l'extrémité de l'axone, il permet l'ouverture des canaux voltaiques Ca^{++} qui sont spécifiquement localisés dans la région du bouton terminal.

L'ouverture de ces canaux permet l'entrée d'un flux massif de calcium. La concentration en Ca^{++} du cytoplasme est alors suffisante pour déclencher le processus d'exocytose et le déversement des vésicules synaptiques dans la fente synaptique. L'excès de Calcium est

ensuite très rapidement réexporté grâce à l'activation de Ca^{++} ATPases. Les canaux Ca^{++} sont donc de véritables transducteurs, transformant un signal électrique en signal chimique

3.1.3 LE TAUX INTRACYTOPLAMIQUE DE Ca^{++} DECLENCHE LE CYCLE DES PETITES VESICULES SYNAPTIQUES

La libération du neurotransmetteur dans la fente synaptique sous l'influence du Calcium correspond à une série d'évènements cycliques :

1) **REPLISSAGE DES PETITES VÉSICULES** synaptiques avec les neuromédiateurs synthétisés dans l'axoplasme. La synaptophysine est une molécule de la membrane des vésicules synaptiques qui s'assemble en hexamères qui servent de pore-canal permettant ce pompage moléculaire (La synaptophysine est apparentée aux connexines constitutives des connexons d'une gap junction).

2) **TRANSLOCATION DES VÉSICULES** vers la membrane présynaptique. La synapsine est localisée à la face externe des membranes vésiculaires. Elle est calmoduline- Ca^{++} dépendante (également AMPc dépendante). Elle permet la jonction avec le cytosquelette (via la spectrine) et conduit les vésicules au contact de la membrane présynaptique dans la zone du réseau déjà décrite .

3) **LA RECONNAISSANCE DE SITES SPÉCIFIQUES** sur le versant interne de la membrane présynaptique, suivie d'un processus de fusion des membranes aboutissant à l'ouverture de la vésicule synaptique et au déversement du neuromédiateur (ouverture des synaptopores) Le processus de préexocytose des vésicules synaptiques est encore incomplètement élucidé. Il dépend de plusieurs complexes protéiques.

- Des complexes protéiques d'attachement : SNAPs/SNAREs. Les SNAPs forment un complexe de protéines cytosoliques (SNAPs 25, alpha, bêta, etc). Les SNAPs reconnaissent des SNAREs ; il s'agit de récepteurs au SNAPs localisés à la fois sur la membrane vésiculaire (synaptobrevine) et présynaptiques (syntaxine).
- Le NSF, nécessaire à la reconnaissance stéréospécifique SNAPs-SNAREs. En son absence les vésicules s'accumulent près du réseau mais ne fusionnent pas (NSF = NEM-sensitive factor. NEM = N-ethylmaleimide, petite molécule qui inhibe le NSF et dont le mode de régulation est encore mal connu).
- La synaptotagmine molécule transmembranaire des vésicules synaptiques : elle est calcium dépendant et gère la fusion avec la membrane présynaptique au niveau des pores de fusion (synaptopores) NSF et Synaptotagmine sont deux molécules essentielles dans le mécanisme.

4) **UN RECYCLAGE DES MEMBRANES** présynaptiques qui implique les endosomes précoces (voir cours de biologie cellulaire)

3.1.4 LE CYCLE DES GRANDES VESICULES SYNAPTIQUES DIFFERE DE CELUI DES PETITES VESICULES

Les grandes vésicules sphériques n'ont pas le même mode de cyclage.

- Elles sont exocytées plus latéralement dans les terminaisons, et non sur le site spécifique de la membrane présynaptique. La synapsine et la synaptobrevine sont absentes ; cette absence pouvant parfaitement expliquer le défaut d'adressage vers le membre synaptique spécifique.
- Le contenu sécrétoire est élaboré par une voie vésiculaire golgienne avec transfert transaxonique.

La synaptophysine est absente

- La synaptotagmine est présente et l'exocytose peut être calcium dépendante.

Les Figures suivantes explicitent le processus de transmission présynaptique

SYNAPSE : CYCLAGES VESICULAIRES ET MEMBRANAIRES

3.2 L'ETAPE POSTSYNAPTIQUE : EXEMPLE DE LA JONCTION NEUROMUSCULAIRE

Il est évident que le mécanisme d'activation postsynaptique, donc l'initiation de nouveaux potentiels d'action va dépendre du type de neurotransmetteur, en fait du type de récepteur reconnu sur la membrane postsynaptique.

Il n'est pas question dans ce cours d'étudier les différents modes de transmission postsynaptique. Nous choisissons un cas particulier, le plus anciennement connu : la transmission cholinergique au niveau de la synapse neuro-musculaire également appelée plaque motrice.

Au niveau du muscle squelettique les terminaisons synaptiques des nerf moteurs entrent en contact avec le sarcolemme au niveau de la plaque motrice. L'acetyl choline constitue le neuromédiateur déversé dans la fente synaptique au niveau de la plaque.

L'acetylcholine va reconnaître immédiatement des récepteurs spécifiques de la membrane postsynaptique (visualisés sur l'encart ci-contre par une méthode cytochimique, flèches blanches)

L'acetylcholine est par ailleurs dégradée en permanence par une acetylcholinestérase qui fait partie intégrante du versant externe de la membrane postsynaptique.

LA TRANSMISSION NEUROMUSCULAIRE NÉCESSITE L'ACTIVATION SÉQUENTIELLE DE CINQ SÉRIES DIFFÉRENTES DE CANAUX IONIQUES

L'importance des canaux ioniques pour les cellules électriquement excitables peut être illustrée en suivant le processus par lequel l'influx nerveux stimule la contraction d'une cellule

musculaire. Cette réponse apparemment simple nécessite l'activation séquentielle de cinq séries différentes de canaux ioniques

- tout cela en moins d'une seconde. Nous connaissons déjà les premières étapes. Elles ont été vues dans les chapitres précédents. Nous connaissons aussi en partie l'étape terminales de la transduction du signal contractile calcium-dépendant (voir votre cours sur la cellule musculaire striée squelettique).

Nous pouvons désormais avoir une vue globale du processus. Nous reviendrons ensuite sur l'étape 2 qui concerne le fonctionnement du récepteur à l'acétylcholine, bon exemple de canal contrôlé par un transmetteur. ce type de canal méritera d'être ensuite comparé de façon critique avec les canaux voltage dépendants ou avec un canal de couplage électrique comme la gap, qui est contrôlé par les conditions physico-chimiques intra-cellulaire)

1. Le processus est amorcé lorsque l'influx nerveux atteint la terminaison nerveuse et dépolarise sa membrane plasmique. La dépolarisation provoque l'ouverture momentanée des canaux Ca^{++} contrôlés par la tension et situés dans le bouton terminal. La concentration de Ca^{++} à l'extérieur des cellules étant plus de 1000 fois supérieure à la concentration de Ca^{++} libre à l'intérieur, les ions Ca^{++} affluent dans la terminaison nerveuse. L'augmentation de la concentration en Ca^{++} dans le cytosol de la terminaison nerveuse stimule une libération localisée d'acétylcholine dans la fente synaptique par le processus vu dans le chapitre précédent (pages 49 à 52).
2. L'acétylcholine libérée se fixe aux récepteurs de l'acétylcholine situés dans la membrane plasmique de la cellule musculaire, ouvrant de façon transitoire le canal cationique associé (en fait intégré). L'influx résultant de Na^+ provoque une dépolarisation localisée de la membrane.
3. La dépolarisation de la membrane plasmique de la cellule musculaire obtenu par le récepteur-canal de l'acétylcholine ouvre alors des canaux Na^+ contrôlés par la tension, permettant l'entrée d'une plus grande quantité d'ions Na^+ et une dépolarisation plus intense de la membrane. La dépolarisation va alors se propager (= potentiel d'action) avec un recrutement de la totalité de la membrane plasmique amenant l'onde de dépolarisation jusqu'au niveau du système T. Le processus de cheminement du potentiel est tout à fait comparable à celui déjà décrit page 40 et 41 pour la membrane axonique (activation dépolarisante du canal sodium voltaïque suivie de l'activation hyperpolarisante du canal voltaïque K^+).
4. La dépolarisation généralisée de la cellule musculaire active alors des canaux Ca^{++} contrôlés par la tension dans les régions spécialisées du système T. Rappelons qu'il s'agit d'un système complexe qui allie une protéine-canal voltage dépendant, elle même couplée à un récepteur spécifique inclu dans le réticulum adjacent (zone de la triade), qu'il s'agisse d'un récepteur de type ryanodine ou d'un récepteur lié aux phosphoinositides et libérant le calcium via l' IP_3 (revoir le cours sur le tissu musculaire). Dans les deux cas l'activation déclenche une libération dans le cytosol du Ca^{++} stocké dans le réticulum sarcoplasmique. Nous savons que c'est l'augmentation soudaine de la concentration intracellulaire de Ca^{++} qui provoque la contraction des myofibrilles dans la cellule musculaire, via une interaction avec la troponine et le démasquage du site liaison actine-myosine.
5. In fine le taux de calcium est rétabli grâce à une $ATPase-Ca^{++}$ dépendante du réticulum. Enfin, l'acétylcholinestérase de la plaque motrice contribue aussi à éviter une contraction prolongée.

LE RECEPTEUR-CANAL DE L'ACETYLCHOLINE (Ach)

Le récepteur de l'Ach est sûrement le plus étudié et le mieux connu tant au plan de la biologie cellulaire que désormais au plan de la génétique. Son étude a été facilitée par son abondance dans les organes électriques de certains poissons (raie, poisson torpille).

La structure est celle d'un pentamère transmembranaire constitué des unités β et de 2 unités identiques (récepteur).

Le tunnel formé par les 5 sous-unités est bordé par des zones particulières en alpha-hélice : les hélices M2. Des résidus glutamates et/ou aspartates aux deux extrémités des chaînes M2 sont essentiels dans le fonctionnement du récepteur : ils forment aux deux entrées du canal un anneau d'électronégativité apte à piéger les cations.

Ce type de canal n'a pas une sélectivité aussi poussée que celle des canaux voltages-dépendants : il laisse aisément passer les cations de petite taille inférieurs à 0,65nm de diamètre, donc le Na^+ , le K^+ , le Ca^{++} . C'est davantage la concentration environnementale du cation qui règle une entrée préférentielle (donc effectivement dans ce cas particulier le sodium qui est majoritaire dans le milieu extracellulaire)

L'activité est modulable par le ligand, c'est à dire par l'acetylcholine pour R . l'Ach provoque la transconformation des protomères du canal et l'ouverture lorsque 2 molécules d'Ach viennent reconnaître 2 sites spécifiques et coopératifs localisés sur les unités.

Par ailleurs, le contact prolongé du récepteur avec l'Ach ou un agoniste de l'Ach peut aboutir à une désensibilisation du système : le ligand se fixe encore sans modification notable de l'affinité mais l'ouverture du canal est bloquée par transconformation des protomères (la chaîne M2 en est responsable comme le montre le schéma de la page 60 où on observe l'angulation importante de la séquence qui "obture" le tunnel, le rendant réfractaire).

Autrement dit, ce type de récepteur peut acquérir trois états fonctionnels. En fait l'état ouvert activé est excessivement court et rapidement le récepteur peut se retrouver dans un état occupé et fermé. Cette notion revêt de nombreuses conséquences physiologiques et/ou pathologiques qui ne peuvent être abordées dans ce cours

Les récepteurs pentamériques à ouverture conditionnée par un neurotransmetteur correspondent à une très vaste famille dont la structure est très comparable à celle que nous venons de décrire.

Les récepteurs à la sérotonine, au GABA, sont de ce type ; le récepteur au glutamate n'est pas fondamentalement différent.

Ces récepteurs sont soumis à une versatilité considérable : plusieurs gènes différents pour une même sous-unité, possibilité d'épissage alternatif, etc.

Cette variabilité permet de reconnaître un très grand nombre de sous-classes qui diffèrent finement d'une espèce à une autre mais surtout d'un tissu ou organe à un autre : Ne serait-ce que pour l'Ach, cela aboutit à une sensibilité différentielle entre les zones du cerveau ; les récepteurs du muscle diffèrent largement des récepteurs à l'Ach du cerveau, etc*.

Cette diversité permet d'envisager une approche pharmacologique très riche, avec la recherche d'agonistes ou antagonistes ciblés. Le premier exemple naturel de ce type de drogue est représenté par le curare : il est utilisé couramment en chirurgie pour relaxer les muscles squelettiques. En effet le curare n'inhibe que le récepteur nicotinique à l'Ach du muscle strié volontaire (pas d'action sur les autres récepteurs, et surtout pas sur le myocarde!).

De très nombreux psychotropes agissent sur des récepteurs de ce type : barbituriques, anxiolytiques, antidépresseurs, tranquillisants... Valium et Librium sont des agonistes du récepteur au GABA, augmentant son rôle inhibiteur.

**nous ne parlons ici que des récepteurs à l'Ach de type nicotinique. Il existe aussi des récepteurs muscariniques à l'Ach, fondamentalement différents, couplés à des G-protéines, et non directement à un canal.*

LA CASCADE DE COUPLAGE EXCITATION-CONTRACTION

Les muscles striés squelettiques n'ont pas d'activité autonome. On ne peut les dissocier des nerfs moteurs qui commandent leur activité par l'intermédiaire d'une synapse neuromusculaire : la plaque motrice. Au niveau de la plaque motrice le neuromédiateur est libéré par la terminaison du nerf moteur. Il s'agit pour le muscle strié de l'acétylcholine qui va induire la dépolarisation du sarcolemme (membrane plasmique) et un potentiel de plaque motrice (PPM) qui va se propager localement en provoquant la réponse spécifique de la fibre musculaire.

Le PPM correspond à une augmentation de la conductance aux cations (Na^+ préférentiellement).

Sur la membrane de la cellule musculaire striée squelettique c'est le récepteur de l'acétylcholine qui forme lui-même le canal à cations.

La contraction musculaire correspond à la conversion de l'énergie chimique provenant de l'hydrolyse de l'ATP en énergie mécanique.

Mais entre le moment où le sarcolemme, parcouru par un potentiel d'action, est dépolarisé et le raccourcissement de la fibre musculaire, il se produit une cascade d'événements complexes qu'on peut décrire par étapes successives.

1 Le potentiel d'action envahit l'ensemble de la fibre musculaire. Le réseau en T, excessivement développé permet de conduire la dépolarisation au cœur même de la fibre musculaire et des unités sarcomériques.

2 Le potentiel d'action va induire une mobilisation du calcium. Le déclenchement de la contraction musculaire se fait grâce à la présence de calcium libre dans le sarcoplasme.

Au repos, cet ion est stocké, pour l'essentiel, dans les citernes du réticulum sarcoplasmique où il est fixé par une protéine de 60 kDa, la calséquestrine. Pour une moindre part, le calcium est aussi séquestré dans les mitochondries (plus exactement le calcium mitochondrial est moins rapidement mobilisable).

La libération du Ca^{++} de ses sites de stockage est provoquée par la dépolarisation électrique de la membrane sarcoplasmique au niveau des tubules T.

On peut supposer que plus un muscle doit répondre vite, plus sa sensibilité au calcium doit être grande, et plus la mobilisation du calcium doit être rapide : on a ainsi pu démontrer une étroite corrélation entre le nombre de triades et la vitesse de contraction du muscle. C'est donc bien au niveau de la triade que sont contrôlés les flux calciques et l'initiation de la contraction.

La transmission du signal du système T au réticulum sarcoplasmique avec libération de calcium s'effectue selon (au moins) deux mécanismes. Ces mécanismes sont tous les deux réels, mais mis en oeuvre à des degrés divers selon les modèles, selon les cellules considérées.

Ces deux mécanismes, après simplification, figurent sur le schéma suivant.

Mécanisme 1 : c'est le plus important chez les mammifères

Le signal électrique active une protéine canal de la membrane du tubule T sensible à la différence de potentiel transmembranaire (canal L). Cette protéine-canal est sélective du Ca^{++} car elle est associée à un canal calcique spécifique localisé dans la membrane du réticulum sarcoplasmique : le récepteur à la ryanodine, constitué de 4 sous-unités transmembranaires.

Il s'agit d'une interaction directe des entités protéiques des deux membranes (tubule T et réticulum) : après couplage avec le canal L, des modifications conformationnelles des sous-unités du récepteur à la ryanodine forment un pore dynamique qui libère le calcium dans le cytoplasme. De plus, l'ouverture du canal Ca^{++} est facilitée lorsque la concentration de calcium libre augmente (up-régulation).

Inversement, lorsque les concentrations en Ca^{++} libre augmentent encore plus le canal se ferme. D'autres facteurs (ATP, calmoduline) modulent la mobilisation du calcium.

Mécanisme 2 : L'activation du canal L est couplée à une phospholipase C (PLC) qui stimule la voie des phospho-inositides. La PLC hydrolyse le PIP₂ (phospho inositol diphosphate) en IP₃ (inositol 3-phosphate) et diacylglycerol (DAG). La libération d'IP₃ active alors soit son propre récepteur, soit le récepteur à la ryanodine, tous deux localisés sur la membrane du réticulum, et libère le calcium, comme pour le mécanisme 1.

Dans les deux cas, le calcium est ensuite recapté par une « pompe à calcium » consommatrice d'ATP et qui permet de restocker le calcium dans le réticulum.

Pour comparer,...

CONTRACTION-RELAXATION DU MUSCLE LISSE :

Mécanisme de régulation dépendant de la myosine

La contraction et la relaxation du muscle lisse dépendent de la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine. Celle-ci est réglée par une kinase spécifique MLCK (myosin light chain kinase) et une phosphatase spécifique (MLCP : myosin light chain phosphatase).

L'augmentation transitoire de la concentration de calcium cytosolique active la calmoduline (CaM) qui s'associe à la MLCK pour former un complexe actif [4Ca⁺⁺-CaMMLCK]

(situation 1) : la chaîne légère de la myosine sera phosphorylée et la fibre musculaire se contractera.

L'activité de la MLCK peut, par ailleurs, être inhibée par sa propre phosphorylation sous l'effet de la protéine kinase A activée par une autre stimulation (par exemple, stimulation hormonale βadrénergique)

(situation 2) : la MLCK ne peut plus former de complexe avec la calmoduline liant le calcium. La déphosphorylation de la myosine par la MLCP ne sera pas suivie d'une nouvelle phosphorylation,

et la cellule entrera en relaxation.

... Il est clair, tant au niveau du filament épais, que du filament fin, que la cellule musculaire lisse est capable de moduler sa réponse motrice beaucoup plus finement que ne peut le faire la cellule musculaire striée

CONTRACTION-RELAXATION DU MUSCLE LISSE :

Mécanisme de régulation dépendant de la myosine

3.3 MODULATION :

SYNAPSES FACILITATRICES OU INHIBITRICES

Nous avons vu qu'il existait des terminaisons polysynaptiques. Elles sont rencontrées dans le système nerveux central où elles sont excessivement fréquentes.

Elles sont la traduction morphologique de l'extrême capacité d'adaptation de la neurotransmission centrale.

Grace aux polysynapses il est facile d'imaginer les modulations possibles dans la transmission d'un signal grace à des synapses facilitatrices ou au contraire inhibitrices sur une voie de connexion principale,

comme le montre le schéma ci-contre

Le récepteur à la sérotonine sur le versant postsynaptique active l'adénylate cyclase et la production d'AMPc. L'AMPc active une kinase qui phosphoryle un canal voltaïque à K^+ et l'inactive. Dans ces conditions l'hyperpolarisation membranaire va être réduite, favorisant l'état de dépolarisation.

Le seuil de polarité membranaire est ainsi abaissé et l'ouverture du canal Ca^{++} voltage dépendant est facilité.

Le taux accru de Ca^{++} va alors augmenter l'exocytose du neurotransmetteur au niveau de la synapse principale

L'ouverture massive de canaux chlore sous l'effet du GABA (=gamma-aminobutyrate, dérivé du glutamate décarboxylé) génère une hyperpolarisation qui s'oppose au recrutement de canaux sodium ou à l'activation des canaux Ca^{++} . L'action inhibitrice est d'autant plus importante que l'effet du GABA peut durer une seconde lorsque les variations de potentiel d'action se mesurent en millisecondes.

Deux exemples de synapses inhibitrices sont fournis sur les 2 pages suivantes

Le réflexe rotulien est un bon exemple d'intervention d'une synapse inhibitrice : le choc à proximité de la rotule (marteau à réflexe) stimule les terminaisons tendineuses d'une fibre sensorielle qui conduit l'information jusqu'à la corne antérieure de la moëlle, via le péricaryon localisé dans le ganglion rachidien (spinal).

Les neurones des fibres motrices destinées aux extenseurs (quadriceps) sont stimulées directement par l'axone du neurone sensoriel, provoquant l'extension brutale de la jambe.

Les neurones moteurs destinés aux fléchisseurs reçoivent l'information sensorielle via une interneurone inhibiteur qui empêche toute tentative de contraction des fléchisseurs qui vont alors rester relaxés.

L'interneurone inhibiteur (à Gaba) facilite ainsi l'extension de la jambe en évitant toute possibilité de contraction simultanée des muscles fléchisseurs.

CELLULE DE RENSHAW :

Cette cellule participe également au contrôle de la contraction musculaire, au même étage que précédemment, donc à l'étage médullaire et dans la corne antérieure de la moëlle (voir schéma page 66).Lorsqu'un motoneurone (motoneurone voir vos cours de physiologie) de la corne antérieure de la moëlle est stimulé, son axone commande la contraction d'une fibre musculaire, via la plaque motrice et une synapse cholinergique.

Simultanément le motoneurone vient stimuler la cellule de Renshaw via un axone récurrent.

La cellule de Renshaw émet des axones sur la cellule motrice homologue mais aussi sur les motoneurones adjacents.

Les terminaisons de la cellule de Renshaw sont des synapses inhibitrices à Gaba.

Ce type de boucle courte permet alors :

1. un rétrocontrôle de l'activité du motoneurone homologue (I) avec limitation immédiate de l'amplitude de la contraction dans l'unité motrice concernée (unité motrice : voir cours de physiologie et cours sur le tissu musculaire page 28)
2. Une limitation immédiate de la diffusion possible de la dépolarisation du neurone I dans le neuropile, évitant ainsi de voir se contracter les cellules motrices adjacentes (II). La cellule de Renshaw augmente ainsi la spécificité topographique de réponse effectrice motrice.

MODELISATION DES CANAUX IONIQUES

Les canaux ioniques qui s'ouvrent directement en réponse aux neurotransmetteurs tels que l'acétylcholine, la sérotonine, le GABA et la glycine contiennent des sous-unités semblables sur le plan structural, montrant qu'elles sont apparentées d'un point de vue évolutif et qu'elles forment un pore transmembranaire analogue, même si les spécificités de liaison aux neurotransmetteurs et la sélectivité ionique sont généralement très différentes.

Dans chaque cas, le canal est formé de sous-unités de polypeptides homologues, constituant un pentamère qui est calqué sur celui du récepteur de l'acétylcholine (voir pages précédentes).

La comparaison entre les figures de la page 45-46 et de la page 58 souligne le contraste existant avec les canaux cationiques contrôlés par la tension, constitués par un pore à quatre sous-unités (ou domaines), et les canaux à ouverture contrôlée par les transmetteurs possédant un plus large pore pentamérique, et dont la sélectivité vis-à-vis des ions est moins stricte.

Il faut ajouter à cette comparaison le mode de couplage électrique obtenu par les jonctions de type gap, décrites dans le cours sur les épithéliums. Il s'agit d'un complexe transmembranaire à six sous-unités. Les pores sont encore plus large et permettent le passage de petites molécules organiques (AMPc par exemple) en plus des ions inorganiques. Le contrôle de l'ouverture du pore est alors sous la dépendance du pH et du taux de Ca^{++} intracellulaire (voir la description des connexons dans le cours sur les épithéliums ; penser également à la synaptophysine).

Les relations possibles entre le nombre de sous-unités et la largeur du pore sont illustrées dans la page suivante On pourrait dire :

- Les canaux à 4 sous unités (voltage-dépendants) sont très spécifiques dans la qualité du transfert ionique effectué (Na^+ , K^+ , Ca^{++} exclusifs) mais ils sont essentiellement gérés par les conditions physicochimiques de la membrane, plus particulièrement la ddp trans-membranaire
- Les canaux à 5 sous unités sont moins spécifiques dans la qualité du transfert mais ils sont essentiellement gérés par l'extérieur : remarquable adaptation à l'environnement

par la spécificité récéptosomiale et la reconnaissance des facteurs de signalisation (dont les neurotransmetteurs)

- Les canaux à 6 sous unités ont un transfert encore moins spécifique (ne fonctionnent qu'en tamis moléculaire avec exclusion pour les molécules > 1000 Daltons) ; ils sont essentiellement gérés par le milieu intérieur (conditions physicochimiques du cytosol : taux de Calcium, pH, etc) Il s'agit d'une vision volontairement très simplifiée dans un but didactique. Elle méritera d'être nuancée avec l'évolution de vos connaissances