

# NEUROBIOLOGIE (J-M MIENVILLE)

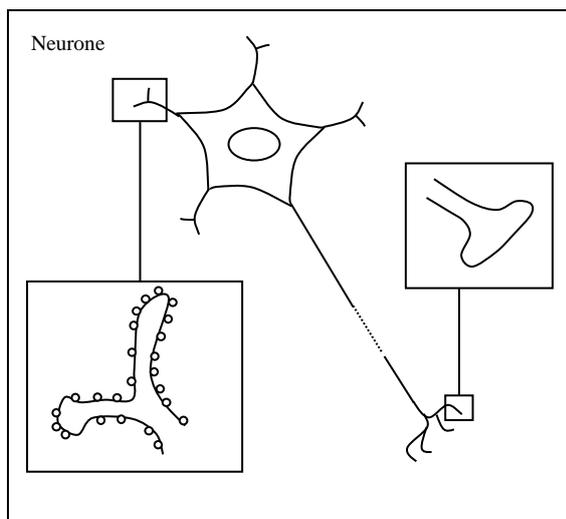
## I. Généralités - Anatomie

Toutes les cellules de l'organisme génèrent de l'électricité (cf. potentiel de repos). Ce qui caractérise les cellules excitables — neurones et cellules musculaires —, c'est un répertoire particulier de canaux ioniques qui leur permet de générer des potentiels d'action (PA). Pour les cellules musculaires ce PA permet la contraction, pour les cellules sécrétrices il est souvent lié à la sécrétion ; pour les neurones il permet une communication ultra-rapide de cellule à cellule. Par comparaison avec le SN, le système endocrinien utilise un mode de communication beaucoup plus lent et implique généralement des effets à plus long terme (heures – jours contre ms). Ceci est basé sur l'éloignement entre la cellule endocrinienne et sa cible et le fait que le message emprunte la voie systémique, alors que les neurones sont en contact quasi direct par l'intermédiaire des synapses.

Le PA constitue l'unité de base de la communication neuronale. On a ici un codage binaire (PA = 1 ; pas de PA = 0) basé sur la modulation en fréquence des impulsions transmises. La richesse de l'information vient du grand nombre d'unités fonctionnelles (neurones et synapses) construites en réseaux. Sur le plan phylogénétique, le SN apparaît chez la méduse. Chez l'Aplysie il y a 20000 neurones (répertoriés), et déjà on trouve une ébauche de mise en mémoire. Chez l'homme, il y a  $10^{11}$  neurones et un nombre variable de synapses par neurones, de quelques unes jusqu'à 200000 dans la cellule de Purkinje. Si on multiplie le nombre de neurones par le nombre de synapses, on a donc une idée des capacités de travail que cela suppose...

Durant la dernière décennie, de nombreux dogmes appartenant aux neurosciences ont dû être abandonnés. Un de ces dogmes concerne la soit-disant incapacité de l'organisme adulte à générer des neurones. Il est vrai que chez les mammifères la neurogénèse dans son ensemble se termine à la naissance, et qu'il y a ensuite perte du patrimoine de départ à raison de 5000 neurones par jour (?), sauf condition pathologique. Mais on sait maintenant qu'il existe aussi une neurogénèse adulte, tout au moins dans 2 régions spécifiques qui sont le gyrus denté de l'hippocampe et la zone sous-ventriculaire du télencéphale.

### Morphologie neuronale

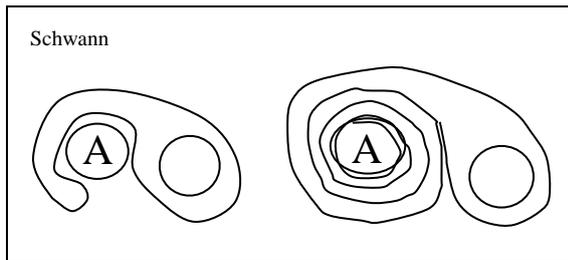


Le neurone comprend :

1. Un soma (corps cellulaire) équipé de l'appareillage commun à toutes les cellules (noyau, mitochondries, Golgi, réticulum...)
2. Le neurone est une cellule dite polarisée (asymétrique) avec d'un côté les dendrites, qui constituent le pôle normalement récepteur. Les dendrites font 1-2 mm de longueur, et présentent une arborisation variable (maximale chez la cellule de Purkinje). L'aspect distal peut présenter des épines, sites synaptiques dont la morphologie varie au cours des processus d'apprentissage (sujet chaud). Ceci semble dû à l'action de protéines (ex. Arc – codées sur place

par l'ARNm présent) qui interagissent avec le cytosquelette. Les épines constituent également des compartiments calciques individualisés (possibilités de régulation fine et précise). Les dendrites, tout au moins à leur point de départ du soma, sont plus épaisses que...

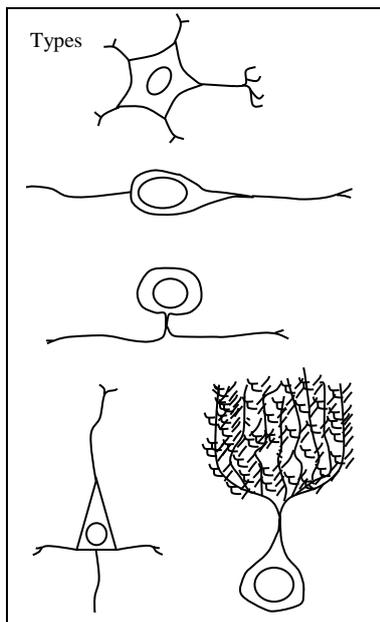
3. l'**axone**, très fin, ce qui permet de distinguer ce dernier en microscopie. La longueur de l'axone varie, de quelques mm dans le SNC jusqu'à >1 m à la périphérie (jambe). Ces longues distances impliquent le besoin de support métabolique, lequel s'effectue par l'intermédiaire du transport axonal le long des *microtubules*. Ces derniers sont également utiles à l'anatomiste qui peut différencier les neurones des cellules gliales par exemple, par marquage des microtubules avec la toxine tétanique. Il existe aussi des microfilaments qu'en l'occurrence on appelle *neurofilaments*, plus impliqués comme éléments structuraux de la cellule, et qu'on peut aussi marquer de façon spécifique. L'axone présente à son départ un cône axonique, au niveau duquel le PA est souvent généré, et une arborisation terminale, chaque terminaison présentant un renflement appelé *bouton terminal*. Enfin, l'axone peut être



myélinisé ou pas, ce qui a des conséquences importantes sur la vitesse de conduction (voir plus loin). Au niveau périphérique la myélinisation est effectuée par les cellules de Schwann, qui entourent l'axone de plusieurs couches de membrane plasmique, dont la nature essentiellement lipidique constitue un bon isolant. Au niveau central, la myélinisation est

assurée par les oligodendrocytes. C'est à cause de la présence de myéline sur les axones qu'on emploie le terme de substance blanche pour les voies nerveuses, alors que les corps cellulaires constituent la substance grise.

### Types neuronaux



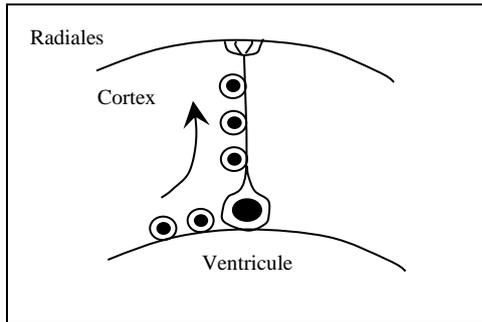
Impossible ici de rendre compte de tous les types neuronaux, mais les grandes classes sont :

1. Neurones multipolaires : il s'agit entre autres des interneurones et des motoneurones, qui se distinguent par le fait que les IN ont des axones plutôt courts, alors que les MN peuvent avoir des axones très longs (+ GABA-gly vs ACh).
2. Neurones bipolaires : ex. cellules de Cajal-Retzius
3. Neurones monopolaires : cellules des ganglions de la racine dorsale, qui présentent la particularité (elles n'ont pas de dendrites) que les axones ont un segment périphérique sensitif (activé par des récepteurs mécano ou thermosensibles), et un segment central qui relaie l'info (ex. douleur) à la moëlle épinière.
4. Cellules pyramidales : étage de sortie excitateur du néocortex et de l'hippocampe.
5. Cellules de Purkinje : étage de sortie inhibiteur du cervelet.

### Cellules gliales

Assurent un support métabolique, par régulation des concentrations ioniques et du pH extracellulaires (cf. activité neurones et  $[K^+]_e$ ), mais aussi recyclage et synthèse des précurseurs des neuromédiateurs. 5 grands types :

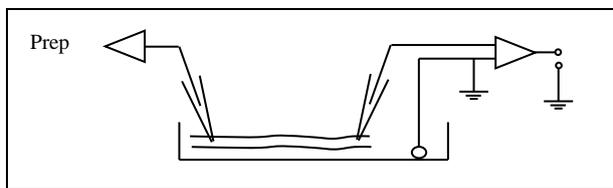
1. Astrocytes : impliqués dans l'activité métabolique mentionnée.



2. Oligodendrocytes : assurent la myélinisation dans le SNC.
3. Microglie : ressemblent à des macrophages, et semblent proliférer en cas de lésions nerveuses, ce qui suggère un rôle dans la restauration neuronale (sujet chaud).
4. Glias radiales : pendant la corticogénèse, aident à la migration radiale des neuroblastes. Se transforment ensuite en astrocytes.
5. Cellules épendymaires : mvts ciliaires...

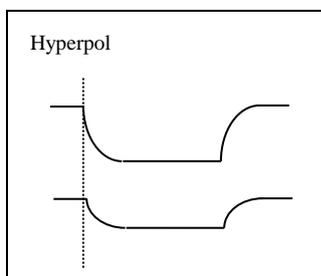
## II. Biophysique membranaire

### Génèse du potentiel d'action

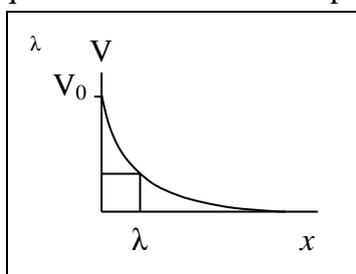


Les neurones sont mauvais conducteurs d'électricité (axone considéré comme câble). L'évolution a donc favorisé le développement d'un système qui permet la propagation de l'influx : le PA. Au début

des recherches (40-50's), l'instrumentation limitée obligeait à utiliser des modèles biologiques faciles d'accès : axone géant de calmar ( $\varnothing \sim 1$  mm), nerf sciatique de grenouille (TP), ganglion d'Aplysie... On a maintenant accès à des structures plus fines, et on utilise en général des électrodes de verre ( $\sim 1 \mu\text{m}$  à la pointe) qui sont remplies d'une solution saline connectée à l'instrumentation d'enregistrement. La prep est baignée dans un liquide physiologique mis à la terre via une électrode de référence qu'on définit comme le potentiel zéro, et c'est la ddp entre l'intérieur et l'extérieur de la fibre — ou cellule — qu'on enregistre.

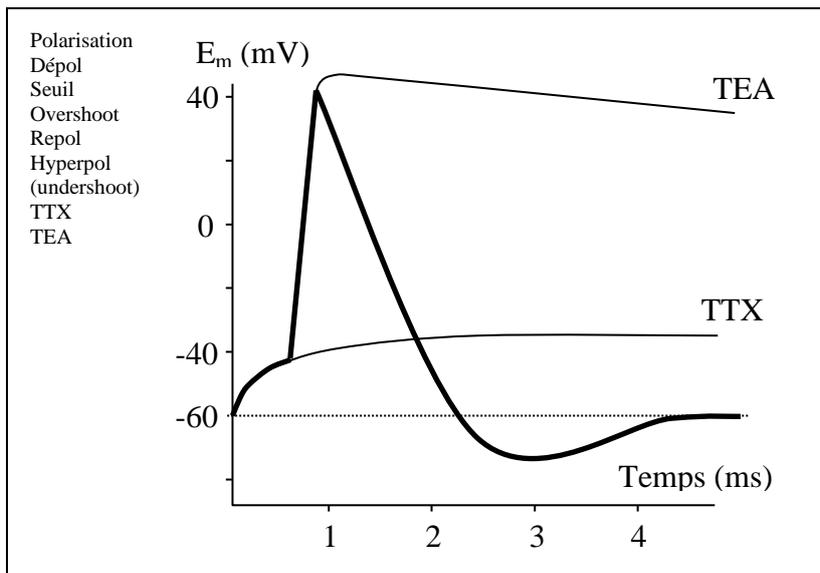


Dans un premier temps, on va s'intéresser aux propriétés passives des membranes. Pour cela, on va transitoirement hyperpolariser la membrane via l'électrode, laquelle sert à la fois à l'enregistrement et à la stimulation. La réponse (qu'on appelle un potentiel électrotonique) a une forme exponentielle à cause du fait que la membrane se comporte comme une résistance et une capacitance en parallèle. Si on place une 2<sup>ème</sup> électrode d'enregistrement à une distance  $x$  de la 1<sup>ère</sup>, on s'aperçoit 1) que la réponse  $y$  arrive à peu près en même temps qu'à la 1<sup>ère</sup>, mais que 2) son amplitude est largement diminuée. Et si on éloignait cette 2<sup>ème</sup> électrode de plus en plus, on s'apercevrait que la diminution de la réponse est exponentielle par rapport à  $x$ . On peut donc caractériser la réponse  $V$  à une distance  $\lambda$ , appelée constante d'espace, telle que  $V = V_0/e$  ( $V_0$  = réponse au point de stimulation) ; autrement dit, quand  $x = \lambda$ ,  $V = V_0 e^{-x/\lambda} = V_0 \times 0.37$ . A  $x = 3\lambda$ , comme  $e^{-3} = 0.05$ , la réponse n'est plus que 5% de la réponse initiale. Or, dans la plupart des fibres,  $\lambda$  tourne autour du mm, ce qui pose un sérieux problème puisque les axones doivent parfois conduire sur  $>1$  m. Il fallait donc « inventer » le PA.

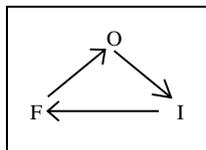


Le PA est une manifestation explosive qui résulte de l'ouverture de canaux sodiques et, pour ce qui est du muscle cardiaque et strié — et de certains neurones sécréteurs —, de canaux calciques. Pour simplifier, on ne considèrera ici que le cas des canaux sodiques. Le canal sodique est une protéine, ce qui implique la présence de charges électriques. Comme, de plus, cette protéine est ancrée dans la membrane, elle

capte les variations de ddp. On verra par la suite le cas physiologique de la génèse du PA, mais pour l'instant on ne considère que le cas de l'expérimentateur qui, in vitro, stimule électriquement une fibre ou un neurone et, ce faisant, fournit donc une certaine énergie au système. L'idée d'atteindre le seuil de déclenchement du PA signifie que l'apport énergétique est suffisant pour altérer la structure tertiaire (conformation) de la protéine, altération qui se traduit par l'ouverture du canal. On est passé ici du domaine passif, pour lequel la membrane ne faisait que *subir* la stimulation, au domaine des propriétés actives, grâce auxquelles le PA est déclenché. L'ouverture du canal entraîne un influx de Na<sup>+</sup> (NB : l'influx, lui, est passif), et comme il s'agit d'un cation, la membrane va être dépolarisée davantage, ce qui va entraîner l'ouverture d'un plus grand nombre de canaux, et ainsi de suite. On parle de phénomène régénératif, ou de rétrocontrôle positif... On compare aussi ce phénomène à une explosion due à la mise en train d'une réaction exothermique.



A partir, donc, du seuil de déclenchement, on observe une dépolarisation très rapide de la membrane qui atteint le zéro (signification même de la **d **-polarisation ; **NB** :  viter de parler d'augmentation ou diminution du  $E_m$ ), mais qui ensuite continue... jusqu'au voisinage du  $E_{Na} \approx 58 \log_{10} 150/15 \approx 58 \text{ mV}$ . En fait, on n'atteint jamais ce potentiel car 2 autres "freins" s'interposent : l'un consiste en l'inactivation des canaux



sodiques, lesquels passent donc d'un état fermé à un état ouvert puis à un état inactivé, avant de revenir à un état fermé disponible à la réouverture. Un 3<sup> me</sup> mécanisme se met aussi en train avec l'ouverture de canaux K, qui sont également sensibles au potentiel mais sont plus lents que  $I_{Na}$ . Ces canaux K sont responsables de la r polarisation et, éventuellement, d'une

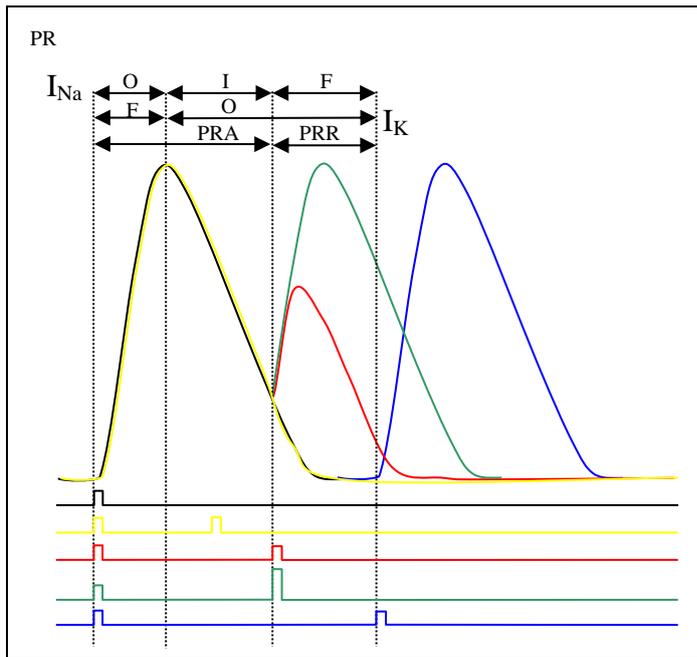
hyperpolarisation de la membrane.

Un autre dogme émane souvent de la confusion entre la nature "tout-ou-rien" du PA et l'idée que son amplitude ne serait pas modulable. En fait, l'amplitude du PA dépend de : 1) la densité de canaux Na, 2) la concentration de  $Na_e$ , 3) la présence de canaux K ( $I_A$ ) presque aussi rapides que les canaux Na, et 4) l'utilisation de bloqueurs (TTX)   concentrations submaximales. Ce qui compte en fait, c'est l'aspect "tout-ou-rien" du PA qui, quelque soit l'amplitude, détermine s'il y a conduction ou pas.

[A retenir, la pharmacologie de base du PA : TTX et TEA.]

Au cours d'un PA, la quantité d'ions impliquée n'est de nature à modifier les concentrations ioniques ni à l'intérieur de la cellule, ni autour de la membrane. Par contre, un neurone émet souvent des fréquences de décharge soutenues ; dans ces conditions, le travail de restauration ionique effectué par l'ATPase Na/K est important : il peut même consommer jusqu'aux 2/3 du pool disponible d'ATP de la cellule.

Chaque type de neurone se manifeste aussi par sa fréquence de décharge maximale. Par exemple, les interneurons GABAergiques sont les cellules les plus rapides du SN ( $\leq 600 \text{ Hz}$  ; cf.  pilepsie), alors que les cellules pyramidales sont plus lentes (50-100 Hz), ces critères répondant aux différents répertoires de canaux ioniques que possèdent ces cellules.

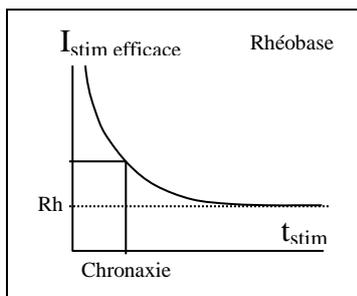


## Périodes réfractaires

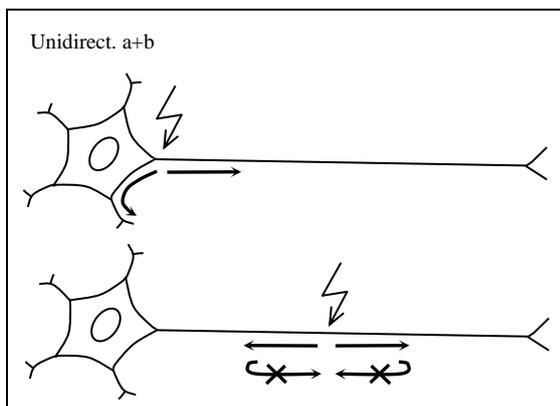
Représentent des périodes qui suivent un PA et qui correspondent à une certaine incapacité à émettre un 2<sup>ème</sup> PA, à cause de l'inactivation des canaux Na. Elles permettent aussi d'établir les fréquences maximales de décharge. Enfin, on verra plus loin que les PR expliquent la notion de propagation unidirectionnelle.

## Relations intensité-durée de stimulation

Le paramètre de base d'une stimulation est la charge ( $Q = i \cdot t$  ; en



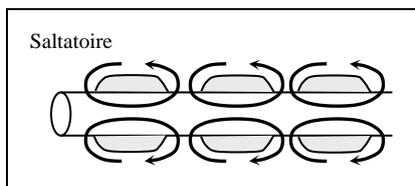
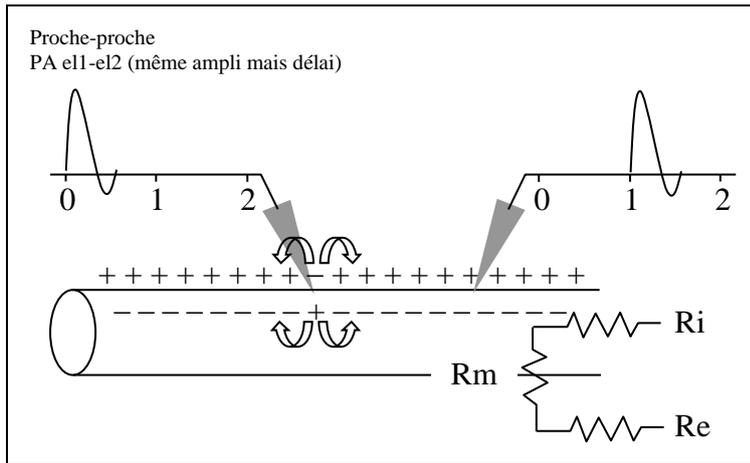
coulombs). Si on considère la charge minimale qui déclenche un PA (stimulation dite liminaire), on peut augmenter la durée  $t$  et diminuer l'intensité  $i$  de façon à obtenir des stimulations liminaires identiques. L'intensité au-dessous de laquelle on n'obtient plus de PA quelque soit la durée s'appelle la rhéobase. La durée qui, sur la courbe  $i-t$ , correspond au double de la rhéobase s'appelle la chronaxie.



## Propagation du PA

L'inactivation des canaux Na donne à la propagation son caractère unidirectionnel. Dans le contexte physiologique, ça pourrait vouloir dire qu'un PA généré au niveau du cône axonique se propage uniquement vers les terminaisons. En fait, il s'agit là encore d'un dogme obsolète puisqu'il a été démontré (Sakmann) qu'il existe une propagation rétrograde (dont le rôle serait de moduler l'étage d'entrée du neurone) vers les dendrites. De

même, dans le contexte expérimental, une stimulation « au milieu » de l'axone entraîne une propagation dans les 2 sens. Néanmoins, le concept d'unidirectionnalité reste valable si on considère seulement l'impossibilité de retour du PA vers le point de départ.



Considérons maintenant les obstacles à la propagation :

- 1) Dans l'axone amyélinique, le PA se propage de proche en proche, ce qui prend beaucoup de temps puisqu'il s'agit de changements successifs de conformation protéique (courant ionique au travers des canaux Na et K).
- 2) La conduction électrotonique (courant électrique) est beaucoup plus rapide, mais on a vu que la distance à laquelle ce courant se propage,  $f(\lambda)$ , est

insuffisante. La raison en est que  $\lambda = \sqrt{\frac{R_m}{R_i + R_e}}$  ( $R_e$  est négligeable). Si  $R_m$  est faible et/ou  $R_i$  élevée, le courant a tendance à « fuir » et à se dissiper. Solution : augmenter  $R_m$  ou diminuer  $R_i$  pour allonger  $\lambda$ .

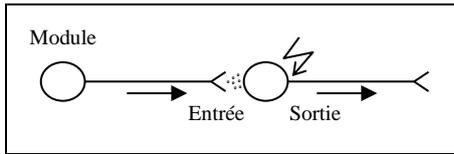
Or,  $R_i = \rho (L/S)$ . Pour diminuer  $R_i$ , il suffit donc d'augmenter le diamètre des axones, et pour augmenter  $R_m$ , de les garnir d'une gaine de myéline (lipides = isolants). La myéline est déposée en manchons de 1-2 mm séparés par les *noeuds de Ranvier* riches en canaux. Le PA se propage ainsi sur le mode *saltatoire* grâce à une conduction électrotonique rapide d'un noeud à l'autre, en faisant une économie nette d'ouvertures de canaux. On passe ainsi d'une vitesse de conduction de 1-10 m/s dans les fibres amyéliniques jusqu'à 150 m/s dans les motoneurones  $\alpha$  myélinisés de gros calibre.

NB : ce système est d'autant plus prépondérant dans les neurones qui 1) sont importants pour la survie (ex. fuite devant un prédateur) et 2) ont de longs prolongements qui impliquent un temps de conduction élevé.

### III. Physiologie synaptique

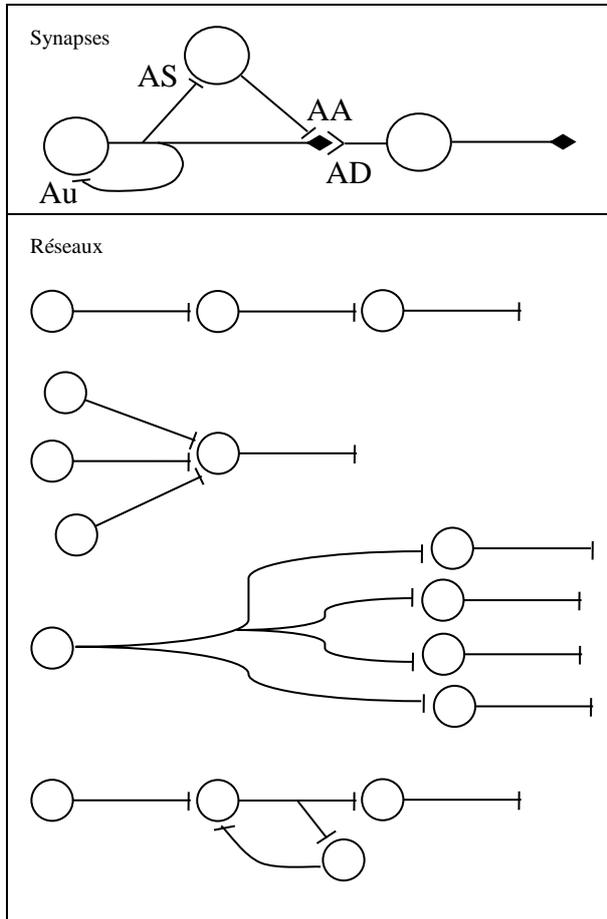
A propos de PA, nous avons jusqu'à présent parlé de canaux « voltage-dépendants » (*voltage-gated*), qui utilisent de l'énergie électrique pour s'activer. Nous allons maintenant parler de canaux « ligand-dépendants », qui eux utilisent de l'énergie chimique (liaison du ligand avec un complexe récepteur-canal). On peut cependant noter que cette énergie chimique est convertie en énergie électrique puisque l'ouverture des canaux ligand-dépendants entraîne une modification de potentiel de la membrane postsynaptique.

Jusqu'à présent, nous n'avons parlé du PA que sous l'angle de l'expérimentation, c-à-d comme étant généré artificiellement par stimulation électrique. Nous allons maintenant voir comment un PA peut être généré de façon physiologique par activation synaptique. Il faut cependant signaler qu'*in vivo*, tous les PAs ne sont pas forcément générés de cette manière ; il existe en effet des cellules dites *pace-makers* qui sont capables de décharger de façon automatique ; il s'agit par ex. des cellules cardiaques du noeud sinusal, mais aussi, dans le SNC, de certains neurones qu'on trouve par ex. dans le thalamus, et qui oscillent avec un rythme propre.



En simplifiant, on peut concevoir un module à 2 neurones où l'activation de canaux ligand-dépendants constitue l'étage d'entrée du système, en fonction de quoi l'activation de canaux voltage-dépendants constitue son étage de sortie.

### Types de synapse (niveau microscopique)

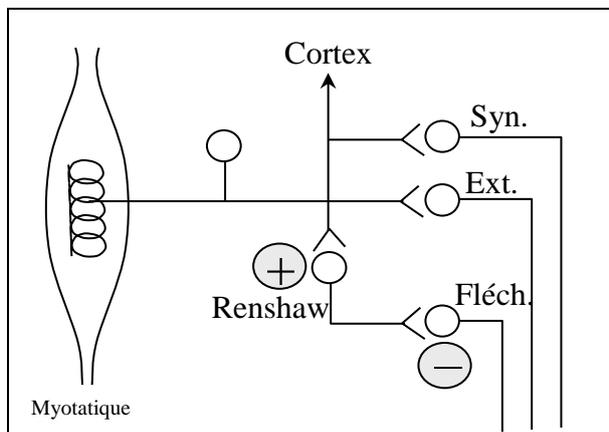


- Synapses axo-dendritiques : les plus communes ; s'effectuent le cas échéant entre boutons terminaux et épines.
- Synapses axo-somatiques. A-D et A-S peuvent être excitatrices ou inhibitrices.
- Synapses axo-axoniques : modulent (facilitent ou inhibent) la libération de neuromédiateurs (NMs) par l'axone.
- Autapses. Concept relativement nouveau ; rôle inconnu.

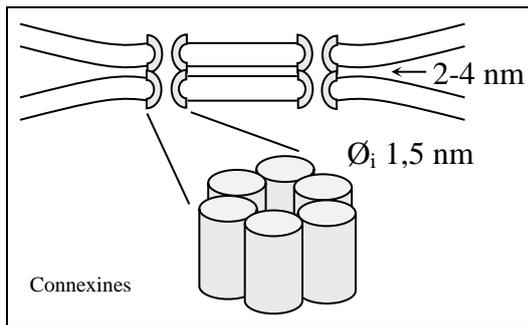
### Types de réseaux synaptiques (niveau macroscopique)

- Réseaux linéaires : cas des cônes rétiniens → discrimination spatiale
- Réseaux convergents : cas des bâtonnets → détection de faibles intensités lumineuses (amplification)
- Réseaux divergents : cas des structures mises en jeu dans le réflexe myotatique. Cf. aussi le traitement en parallèle de l'info sensorielle (coordination de la réponse).
- Réseaux en boucles. NB : quand l'interneurone est inhibiteur, plus la

fréquence de décharge de l'origine augmente, plus la transmission est inhibée (rétrocontrôle négatif) ; quand l'interneurone est excitateur, plus la fréquence de décharge augmente, plus la transmission est facilitée (feedforward positif).



## Synapses électriques (éphapses)

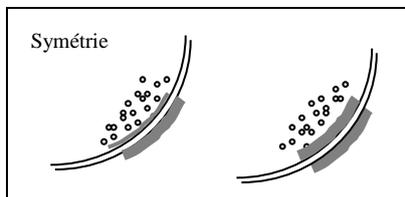


En très faible proportion chez les vertébrés supérieurs (0,1%), elles sont plus communes dans le SN embryonnaire ou chez les organismes inférieurs (ex. langouste). Assurent le couplage électrique entre cellules au moyen de pores rassemblés dans des zones d'apposition membranaire étroite (2-3 nm) appelées « gap junctions ». Les pores sont formés par la connexion de 2 complexes macromoléculaires

consistant eux-mêmes en un assemblage de 6 sous-unités de connexine (protéine de 25 kDa). Le diamètre du pore permet le passage non-discriminatif non seulement d'ions divers mais aussi de composés d'un poids moléculaire atteignant jusqu'à 500 Da, ce qui peut donc inclure, par ex., des nucléotides (ATP, AMPc, GTP, GMPc...). Ceci laisse penser qu'au delà du couplage électrique, les gaps assument aussi un rôle au niveau de l'échange métabolique cellulaire (présence dans le SN embryonnaire, mais aussi dans d'autres tissus non-excitables comme les cellules épithéliales, hépatiques, etc...).

Le couplage électrique éphaptique est instantané (pas de délai synaptique), un avantage manifeste au niveau par ex. du syncytium cardiaque pour assurer la synchronisation de la contraction. On pourrait par contre considérer comme un désavantage le fait que la transmission éphaptique est « monotone », en ce sens que le signal postsynaptique reflète exactement le signal présynaptique sans possibilité de modulation (excitatrice ou inhibitrice), contrairement au cas des synapses chimiques.

## Synapses chimiques

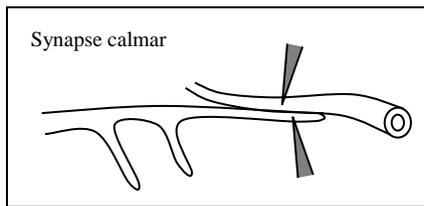


Ce sont celles qui nous intéressent ici puisque présentes à 99,9%. En microscopie électronique, la synapse est reconnaissable par des épaissements pré- et postsynaptiques, et, en général, par la présence de vésicules de sécrétion présynaptiques. Les épaissements peuvent

être de même taille, on parle alors de synapse symétrique, ce qui le plus souvent correspond à une synapse inhibitrice ; ou bien l'épaissement présynaptique est plus fin que le post, et on a alors une synapse asymétrique de type exciteur.

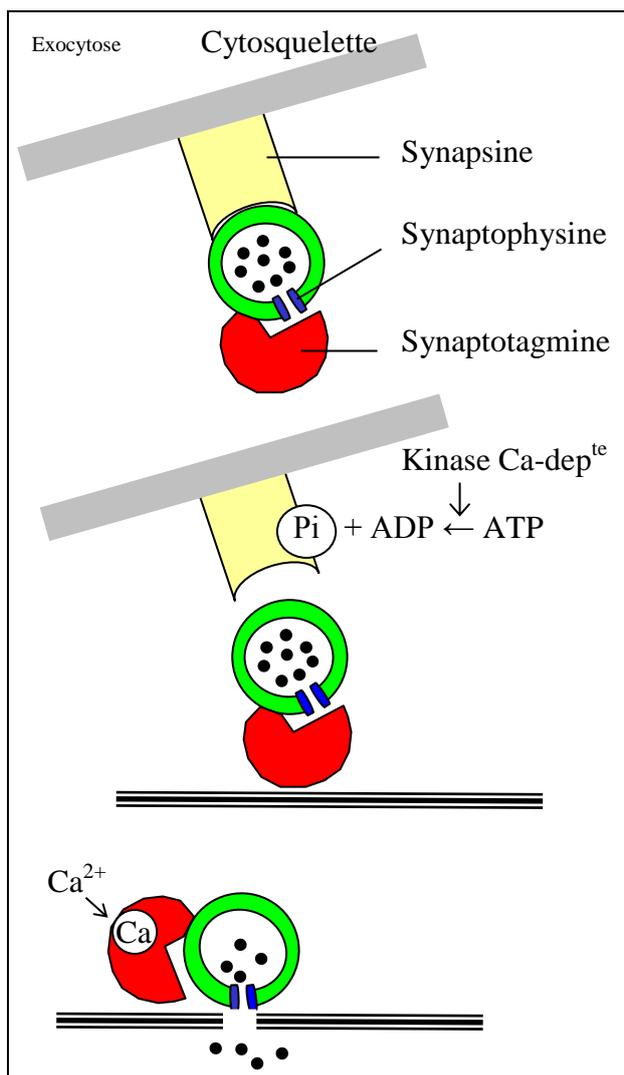
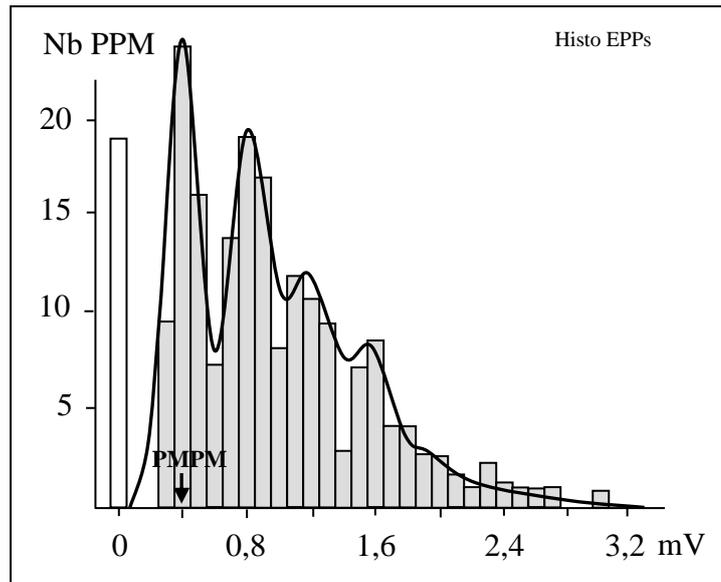
La largeur de la fente synaptique est de l'ordre de 20 à 40 nm. Le délai synaptique est de l'ordre de 0,5 ms et dépend essentiellement du mécanisme de libération du NM (et non pas du franchissement de l'espace synaptique).

## Mécanismes de libération synaptique



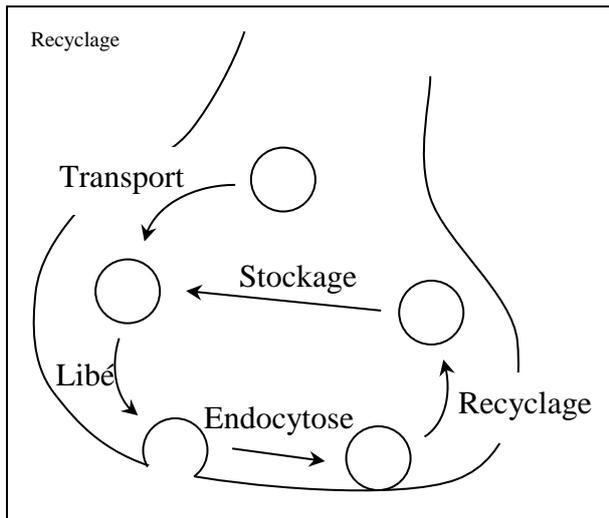
Le PA (déclenché par un facteur X) arrive au niveau de la terminaison axonique et la dépolarise, activant ainsi des canaux calciques voltage-dépendants (cf. T, L, **N, P, Q, R**). Le  $[Ca]_i$  passe ainsi de 50-100 nM à 1-5  $\mu$ M (distribution différentielle zone périmembranaire-cytoplasme), ce qui déclenche la libération de NM.

Fatt et Katz dans les années 50-60 et Miledi dans les 70's démontrent l'implication du Ca dans la libération des NM. Ils utilisent pour cela la synapse géante de calmar, sur laquelle ils placent des électrodes au niveau **pré-** (!) et postsynaptique. Expériences :



1. En présence de TTX une stimulation présynaptique produit quand même une réponse post.
2. L'omission du Ca ou son remplacement par Cd ou Co abolissent la réponse.
3. L'utilisation d'une sonde calcique (Fura, Indo...) permet de détecter une augmentation de  $[Ca]_i$  dans l'élément présynaptique stimulé.
4. Une injection de Ca (iontophorèse) dans l'élément présynaptique induit une réponse sans stimulation préalable.
5. Une co-injection avec un chélateur du Ca (EGTA, BAPTA...) abolit la réponse.

Ces auteurs travaillent ensuite sur la jonction neuromusculaire (JNM). Ils réduisent le  $[Ca]_e$  afin (1) d'éviter de casser l'électrode (contraction), et (2) d'obtenir autre chose qu'un monotone PA sans valeur informative. Ils obtiennent alors, soit sur stimulation, soit de façon spontanée, des EPP (PPM) qui varient en amplitude de manière aléatoire. Ils groupent ces amplitudes en intervalles de classe et construisent des histogrammes (nb de PPM vs. ampli). Ils observent alors (1) que les pics des histogrammes sont espacés de façon équidistante, et (2) qu'il existe une



amplitude minimum ( $\sim 0.4$  mV) correspondant à ce qu'ils appellent MEPP (PMPM). Simultanément, la technique de microscopie électronique bat son plein et met en évidence la présence de vésicules présynaptiques. C'est la naissance de la théorie quantique de la libération synaptique, un PMPM correspondant à la libération d'une vésicule, et les PPM à celle de  $n$  vésicules. De plus, la théorie et le modèle sont confirmés par les prédictions statistiques de Poisson (courbe). Il faut quand même préciser que ce modèle n'est pas universel en ce que 1) il existe des synapses sans vésicules, et que 2) certaines

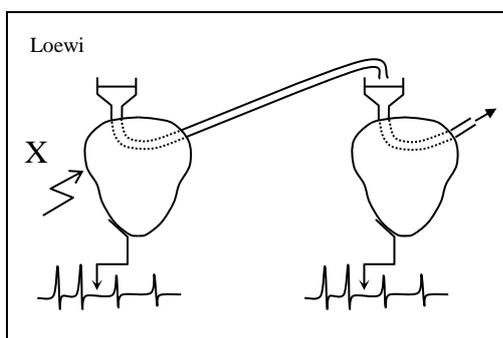
formes de libération n'obéissent pas aux prédictions statistiques (sujet constamment débattu actuellement). La théorie quantique est cependant universelle en ce qui concerne la JNM. On connaît même la concentration (100 mM) et le nombre de molécules (10000) d'ACh dans une vésicule.

Après toutes ces découvertes, il reste maintenant à comprendre le lien (encore mal connu) entre le Ca et la libération vésiculaire. De nombreuses protéines impliquées dans ce processus ont été découvertes ; nous n'en considérerons que 3, très importantes : synapsine, synaptophysine et synaptotagmine (cf. schéma).

L'arrêt de l'exocytose est marqué par la repolarisation membranaire (après PA), la fermeture des canaux Ca et la baisse conséquente de la  $[Ca]_i$ . Celle-ci est due au pompage du  $Ca_i$  hors de la cellule et vers les organites intracellulaires (ex. réticulum) par des Ca-ATPases. Ce travail est facilité par des protéines cytoplasmiques qui lient le Ca (ex. calmoduline) et le délivrent aux sites de pompage.

Après largage de leur contenu, les vésicules sont récupérées par endocytose et recyclées sur place (re-remplies) ou transportées par transport rétrograde vers le soma, également pour recyclage.

#### IV. Neuromédiateurs



On connaissait en 1960 7 ou 8 NMs,  $\sim 30$  en 83,  $>100$  maintenant ! La 1<sup>ère</sup> preuve de l'existence de NMs remonte à 1921 avec Otto Loewi qui enregistre le coeur de grenouille isolé et stimule le vague pour observer des effets inotropes et chronotropes négatifs. Or, sur un 2<sup>ème</sup> coeur perfusé avec le perfusat du 1<sup>er</sup> coeur, il observe les mêmes effets que la stimulation du vague, ce qui prouve que ces effets sont dus à une substance chimique, alors appelée *vagusstoff*, plus tard identifiée comme l'ACh.

#### Critères d'identification d'un NM

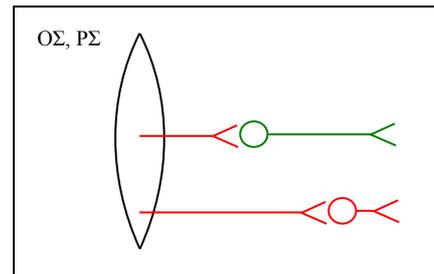
1. Il faut d'abord démontrer la présence du NM présumé dans le neurone présynaptique. Mais la présence ne suffit pas... (cf. le glu présent comme élément du métabolisme cellulaire) →

- Montrer aussi qu'il existe une libération Ca-dépendante sur stimulation présynaptique et, éventuellement, un système de clairance (recapture ou dégradation, c-à-d fin du signal).
- Il faut enfin démontrer la présence de récepteurs spécifiques sur la membrane postsynaptique (les agonistes miment la stimulation présynaptique ; les antagonistes la bloquent).

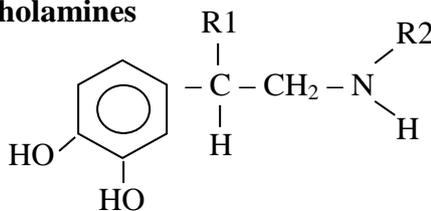
## Classes de NMs

### I. Amines

- **ACh**  $(\text{CH}_3)_3\text{-N}^+ \text{-(CH}_2)_2\text{-O-C(=O)-CH}_3$ 
  - Jonction neuromusculaire (organismes sup<sup>rs</sup>)
  - SNA : tous les neurones préganglionnaires + les neurones postganglionnaires du système parasympathique.
  - Noyau de Meynert → Cortex (cf. Alzheimer) ; voie septo-hippocampique (ibid).



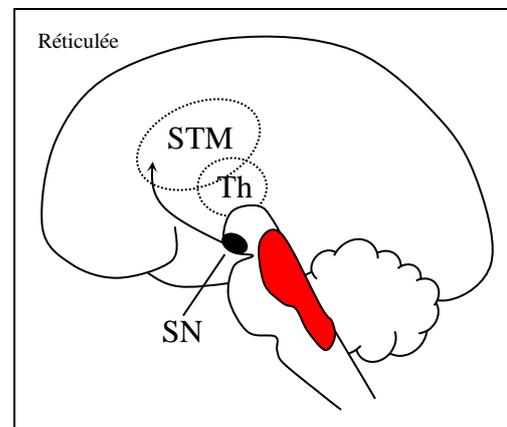
- **Catécholamines**



	DA	NA	A
R1	H	OH	OH
R2	H	H	CH <sub>3</sub>

- a) **NA (+A)**

- SNA → neurones postganglionnaires du système sympathique.
- Formation réticulée (locus coeruleus → 90% de la NA) : système ascendant (cf. dépression) + descendant (cf. sommeil paradoxal) ; rôle modulateur ; alternance **veille-sommeil** ; vigilance.

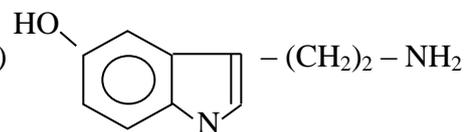


- b) **DA**

- Voie nigro-striée (Parkinson – Carlsson)
- Voies mésolimbique + mésocorticale (schizophrénie)

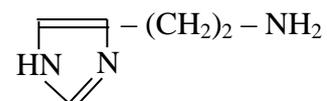
- **Sérotonine (5HT ; indoleamine)**

- Raphé : voies ascendantes (sommeil ; dépression) ; voies descendantes (analgésie)
- NB : catéch. + 5HT = monoamines

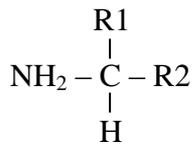


- **Histamine (imidazoleamine)**

- Système vasculaire (dilatation) ; muscle lisse (contraction) ; sécrétion gastrique.
- Hypothalamus → projection diffuse dans tout le cerveau (rôle sommeil).



## II. Acides aminés (3 essentiellement)



	Glu	GABA	Gly
R1	COOH	H	H
R2	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> - COOH	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> - COOH	COOH

- **Glutamate** (+Asp)  
NM excitateur dans TOUT le SN
- **GABA**  
NM inhibiteur dans TOUT le SN (cf. seulement 1 COOH de différence avec Glu !)
- **Gly** (+Tau)  
NM inhibiteur dans les structures inférieures du SN (tronc + moelle → 50/50 avec GABA)

## III. Purines (ATP, ADP, AMP, adénosine)

- Système périphérique, ganglions de la racine dorsale, hippocampe (ATP).

## IV. Neuropeptides

- Opioides : endorphines (15-30 AAs) ; enképhalines (5 AAs) ; dynorphines (17)
- Substance P (11 AAs ; douleur)
- Hormones hypothalamohypophysaires : OCT, ADH, LHRH, TRH...
- Hormones du tractus digestif : CCK, VIP...

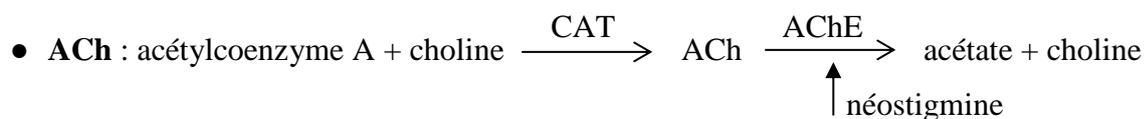
NB : double rôle des HHH et HTD.

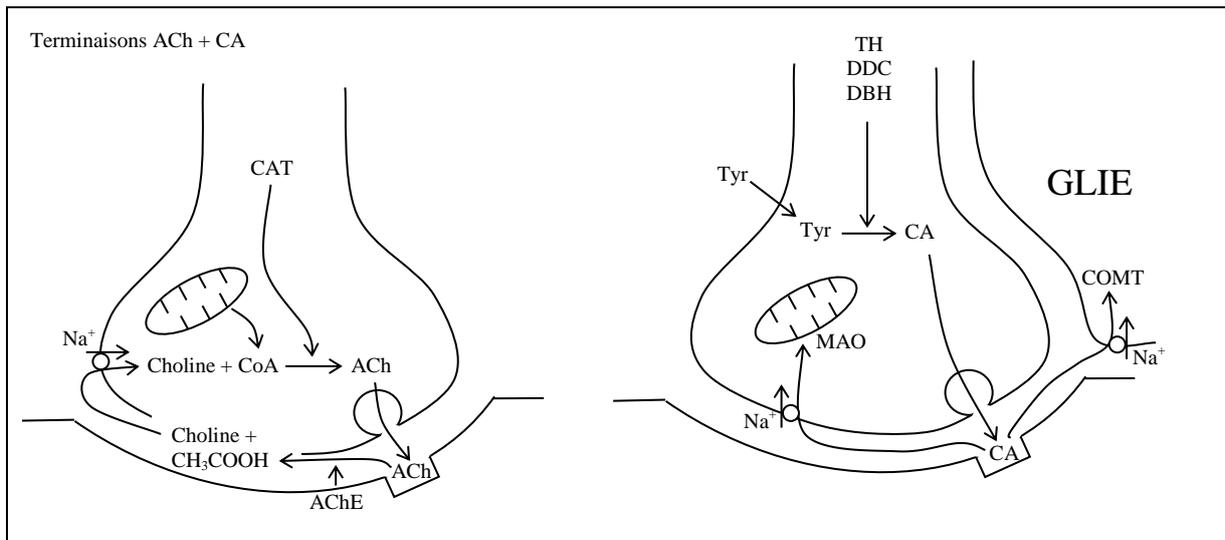
## **Synthèse, transport et catabolisme**

Règle générale :

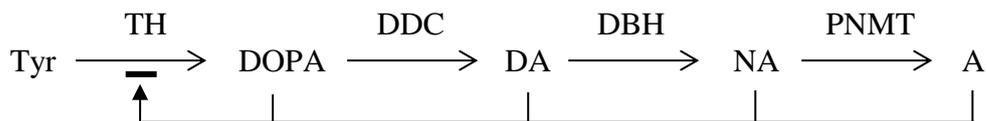
1. Les NMs de faible taille (amines + AAs) font l'objet d'une synthèse locale (c-à-d dans la terminaison) par des enzymes transportées depuis le soma par transport *lent* (0,5-5 mm/jour).
2. Les peptides sont synthétisés comme précurseurs (propeptides) dans le soma, et stockés dans des vésicules (en général avec les enzymes de clivage) à la sortie du Golgi. Les vésicules sont transportées par transport *rapide* (400 mm/jour) le long des microtubules (tubuline) par des protéines motrices (qui consomment de l'ATP) comme la kinésine.

NB : à côté de ce transport antérograde, il existe aussi un transport rétrograde qui sert à transmettre de l'info de la périphérie vers le soma au cours de processus tels que croissance, guidage axonal, régénération, et à transporter les vésicules de sécrétion pour recyclage. Ici, la protéine motrice est la dynéine. NBB : ce transport est aussi très utile à l'anatomiste qui peut retrouver l'origine de voies nerveuses par marquage avec par ex. la peroxydase du raifort ou la toxine tétanique.



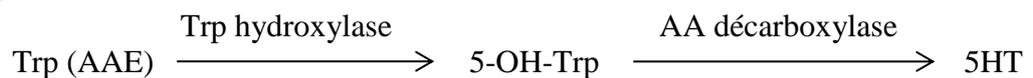


- **Catécholamines** : précurseur commun : tyrosine



On pensait avant que la DA n'était qu'un précurseur de la NA. Carlsson (Nobel PM 2000) montre 1) que c'est un NM à part entière (lapins + réserpine + DOPA → pas de NA) ; 2) que la voie nigro-striée, impliquée dans le contrôle des mouvements, est dopaminergique et déficiente chez Parkinson ; 3) qu'on peut obtenir des résultats thérapeutiques sur Parkinson avec L-DOPA.

- **Sérotonine** :



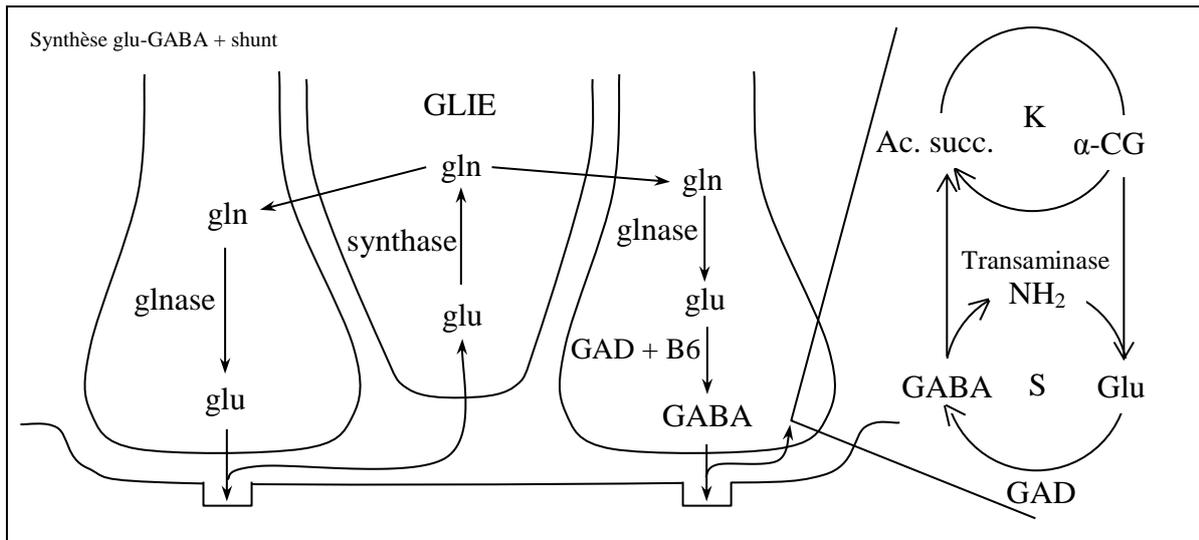
- **Histamine** :



- **Glu + GABA** :

- Synthèse et dégradation à considérer conjointement
- 2 sources pour le glu : à partir de la gln et de l' $\alpha$ -cétoglutarate (produit par le cycle de Krebs).

- **Gly (AANE)**: glucose → Ser → Gly

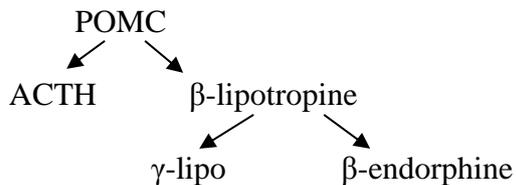


- **Purines :**

- Glycolyse, phosphorylation oxydative (après Krebs)...
- NB : ATP souvent présent dans vésicules de sécrétion (remplissage contre gradient ?)
- NBB : ecto-ATPases

- **Neuropeptides :**

- Exemple classique du système précurseur-clivages successifs :



- Souvent colibérés avec « petits » NMs. Ex : GABA/SRIF ; ACh/VIP ; NA/NPY ; DA/CCK ; 5HT/SP... (cf. principe de Dale)
- Fin du signal = protéolyse

## V. Récepteurs

Concept introduit en 1906 par Langley, qui observait des effets très puissants de divers produits sur la sécrétion salivaire, et travaillait aussi sur l'action de la nicotine sur la contraction musculaire.

Au niveau de la cellule nerveuse, la fonction d'un récepteur est de modifier, directement ou indirectement, l'activité de canaux ioniques, afin de modifier la polarisation de cette cellule. On a donc conversion d'une énergie chimique en énergie électrique. On distingue 2 grandes classes de récepteurs :

- Les récepteurs ionotropes (*ionotropic*), pour lesquels le site récepteur et le canal ionique font partie du même complexe macromoléculaire (NB : définition identique à celle de canal ligand-dépendant).
- Les récepteurs métabotropes (*metabotropic*), qui sont séparés du canal-cible et sont couplés à des protéines G.

NB : un même NM peut activer des récepteurs iono et métabotropes, y compris dans une même cellule.

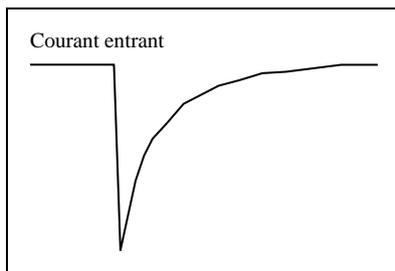
## I. Récepteurs ionotropes

Le prototype est le récepteur nicotinique de la JNM, activé par l'ACh. C'est le plus étudié (cf. Changeux), le plus connu et dans le plus grand détail (visualisé en microscopie électronique !). NB : se souvenir que l'ACh active également des récepteurs métabotropes de type muscarinique (ex. coeur).

Principe général des récepteurs ionotropes : la liaison du NM produit un changement de conformation du complexe récepteur-canal qui se traduit par l'ouverture du pore et le passage plus ou moins sélectif d'ions. Selon le potentiel d'équilibre,  $E$ , de ces ions, le courant engendré sera hyper- ou dépolarisant (ou rien si  $E_i = E_m$ ). Par ex., le canal nicotinique est cationique non-sélectif, c-à-d qu'il laisse passer le Na et le K, donc son  $E$  devrait se situer autour de la moyenne  $E_{Na} / E_K$  ( $E_{Na} \sim +50$  ;  $E_K \sim -85$ ) ; en réalité,  $E_{mic} \sim 0$  mV parce-qu'à partir du potentiel de repos ( $\sim -60/-70$ ), il y a davantage de gradient en faveur d'un influx sodique. L'activation du récepteur entraîne donc une dépolarisation qui atteint largement le seuil de déclenchement du PA.

Les récepteurs ionotropes présentent certaines caractéristiques :

- *Les cinétiques d'activation et de désactivation sont rapides.* Jusqu'à présent, nous n'avons parlé que de variations du potentiel de membrane. En fait, l'électrophysiologie moderne s'intéresse davantage à l'enregistrement de courants ioniques plutôt



qu'à celui de potentiels. Le comportement du neurone est régi en grande partie par la loi d'Ohm :  $U = RI$ . Or, dans la réalité, quand des canaux ioniques s'ouvrent, on a simultanément la mise en jeu d'un courant  $I$ , une chute de résistance  $R$ , et une variation de potentiel  $U$  due au passage du courant, donc 3 facteurs qui non seulement changent simultanément, mais aussi s'influencent mutuellement. Par ex., la variation de

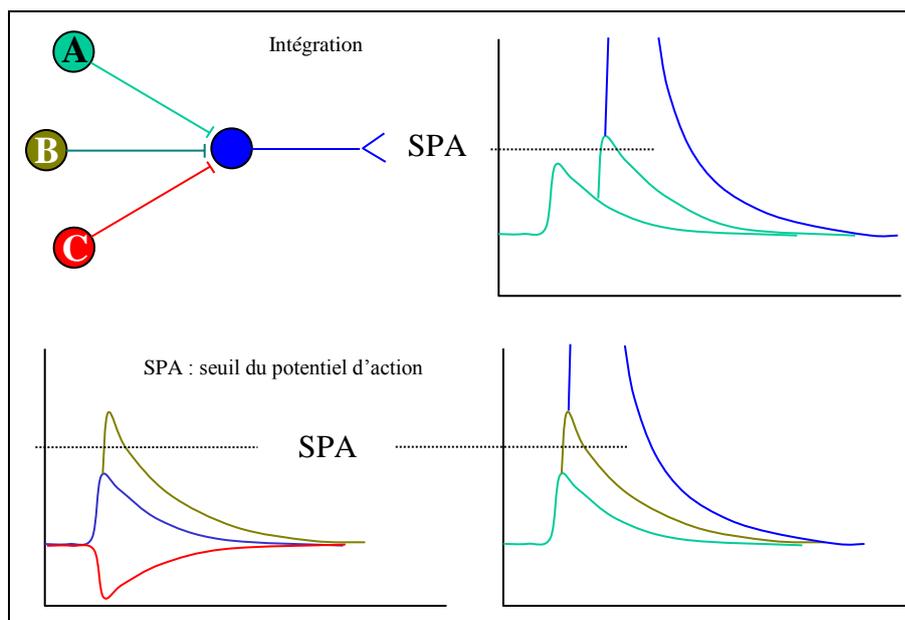
potentiel à son tour va modifier le courant ionique, et ainsi de suite, si bien que l'expérimentateur n'est pas en mesure d'observer ces paramètres de façon isolée. Pour remédier à cela, on a recours à la technique de voltage imposé (V-clamp), qui fait usage d'astuces électroniques pour fixer un paramètre, en l'occurrence  $U$ , et enregistrer le courant à potentiel constant. On peut ainsi observer les cinétiques réelles d'un courant ionique donné, cinétiques qui indiquent des activations souvent inférieures à la milliseconde et des désactivations qui varient de 5 à  $\sim 100$  ms.

- Contrairement à ce qu'on croit généralement (encore un dogme !), *l'affinité des récepteurs ionotropes pour leur NM est assez faible.* On peut comprendre cela si on réalise que ce type de transmission ionotrope est basé sur la rapidité. Les PAs émis au niveau d'une terminaison présynaptique peuvent s'enchaîner à fréquence élevée ; il faut donc que le récepteur postsynaptique soit libéré rapidement de son NM pour être réoccupé et réactivé au moment du PA suivant, d'où la basse affinité. Par contre, on a vu que l'activation était très rapide  $\rightarrow$  comment concilier ça avec une faible affinité ? Simplement en ayant une forte concentration de NM libéré puisque la cinétique d'activation du récepteur dépend de la concentration en ligand. De fait, les NM qui activent des récepteurs ionotropes sont en concentration millimolaire dans l'espace synaptique.
- Sur le plan structure moléculaire, *on a le plus souvent affaire à des hétéropentamères.* Rappel structure primaire  $\rightarrow$  quaternaire : monomères (1 gène ; ex.  $I_{Na} - I_{Ca}$ ) ; polymères (homomères [1 gène ; ex.  $I_K - I_{nic\alpha 7}$ ] ou hétéromères [plusieurs gènes]). En plus de cette similarité de structure quaternaire, il existe des séquences homologues au

niveau de la structure primaire de sous-unités composant les récepteurs ACh, GABA, gly et glu → origine phylogénétique commune à une « superfamille » ?

- **ACh** : 2 types : central ( $3\alpha$ ,  $2\beta$  ou  $5\alpha$ ) et périphérique (JNM ;  $2\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ).
- **Glu** : 2 types (+ métabotropes)
  - AMPA : très rapide ; à la base de la transmission excitatrice rapide dans tout le SN. Cationique non-sélectif.
  - NMDA : très perméable au Ca. Impliqué à la fois dans apprentissage et dégénérescence neuronale (cf. courbe en cloche survie / Ca). Bloqué par le Mg au potentiel de repos → nécessité d'activer AMPA. Coactivé par gly. Cinétique plus lente.
- **GABA** : A → ionotrope ; B → métabotrope
  - A : perméable au Cl →  $-50 \leq E_{Cl} \leq -70$
  - Dépolarisant ou hyperpolarisant si  $E_m = -60$ , mais le plus souvent inhibiteur car  $E_{Cl} < \text{seuil PA}$ .
- **Gly** : ionotrope seulement (fonctionne comme  $GABA_A$  dans la moëlle épinière)
- **5HT** : presque exclusivement métabotropes, sauf  $5HT_3$ , cationique non-sélectif semblable à AChR ou AMPA.
- **Purinergiques** : l'ATP active le récepteur  $P_{2X}$ , semblable à AChR ou AMPA, sauf que la structure moléculaire est différente (2 segments transmembranaires ; structure quat. inconnue) → origine phylogénétique différente ?

## II. Intégration synaptique



A1+2) Sommation temporelle de 2 PPSEs  
 A+B) Sommation spatiale de 2 PPSEs  
 A+B+C) Intégration (somme algébrique de 2 PPSEs + 1 PPSI)  
 NB : on n'a considéré ici que 3 synapses ; si on considère la cellule de Purkinje, qui peut en avoir jusqu'à 200000... !

### III. Récepteurs métabotropes

Il y en a ~100 identifiés. Ce sont des monomères à 7 segments transmembranaires dont 2 intracellulaires lient la protéine G.

Les protéines G (découvertes par Gilman et Rodbell, Nobel PM 94) sont des GTPases hétérotrimères  $\alpha\beta\gamma$ . La sous-unité  $\alpha$  peut lier le GTP (forme active) ou le GDP (forme inactive). En activant un récepteur métabotrope, un NM donné augmente l'affinité de la sous-unité  $\alpha$  pour le GTP. Celui-ci est alors hydrolysé et  $\alpha$  se dissocie du complexe  $\beta\gamma$ . Ce sont les 2 entités  $\alpha$  et  $\beta\gamma$  qui poursuivent la cascade activatrice. On considère 2 types de couplage :

#### 1) Couplage direct protéine G-canal ionique

Exemples :

- GABA<sub>B</sub> : activation d'un canal K  $\rightarrow$  GABA<sub>B</sub> toujours hyperpolarisant contrairement à GABA<sub>A</sub>.
- Muscarinique M<sub>2</sub> : Activation I<sub>K</sub> cardiaque  $\rightarrow$  effets chronotrope et inotrope négatifs.
- Noradrénergique  $\beta$  : Activation I<sub>Ca</sub> cardiaque  $\rightarrow$  effets chronotrope et inotrope positifs.
- 5HT<sub>1A</sub> : inactivation I<sub>Ca</sub>...

Cinétiques ~0,1-1 s.

#### 2) Couplage indirect protéine G-canal ionique

Passes par des cascades enzymatiques impliquant second-messagers et kinases (selon type de protéine G) et aboutissant à une phosphorylation ou déphosphorylation du canal-cible. Il y a 2 cascades à connaître (+1) :

- Gs  $\rightarrow$  AC  $\rightarrow$   $\uparrow$ AMPc  $\rightarrow$  PKA  $\rightarrow$  phosphorylation.

Paul Greengard (Nobel PM 2000) a mis en évidence ce système de transduction, impliquant phosphorylation et déphosphorylation, au niveau de plusieurs récepteurs métabotropes, plus particulièrement le récepteur D1 de la DA. Dans ce cas, la PKA phosphoryle un « commutateur central » appelé DARPP-32 qui est un inhibiteur de la phosphatase PP-1, laquelle déphosphoryle un grand nombre de canaux-cibles (I<sub>Na</sub>, I<sub>Ca</sub>, GABA<sub>A</sub>, AMPA, NMDA...). Ces cibles, qui normalement sont déphosphorylées par PP-1, deviennent phosphorylées après activation du récepteur D1. NB : la DA active aussi des récepteurs D2 qui ont l'effet inverse en activant la protéine Gi (inhibition de l'AC).

Autres exemples : M<sub>4</sub> (ACh) ; 5HT<sub>1A/2/4</sub> ;  $\alpha$ 2 (NA).

- Gq  $\rightarrow$  PLC  $\rightarrow$   $\uparrow$ IP3 + DAG  $\rightarrow$  Ca + DAG  $\rightarrow$  PKC  $\rightarrow$  phosphorylation.

Exemples : M<sub>1/3/5</sub> (ACh) ; GluR ; 5HT<sub>1C/2</sub> ;  $\alpha$ 1 (NA).

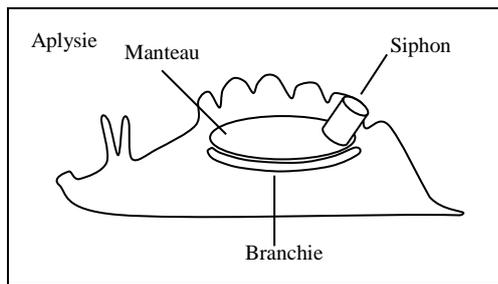
- G $\omega$   $\rightarrow$  PLA<sub>2</sub> (+PLD)  $\rightarrow$   $\uparrow$ ac. arachidonique + métabolites  $\rightarrow$  PK? + phosphatases.

Exemple : histamine.

**Conclusion** : l'effet final de ces cascades consiste en phospho-déphosphorylation de canaux ioniques ; il s'agit d'un effet à long terme (heures-jours).

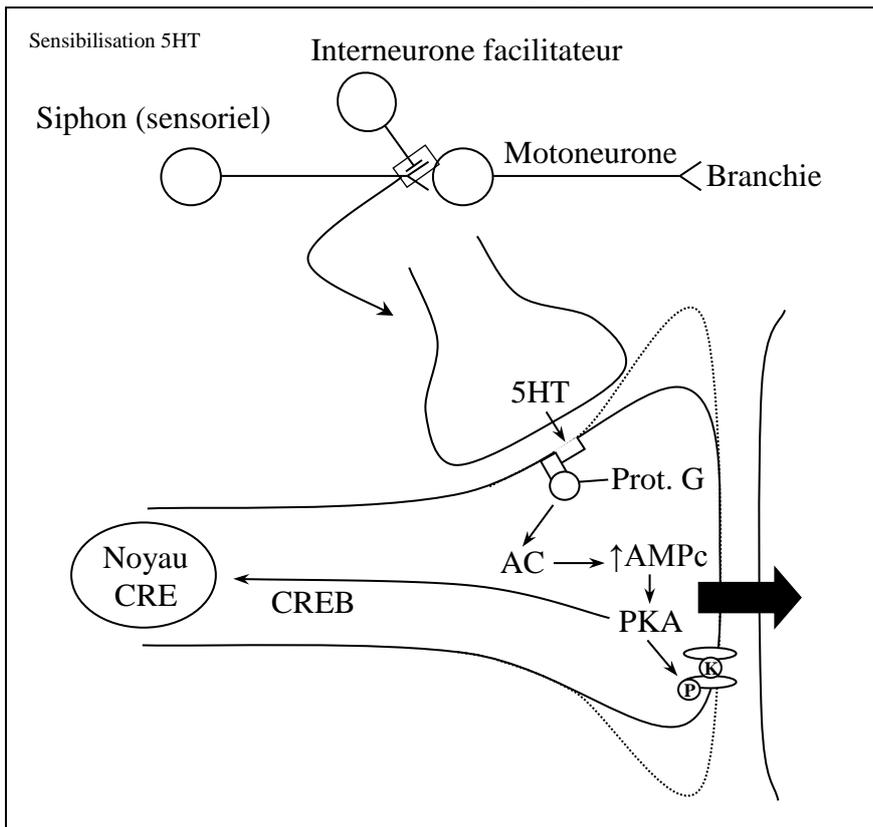
- 1- C'est une action *modulatrice* (facilitation ou inhibition, ainsi que modulation de la désensibilisation de ces canaux).
- 2- Il y a *amplification* car l'activation d'une enzyme peut entraîner la production de nombreuses molécules de messagers-secondes, etc...

#### IV. Plasticité synaptique (exemple de mise en jeu de récepteurs métabotropes)



Sensibilisation chez l'Aplysie (NB : ébauche de mémoire avec seulement 20000 neurones).  
Découverte d'une base moléculaire de la mémoire par Eric Kandel, 3<sup>ème</sup> Nobel PM 2000.

Si on stimule répétitivement le siphon de l'Aplysie, le réflexe initial de retrait de la branchie disparaît progressivement (habituation). Si on couple cette



stimulation avec un seul stimulus nocif (choc électrique à la queue), on induit un réflexe conditionné, le retrait de la branchie, qui se reproduit à *court terme* (~ 1 heure ; changements *fonctionnels*) en présence seule du stimulus inoffensif (stimulation du siphon). Si on répète le stimulus nocif, on conserve le réflexe pendant des jours ou des semaines (*sensibilisation à long terme* → changements *morphologiques* [...]).

↓ I<sub>K</sub> → ↑ PA → ↑ I<sub>Ca</sub> → ↑ libé NM → ↑ activation motoneurone → ↑ retrait branchie

#### VI. Références

- Neurobiologie cellulaire (Hammond – Tritsch)
- Neurobiologie (D. Richard) ; « résumé »
- Neurosciences (Bear – Connors) ; jolis dessins mais superficiel.
- Neurosciences (Purves) ; en anglais à la BU (1 exemplaire), en français en librairie.
- Principles of Neural Sciences (Kandel – Schwartz) ; 1 exemplaire.
- Neurosciences (Guyton) ; anat + physio, fac de médecine (Pasteur).
- <http://www.nobel.se/medicine/laureates/2000/index.html>