



RONÉOS DFGSP2 2020 - 2021

UE PL2.8 : BPC 15

Date : 2/11/20

Plage horaire : 10h30-11h30

Enseignant : QUIGNARD Jean-François

N°ISBN : 978-2-37366-080-7

Ronéistes

Al-hosri Edouard - edoal11@yahoo.fr

Couzon Oscar - o.couzon@yahoo.com

Signalisation calcique

Plan du cours :

I - Introduction

II - Stocks calciques et canaux signaux ON

III - Les canaux membranaires : une grande variété, plus de 30

A - Les canaux calciques dépendant du potentiel

1 - Structure très similaire des canaux sodiques

2 - Localisation : exemple des canaux T

3 - Propriétés électrophysiologiques

4 - Différence entre canaux L et T

B - Les canaux TRP (= transient receptor potential)

1 - Structure 3D des canaux

2 - Rôles

IV- Voies d'amplification/voie des récepteurs canaux à la ryanodine RyR

A- RyR

B- Interaction des récepteurs à la ryanodine avec les canaux calciques membranaires

C - Sensibilité au calcium et autorégulation

D - Activation par un médiateur

V - Voies de signalisation InsP3

A - Les voies IP3

B - Les pré assemblages permettent l'activation de cibles spécifiques

C - Synergie calcium/DAG pour l'activation de PKC

EFFET DU CALCIUM

D - Synergie calcium/DAG pour l'activation des canaux membranaires

VI - Les canaux contrôlés par les stocks intracellulaires

I. Introduction

On va surtout aborder la circulation du **calcium en intracellulaire**, le calcium extracellulaire étant traité dans le cours de physiologie osseuse.

Le **calcium IC** est au **centre de la signalisation cellulaire** : il est important. Une **augmentation** de la concentration calcique IC est impliquée dans de **très nombreux processus** : exocytose et neurosecrétion, contraction (par exemple les cellules cardiaques), le métabolisme, la transcription, la fertilisation (l'augmentation de la concentration calcique IC est le premier signe physiologique que l'on peut voir quand un spermatozoïde rencontre un ovocyte) et la prolifération.

Le calcium peut agir suivant 2 grands mode d'actions :

- Le calcium est un **ion positif** donc il **modifie le potentiel transmembranaire** quand il rentre dans la cellule, ce qui joue sur les potentiels d'actions.
- Il se **lie à des protéines** donc il induit des modifications de la **conformation** des protéines et une action biologique.

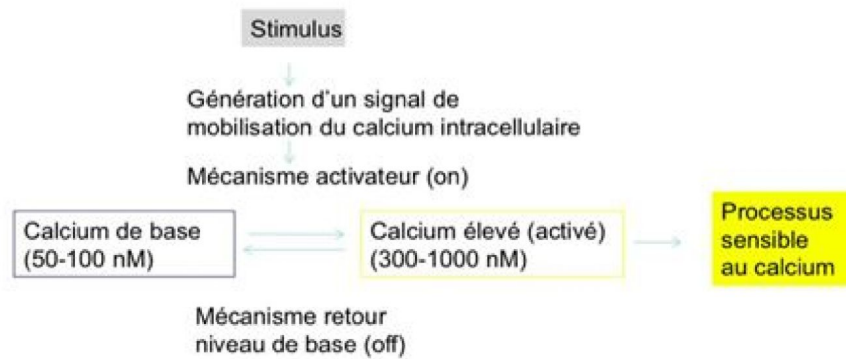
Historiquement, c'est Sydney Ringer (physiologiste de Londres) qui a pu décrire en premier le rôle majeur du calcium dans la **contraction**.

Il étudiait la physiologie cardiaque depuis plusieurs années et savait déjà qu'on pouvait isoler un cœur et travailler dessus (par exemple : le remplir pour étudier les lois de Frank Starling). Pour faire ça, le cœur doit être dans une solution saline (pour respecter l'osmolarité).

Il a commencé par utiliser de l'eau du robinet mais suite à des problèmes d'eau il a utilisé de l'eau distillée car l'eau qu'il recevait était très sale et il fallait la purifier. En essayant de refaire ses expériences, il s'est aperçu qu'il n'y avait plus de contraction cardiaque.

La grande différence entre l'eau qu'il utilisait et l'eau distillée étant l'absence d'ion dans l'eau distillée, il a cherché quel ion était responsable de la contraction et a découvert que c'était l'ion calcium : en ajoutant du calcium à de l'eau distillée il observait une contraction.

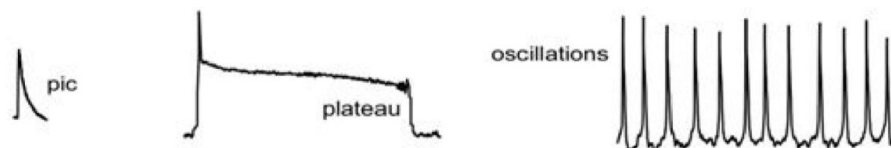
Le signal calcique suit toujours le même mode : il faut un niveau de calcium de base faible (50-100 nM), puis un mécanisme activateur (ON) qui **permet d'élever le calcium** jusqu'à 300 000 nM. Quand le calcium est élevé, il va induire les processus sensibles au calcium. On commence donc par un stimulus qui induit une mobilisation du calcium.



Cependant, tout signal n'a de la valeur que s'il peut **revenir à l'état de base** pour pouvoir renvoyer un signal ensuite. Il y a un mécanisme de retour (**OFF**) dont on parlera un peu moins mais qui est tout aussi fondamental car sans lui la signalisation calcique ne marche plus.

Comme dit précédemment, un seul ion (le calcium) peut avoir des effets biologiques très multiples, il a un **effet versatile** (plusieurs effets). Il y a plusieurs explications à cet effet versatile :

- **L'amplitude** de la variation de la concentration de calcium (faible ou forte variation)
- D'où vient le calcium et où diffuse-t-il ? La cellule est **compartimentée** et possède **plusieurs domaines**. Si on augmente le calcium dans un domaine, ça n'aura pas le même effet que dans un autre domaine : on peut avoir des variations tant dans le cytoplasme que dans d'autres organites comme le réticulum ou la mitochondrie.
- La **vitesse** de variation :
 - Augmentation selon un pic = transitoire
 - Augmentation soutenue = plateau
 - Augmentations régulières au cours du temps = oscillations

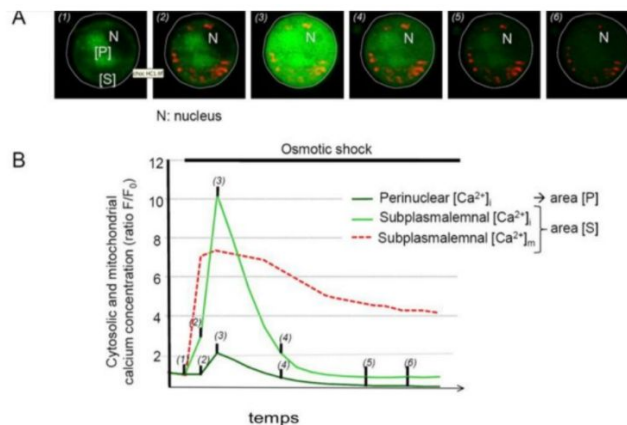


- La **physiologie** de la cellule et donc les protéines présentes (contractiles, sécrétion...)

Les effets versatiles sont donc très différents et très variables.

Un autre moyen de le voir : si on augmente le calcium dans le noyau, ça aura sans doute un effet sur l'expression génique alors que si on l'augmente dans le cytoplasme dans une cellule musculaire on aura plutôt un effet de contraction.

Illustration qu'il peut y avoir des augmentations de calcium dans différents compartiments :



On a une cellule avec 2 marqueurs :

- Vert : marque le calcium dans le **cytoplasme**, plus il y a de calcium dans le cytoplasme plus la sonde est verte et lumineuse
- Rouge : Cette sonde mesure le calcium dans les **mitochondries**

Au départ le calcium est plutôt vers le centre de la cellule et moins vers la périphérie. Après stimulation, on remarque que la première chose qui apparaît sont des points rouges, ce qui veut dire que le calcium dans la mitochondrie augmente. Ensuite, le calcium augmente dans tout le cytoplasme, les signaux rouges sont même recouverts par le vert.

Ensuite, au cours du temps on remarque que le vert et donc que le calcium cytoplasmique diminue mais on observe toujours les points rouges ce qui signifie que le calcium est toujours élevé dans les mitochondries. Si on attend beaucoup plus, on remarque que le calcium a fortement baissé dans le cytoplasme et commence également à bien baisser dans la mitochondrie.

On a la même représentation avec les courbes :

Le calcium qui augmente en premier est celui des mitochondries (traits rouges). Dans le cytoplasme on peut déterminer 2 zones :

- Zone vers le noyau en vert foncé (zone P)
- Zone sous-membranaire en vert clair

Le **calcium n'augmente pas à la même vitesse** entre ce qui est **autour du noyau** et ce qui est **sous la membrane**.

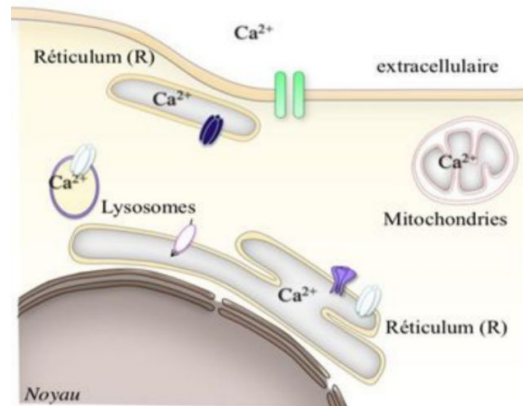
Il y a des variations de calcium qui sont **décalées dans le temps** qui vont donner un **signal différent** et une **activité biologique différente**.

Après avoir vu que les variations de calcium sont importantes, on va maintenant voir quels sont les mécanismes qui permettent de faire varier ce calcium.

II. Stocks calciques et canaux signaux ON

De base le **calcium IC** est **faible** par contre le milieu **EC** et certaines organites (réticulum, lysosomes, Golgi) ont une **forte concentration**.

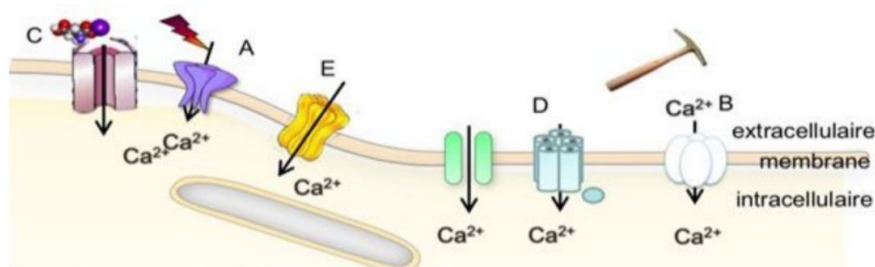
C'est à partir de ces stocks que le calcium est mobilisé via des **canaux** pour augmenter le calcium dans le cytoplasme ou la mitochondrie et induire les effets physiologiques.



Pour expliquer ça : il y a **beaucoup de calcium à l'extérieur et peu à l'intérieur** donc pour augmenter la concentration calcique **IC**, il suffit de faire du **transport passif** en ouvrant des canaux au niveau de la membrane plasmique, des lysosomes ou du réticulum par exemple. Donc pour augmenter le calcium dans le cytoplasme, là où il y a le plus d'action, il faut du passage passif mais pour faire redescendre le calcium du cytoplasme il faudra utiliser du **transport actif** parce qu'on va aller de faibles concentrations vers des fortes concentrations.

III. Les canaux membranaires : une grande variété, plus de 30

Au niveau de la membrane plasmique, il existe une **très grande diversité** de canaux calciques (plus de 30 canaux décrits) ayant chacun une fonction précise.



La fonction d'un canal dépend :

- **Du stimulus** qui l'ouvre (il en existe énormément de différents) :
 - Le potentiel (A): Canaux calciques dépendant du potentiel (variation de potentiel)
 - Les forces mécaniques ou thermiques (B) : Canaux mécanorécepteurs qui s'activent après un coup ou un choc. Canaux qui font entrer des ions pour dépolariser des neurones quand il y a une variation de température
 - Agonistes EC (C) : Canaux récepteurs au glutamate
 - Agonistes IC (D) : Canaux sensibles à des seconds messagers
 - Canaux de recharge des organelles IC (E) (*On en reparlera plus tard dans le cours*)
- **De sa cinétique** : activation ou inactivation lente ou rapide et temps d'ouverture
- **De sa localisation** (Par exemple dendrites ou terminaison axonale)

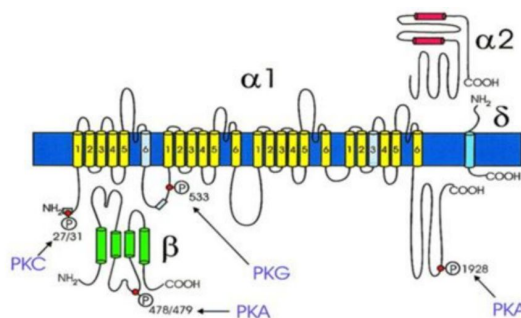
Tout cela explique la grande diversité des canaux.

A. Les canaux calciques dépendant du potentiel

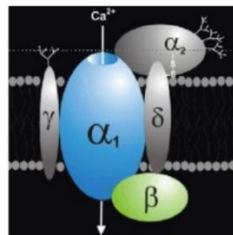
1. Structure très similaire des canaux sodiques

Ce sont des **protéines transmembranaires** (importantes pour pouvoir laisser passer du calcium). Généralement il n'y a pas qu'une seule protéine, c'est un ensemble multi protéique fonctionnel avec une sous-unité $\alpha 1$ qui forme le pore et des sous-unités auxiliaires ($\alpha 2$ et β)

Le segment **entre les segments 5 et 6** est très important : c'est celui qui forme le **port** qui permet le passage du calcium.



Après avoir vu ces canaux il reste encore une **grande diversité** : certains sont activés par de **faibles dépolarisations/stimuli** alors que d'autres sont activés par de **forts stimuli**. Certains font entrer le calcium sur de **courtes durées** et d'autres sur de **longues durées**. Certains sont principalement exprimés au niveau du **cœur**, d'autres au niveau des **neurones**... Chacun a sa fonction précise.



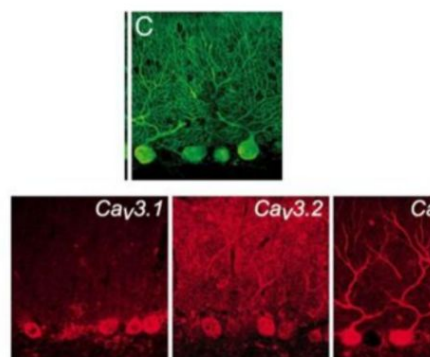
La cible des médicaments (antagonistes calciques) reste généralement le **port (α1)**.

La sous-unité β quant à elle permet l'adressage à la membrane : le canal est synthétisé dans le réticulum et nécessite une protéine pour aller du réticulum vers le Golgi puis vers la membrane.

| Canal | Courant | Localisation | Fonctions | Antagonistes | Origine nom |
|---------------------|---------|--|--|---------------------------------------|------------------------------------|
| Ca _v 1.1 | L | Muscle squelettique | Couplage excitation contraction | Dihydropyridine, Phénylalkylamines... | L pour inactivation Lente |
| Ca _v 1.2 | L | Cœur, vaisseaux, cellules endocrines... | Couplage excitation contraction, sécrétion hormonale, régulation transcription | Dihydropyridine, Phénylalkylamines... | |
| Ca _v 1.3 | L | Cellules endocrines, neurones | sécrétion hormonale, régulation transcription, intégration synaptique | Dihydropyridine, Phénylalkylamines... | |
| Ca _v 1.4 | L | rétine | Libération neurotransmetteur cellule rétinienne | Dihydropyridine, Phénylalkylamines... | |
| Ca _v 2.1 | P/Q | Terminaisons axoniques et dendrites des neurones | Libération neurotransmetteur, activité calcique dendritique | Agatoxine | P pour Purkinje ou suite de N |
| Ca _v 2.2 | N | Terminaisons axoniques et dendrites des neurones | Libération neurotransmetteur, activité calcique dendritique | Toxine CTx GVIA | N pour neurone |
| Ca _v 2.3 | R | neurones | Libération neurotransmetteur, activité calcique dendritique | SNX-482 | R pour résistant aux antagonistes |
| Ca _v 3.1 | T | neurones, cœur, vaisseaux... | Contraction, activité rythmique, pacemaker | Mibéfradil TTA-A2 | T pour transitoire ou petit (tiny) |
| Ca _v 3.2 | T | neurones, cœur, vaisseaux... | Contraction, activité rythmique, pacemaker | Mibéfradil, TTA-A2 | |
| Ca _v 3.3 | T | neurones, ... | Activité rythmique, pacemaker | Mibéfradil | |

Le tableau n'est pas à apprendre, juste pour montrer les différentes localisation des canaux. Il existe une pharmacologie très précise pour chaque canal.

2. Localisation : exemple des canaux T



Les canaux 3.1, 3.2 et 3.3 portent le nom de canaux T. Sur les images on a une cellule avec un **gros corps cellulaire** et beaucoup de **ramifications** ce qui est caractéristique des **cellules de Purkinje** qui sont dans le **cervelet**.

Elles possèdent une arborescence dendritique ce qui signifie qu'elles reçoivent des milliers d'informations qu'elles concentrent vers le corps cellulaire. La sortie on ne la voit pas mais c'est un axone. On a donc **des milliers d'entrées pour une seule sortie**.

Grâce au marquage, on peut voir que les canaux 3.1 sont présents surtout au niveau des corps cellulaires. Les 3.2 sont marqués un peu partout donc ils sont surtout présents dans tout le réseau dendritique et les 3.3 sont présents dans les corps cellulaires et dans les gros dendrites.

Chacun a sa localisation, son mode de fonctionnement ainsi que sa fonction :

- Le 3.2 interviendrait dans la génération de potentiels post-synaptiques
- Le 3.1 a plutôt un rôle au niveau du corps cellulaire donc probablement l'expression génique ou d'autres choses.

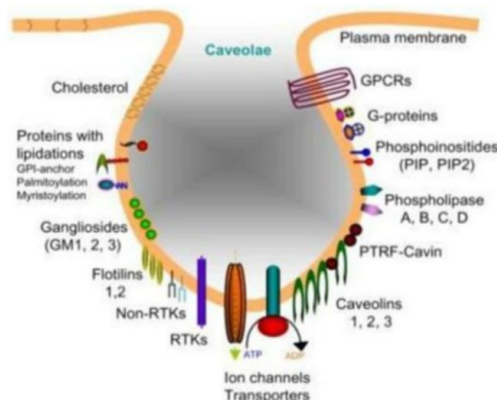
Si on grossissait le 3.2, on verrait des épines dendritiques qui sont au niveau des synapses : le dendrite fait une petite épine et juste en face il y a le neurone pré-synaptique.

C'est un endroit tout petit et très spécialisé donc il suffit de quelques canaux pour faire monter de manière très importante les concentrations à cette zone. C'est une action locale qui va jouer sur la plasticité synaptique.

On peut aussi avoir **peu de canaux** mais **très concentrés** à certains points ce qui va induire un **signal localisé** très important et donc une **action locale**.

Certains canaux sont présents sur toutes les cellules c'est une **action globale** et d'autres ne sont présents que sur certains points pour une **action locale**.

Localisation membranaire des canaux calciques :



Les **cavéoles** sont des structures en forme de Oméga (ω) qui permettent une certaine souplesse à la membrane. Elles ont un rôle **d'élastique**, de **tenseur**. Elles sont aussi très riches en **canaux ioniques** : les principales protéines des cavéoles sont les **cavéolines** mais il y a aussi des zones avec énormément de canaux.

Les **échanges** au niveau de la membrane ne se font pas tout le long de la membrane, ils se font plus précisément et plus souvent au niveau des **cavéoles**.

3. Propriétés électrophysiologiques

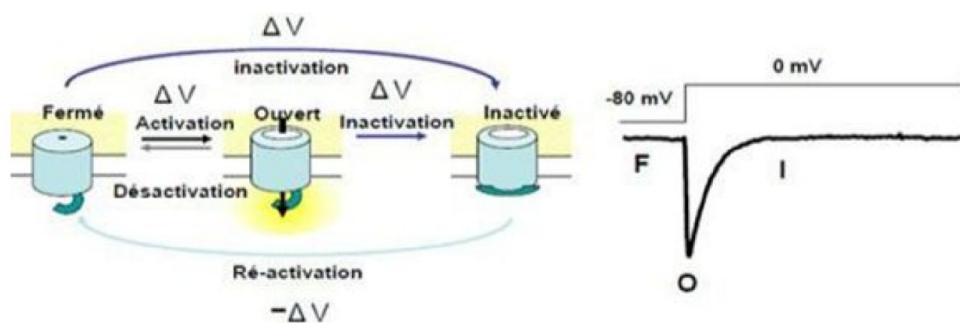
Rappel sur le fonctionnement des canaux : un canal calcique dépendant du potentiel fonctionne comme un canal sodique dépendant du potentiel, il y a 3 états : **Fermé**, **ouvert** et **inactivé**.

De fermé à ouvert : il faut une **petite dépolarisation** pour l'activer

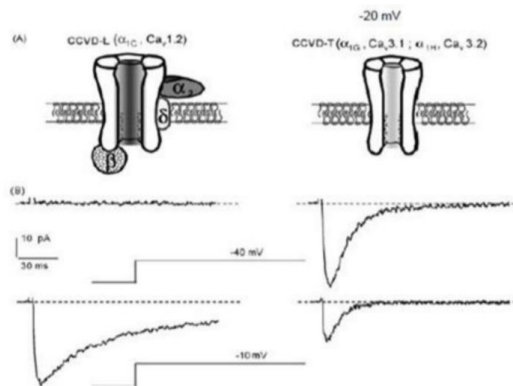
De ouvert à inactivé : on **maintient la dépolarisation**.

Pour pouvoir rouvrir le canal : il faut obligatoirement repasser à l'état **fermé** donc il faut **repolariser la cellule** pour pouvoir de nouveau l'activer par une autre dépolarisation.

Au niveau du courant : au départ on est fermé, quand on dépolarise il y a une ouverture et donc une entrée de calcium ce qui explique le courant vers le bas. Puis le canal s'inactive et le courant disparaît.



4. Différence entre canaux L (= Cav 1.2) et canaux T (= Cav3)



Pas à apprendre par coeur, juste pour montrer la diversité

Les cinétiques d'ouverture, de fermeture et d'inactivation sont différentes en fonction des canaux. Par exemple, ici on compare 2 canaux, un **canal L** (coeur) et un **canal T** (Purkinje).

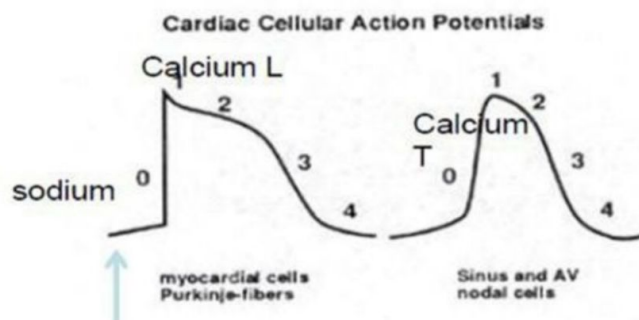
Pour **une même dépolarisation**, le **canal L** fait une entrée de calcium qui dure **longtemps**, l'inactivation est lente (L, il dure longtemps donc en anglais Long Lasting). En revanche, le canal T fait une entrée **transitoire** (T) et **s'inactive rapidement**.

La deuxième façon de différencier ces 2 canaux c'est leur **seuil d'activation** (quelle est la dépolarisation nécessaire à leur activation). Lorsqu'on fait une **petite dépolarisation**, on voit que les canaux **L ne s'activent pas** (il n'y a pas de courant) par contre le canal **T s'active** bien et de manière transitoire.

Ici ce sont 2 extrêmes, parmi tous les autres canaux certains s'activent pour de faibles dépolarisations mais durent longtemps, d'autres s'activent pour de fortes dépolarisations mais durent peu de temps.

Toute la diversité est possible, en fonction des canaux exprimés par une cellule, elle sera plus ou moins sensible aux stimuli et les durées d'action seront plus ou moins rapides.

Application aux cellules cardiaques :



A gauche on a un potentiel d'action d'une cellule cardiaque classique et à droite on a un potentiel d'action d'une cellule sinusale (au niveau du sinus nodal).

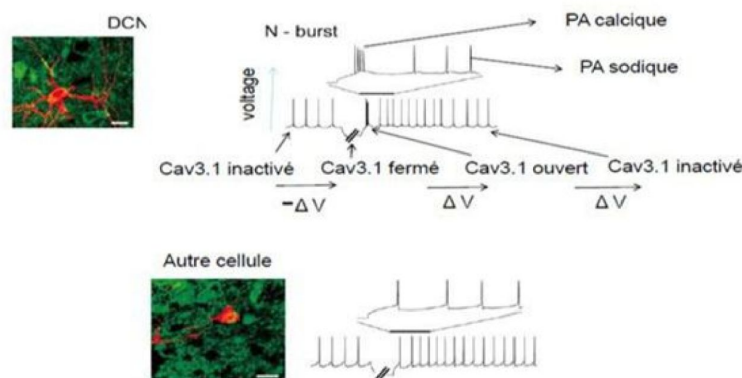
Rappel dans une **cellule classique** : la phase 0 est une phase sodique et la phase 2 est une phase calcique. Ici, c'est un canal L et il est actif car il lui faut une **forte dépolarisation** pour s'activer, due à l'entrée préalable de sodium.

Deuxièmement, comme il s'inactive lentement, l'entrée de calcium dure longtemps = phase 2 longue. Par comparaison, un canal sodique va s'inactiver dès la phase 1, c'est pour ça que la montée est **transitoire** et que le maintien est réalisé par les **canaux calciques**.

Dans la cellule sinusale, la **dépolarisation diastolique** due au courant **If** va activer en premier un **canal T** (au début de la phase 0) qui est très sensible. Pendant la phase 1, les **canaux L** s'activent en seconds parce qu'il faut des dépolarisations plus fortes.

C'est donc grâce à la diversité des canaux qu'on peut avoir différentes formes de signaux et donc des effets différents : la **cellule classique** joue un rôle dans la **contraction** alors que la **cellule sinusale** a une activité **Pacemaker**.

Application aux neurones :



Autre exemple de ces fonctionnements : au niveau des potentiels d'actions des neurones. On va mélanger canaux sodiques et calciques. A l'horizontale on a le temps et à la verticale le voltage (on mesure des variations de voltage et donc des potentiels d'action).

Le neurone a des **décharges régulières de potentiel d'action sodique** (un trait à la verticale correspond aux canaux sodiques qui s'activent) et le **potassium** permet la **repolarisation**.

A ce potentiel les canaux T (3.1) sont **inactivés**. Suite à un stimulus, une hyperpolarisation permet de ramener tous les canaux (sodiques et calciques) à l'état **fermé** puis l'activité reprend.

Lorsque l'activité reprend on a plusieurs potentiels d'actions, car les canaux T étant fermés, sont **capables de s'ouvrir** et de générer des potentiels d'actions. Ils s'inactivent ensuite et on retrouve un rythme normal des potentiels d'actions sodique.

Pour comparer, quand on fait la même expérience sur des cellules sans ces canaux T, on ne retrouve pas de pics plus rapprochés, on retrouve seulement les pics sodiques classiques.

Ainsi, en fonction des propriétés des canaux, de leur expression et surtout de leur état, on peut modifier la fréquence des potentiels d'action et donc **l'activité électrique**.

Pour résumer : il y a une **large diversité** de canaux en fonction du **stimulus** et de leur **cinétique**.

B. Les canaux TRP (= transient receptor potential)

Le nom de ces canaux n'indique pas du tout leur fonction. Il en existe une **large diversité** : il y a des familles divisées en sous-familles...

On peut repérer une sous-famille : **TRP v** (v pour vanilloïde), tous ces canaux sont **activés par des dérivés de la vanille**.

Il existe d'autres types de canaux activés par d'autres types de molécules comme la sous catégorie des **mucolipines**.

On décrit ces canaux car on en aura besoin pour décrire le fonctionnement de l'homéostasie calcique.

1. Structure 3D des canaux

Leur structure ressemble à celle des canaux calciques voltage dépendant : ce sont des **protéines transmembranaires** avec entre les **segments 5 et 6** une boucle qui permet de former le **port**.



L'image tridimensionnelle est quand même différente, le port descend à la verticale entre le chapeau et la partie transmembranaire. On ne connaît pas vraiment l'utilité du chapeau (il protégerait l'entrée mais son rôle reste assez peu connu).

2. Rôles

Ces canaux sont activés par des **voies métaboliques** : protéine G, PLC, tyrosine kinase

Ils sont également activés par des **forces physiques** comme l'étirement.

Exemple : on mesure l'activité d'un canal au niveau de la membrane, il n'y a pas de courant, puis on aspire avec une seringue ce qui crée une pression mécanique : une activité apparaît au niveau des canaux. Ces canaux sont dits **mécano-sensibles** et sont importants pour le toucher.

Ces canaux sont aussi sensibles aux stimuli **thermiques** (activés par d'autres molécules comme le menthol qui donne une sensation de fraîcheur).

Certains sont sensibles au **pH** : lors d'un ulcère à l'estomac, ils signalent que l'acidité est trop élevée, ce qui engendre une douleur.

IV. Voies d'amplification/voie des récepteurs canaux à la ryanodine

RyR

A. RyR

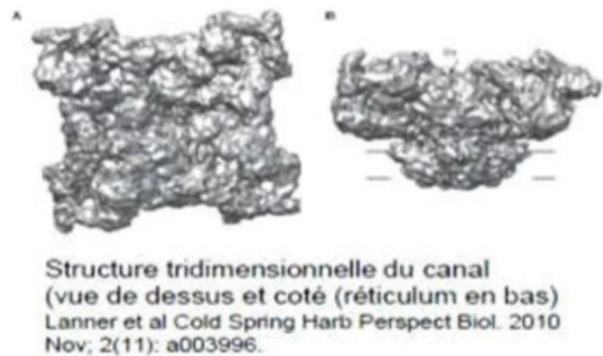
Les canaux au niveau des organites sont très importants. Le réticulum est riche en calcium (1 mM). Le calcium est soit sous forme libre, soit sous forme lié à des protéines (le plus souvent). Par exemple, la **calséquestrine** séquestre le calcium et le garde à l'intérieur, ce qui permet d'avoir des fortes concentrations de calcium (puisqu'elle le fixe).

La distribution du calcium n'est pas homogène. Il existe des récepteurs à la **ryanodine** et à l'**IP3**. Les récepteurs à la ryanodine sont des canaux qui permettent de faire sortir le calcium du réticulum donc d'augmenter le calcium dans mon cytoplasme

Il existe 3 isoformes avec des répartitions spécifiques :

- le **RyR1** est présent dans le **muscle squelettique**,
- le **RyR2** est présent dans **les autres muscles**,
- le **RyR3** dans **toutes les cellules** est plus spécifiquement dans les **neurones**.

Sa structure 3D :



C'est un **homotétramère** de poids moléculaire énorme (4 x 560 kDa), donc une grosse protéine. Il a sûrement 4 domaines transmembranaires avec le pore au milieu (on n'en est pas sûr). La partie cytoplasmique est plus grosse que la partie transmembranaire.

Cette structure est associée à des protéines additionnelles.

Exemple : protéine FKBP

Agonistes :

- Le canal peut être activé par un second messenger = **cyclic ADP ribose**, c'est une molécule qui dérive de l'ADP ribose et cyclisée par une enzyme : la **CD38** (qui dérive du NADP)
- Le deuxième mode de stimulation se situe dans le muscle squelettique (**canal calcique de type 1** ou **CAV1.1**), il active directement le récepteur ryanodine par une interaction entre 2 protéines. C'est une **activation mécanique**
- **La caféine** : effet stimulant sur le coeur (tachycardie), le cerveau (effet psychostimulant) et les vaisseaux (contraction)
- **Le calcium** car le canal est lui même activé par le calcium

Antagonistes :

- **Le calcium** à forte concentration
- **La cADPRP** qui est extrait d'une plante.
- **Le dantrolène**, une molécule chimique qui bloque les isoformes 1 et 3 mais pas la 4 (donc ne touche pas le muscle cardiaque).

B. Interaction des récepteurs à la ryanodine avec les canaux calciques membranaires

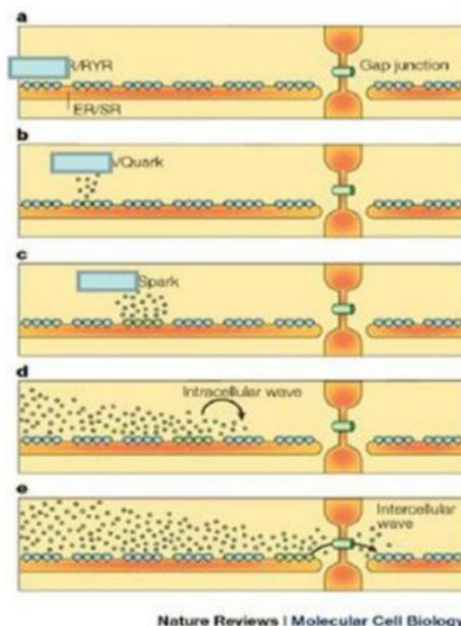
Le calcium induit l'activation des canaux à la ryanodine qui libère du calcium, en anglais : **CICR** "Calcium Induced Calcium Release".

Ce calcium peut provenir des **canaux calciques dépendant du potentiel** ou des **TRP** (mécano-sensibles).

Le **CICR** est un **phénomène d'amplification**. Tous les canaux calciques qui augmentent le calcium dans le cytoplasme vont être activés, ce qui va activer les canaux à la ryanodine.

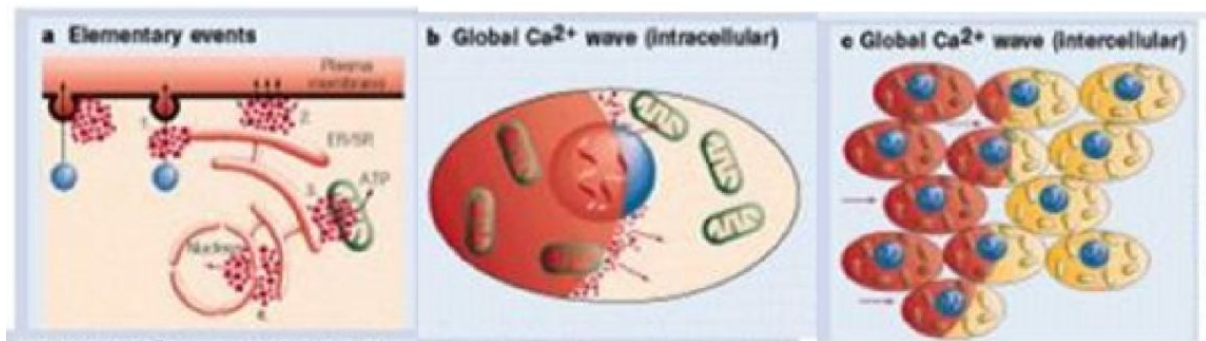
Pour que cette amplification marche bien, les ryanodine doivent être bien positionnées par rapport aux autres canaux.

- **pas de couplage** → **pas d'amplification**
- **couplage localisé** (quelques canaux calciques à un endroit et quelques canaux à la ryanodine à un endroit) → signal **local**
- **couplage total** → réponse d'ordre **global**



Le réticulum dans une cellule est relié à une autre cellule par une jonction communicante ; il y a seulement 1 canal calcique.

- Quand j'augmente **un tout petit peu le calcium à un endroit**, les quelques canaux à la ryanodine qui sont **en dessous** s'activent → signal **localisé**.
- Lors d'une **stimulation plus forte**, la libération de calcium va être plus forte et le calcium pourra activer les canaux à la ryanodine qui sont à côté → **réponse globale**.



Les communications entre cellules (gap junctions), permettent de faire passer le calcium et de réactiver des canaux à la ryanodine (si la cellule en possède).

schémas : on fait entrer un peu de calcium.

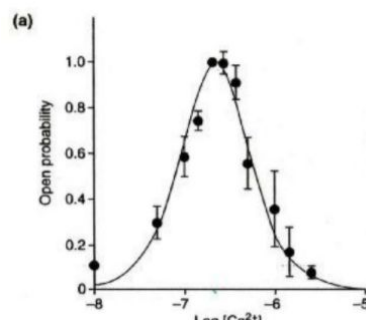
- il y a du réticulum : on va pouvoir amplifier la réponse, au niveau local.
- Si il y en a beaucoup, il y a une « **vague** » qui avance **de gauche à droite**
- si il y a des communications entre cellules c'est pareil, la vague diffuse alors dans toutes les cellules. Dans les jonctions serrées il y a des canaux qui laissent passer des ions donc possibilité de "vague" de cellules en cellules.

Par exemple dans le **cœur**, il suffit d'un **stimulus** pour la contraction cardiaque car les cellules sont **connectées** entre elles.

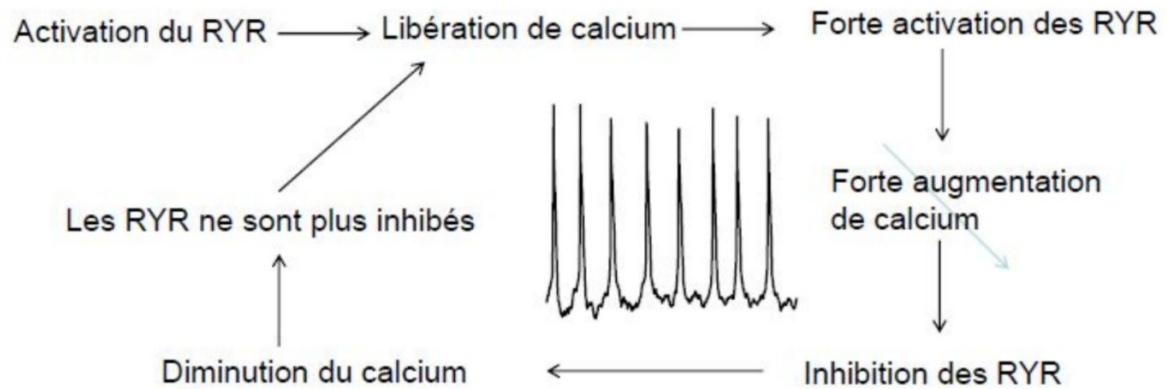
C - Sensibilité au calcium et autorégulation

Les oscillation:

RyR est **activé par faible concentration** de calcium et **inhibé par de forte concentration**.



Un signal calcique active un ryanodine et libère du calcium au niveau local, ce qui va activer tous les ryanodines, entraînant donc une forte augmentation du calcium. Comme la concentration en calcium devient **importante** on a une **inhibition des ryanodines** donc **diminution du calcium**. Si le calcium diminue, les ryanodines ne sont plus inhibées, et si il reste suffisamment de calcium on va alors pouvoir encore induire une libération de calcium. Ceci permet de créer des **oscillations** (système activation/inhibition)



D - Activation par un médiateur

Le calcium est le stimulant principal des ryanodines. Les récepteurs à la ryanodine peuvent aussi être activés par des **agonistes** comme l'**ADPr (ADP ribose cyclique)**.

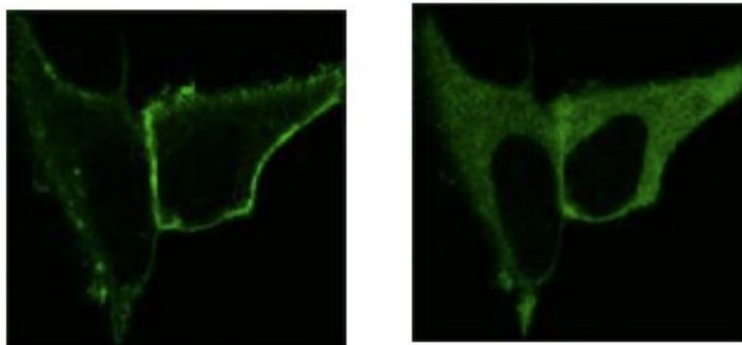
V - Voies de signalisation InsP3

A - Les voies IP3

Le deuxième grand récepteur au canal calcique au niveau du **réticulum** est le récepteur à l'**IP3**.

L'**IP3, inositol triphosphate** est produit à partir du **PIP2** par une **phospholipase C de type Bêta** (stimulées par des RCPG).

Ci- dessous, un **récepteur calcique + protéine G + PLC Beta** —> **Hydrolyse du PIP2 -> DAG + IP3** (qui va diffuser jusqu'au réticulum pour activer).

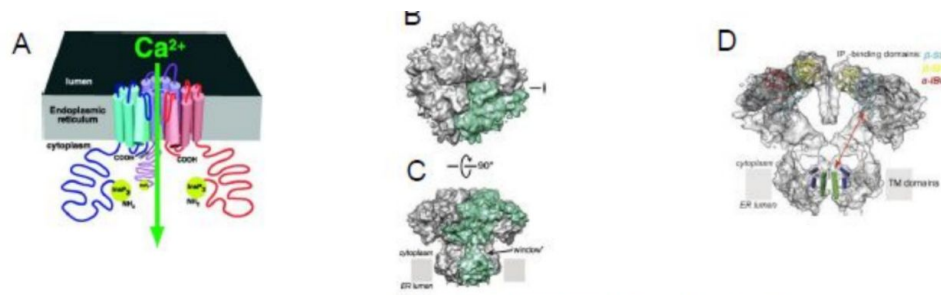


Il existe d'autres PLC qui peuvent enclencher ce phénomène :

- la **PLC delta**, activée par le calcium, forme une boucle de **rétrocontrôle positive**. Le calcium libéré par l'IP3 active la PLC qui va produire plus de PIP2 et donc de IP3.
- la **PLC couplée à des tyrosines kinases**. C'est un récepteur tyrosine kinase, généralement sous la forme d'un **dimère**, par ex le récepteur **VEGF** (récepteur à l'insuline). La tyrosine kinase active la PLC. Ensuite on a une production de PIP2 + IP3, qui donne lieu à un signal calcique.

DAG et PIP2 (lipide) sont **membranaires** , et IP3 est **soluble** ce qui permet de migrer jusqu'au desmosome.

Il existe au moins **3 isotypes** de l'IP3: 1, 2 et 3



Structure 3D du récepteur IP3R1 obtenue par cryo-EM. (A schéma général du canal tétramérique. B vue coté cytoplasmique, C, vue latérale avec position de la membrane réticulaire. D coupe du canal montrant le site de liaison de l'IP3 et la zone de perméation (autour de TM).

Ce sont des homo ou heterotétramères et font plus de 3000 acides aminés.

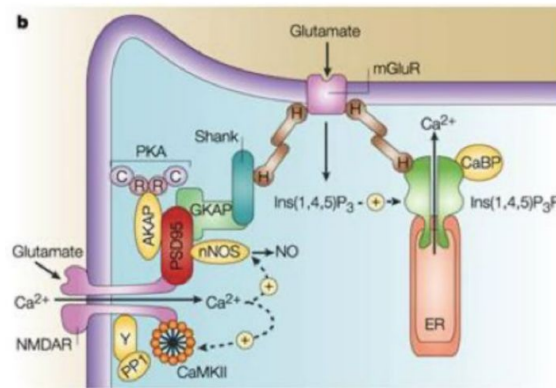
Chaque monomère est constitué de **6 domaines transmembranaires**, le **pore** se situe **entre le 5ème et 6ème** domaine et le **principal agoniste est l'IP3** (il en existe des mineurs tel que le calcium).

antagonistes:

- **L'héparine** : anticoagulant, mais bloque également les récepteurs à l'IP3
- **Le 2APB**, intérêt pharmacologique mais pas clinique.

Pas de pharmacologie sur les inhibiteur IP3 car elles sont présentes dans tout le corps donc l'action est global et il est impossible d'agir sur une partie du corps précise.

B - Les pré assemblages permettent l'activation de cibles spécifiques



Le canal récepteur (comme pour la ryanodine) doit avoir une position stratégique : le **plus près possible d'un récepteur métabotrope** (plus il est loin moins il sera efficace, car l'IP3 va se diluer). Certaines protéines relient l'IP3 et les récepteurs métabotropiques.

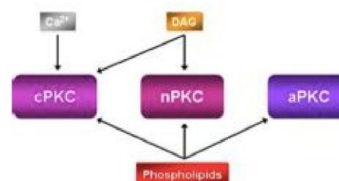
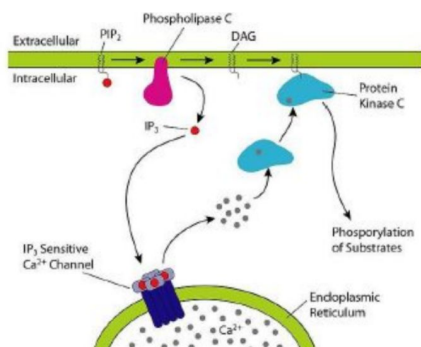
schéma

- on a une **action locale**
- Pour les récepteurs ionotropiques, il y a une structuration de la position de chacun.

Dans certaines pathologies, ces protéines (ici H) disparaissent, le réticulum se retrouve éloigné du récepteur glutamate. De plus, pour une même stimulation au glutamate il y aura moins d'augmentation de calcium.

C - Synergie calcium/DAG pour l'activation de PKC

EFFET DU CALCIUM



Rappel :

- Lorsque l'on active une phospholipase C, on active également une protéine kinase C.
- PiP2 se transforme en **IP3 + DAG**. L'**IP3** active le **calcium** et le **DAG** active la **PKC**.

Mais il existe une deuxième interaction entre ces deux voies. En effet, certaines de ces protéines kinases C sont aussi sensibles au calcium.

Il y a 3 groupes de protéines Kinases C :

- La **C** « classique »
- La **N** « nouvelle »
- La **A** « atypique »

Le DAG active les deux premiers groupes de PKC. La « classique » peut également être activée par le calcium.

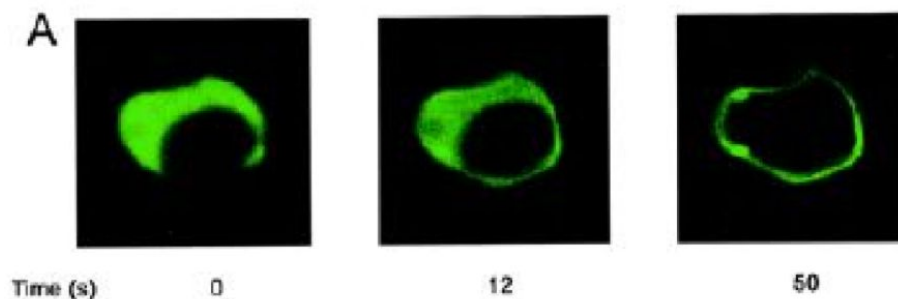
schéma : il y a l'interaction entre les deux

- L'IP3 libéré va permettre l'activation de la PKC et son transport du cytoplasme vers la membrane.
- La membrane va rencontrer le DAG ce qui va donner l'activation puis la phosphorylation.

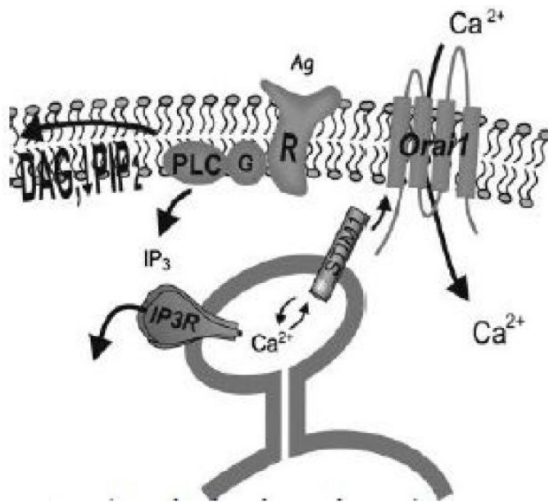
image : on a rendu la PKC fluorescente (le vert représente la PKC).

- stimulation par le calcium : la PKC qui était **cytoplasmique** va progressivement vers la **membrane**. Le calcium **se lie sur la PKC**, ce qui permet de **l'adresser à la membrane** où elle rencontre le DAG.

On peut parfaitement voir la **synergie** entre le calcium et le DAG pour activer la PKC. Mais attention, cela marche pour une PKC « classique » et non pour les autres.



D - Synergie calcium/DAG pour l'activation des canaux membranaires



Autre action de la DAG (en relation avec d'autres types de canaux)

Le récepteur couplé à une PLC produit de l'IP₃ et donc du DAG. Ce DAG peut venir activer les canaux membranaires = canaux TRP. Cela permet l'entrée de calcium (c'est une sous catégorie de TRP qui permet ce couplage).

Il y a deux sources de calcium possible quand on active le récepteur métabotrope classique : par la **voie IP₃** et par la voie des **canaux TRPc**.

Ce calcium qui rentre par les TRPc a deux rôles :

- Augmenter le calcium (action physiologique)
- Recharger le réticulum en calcium

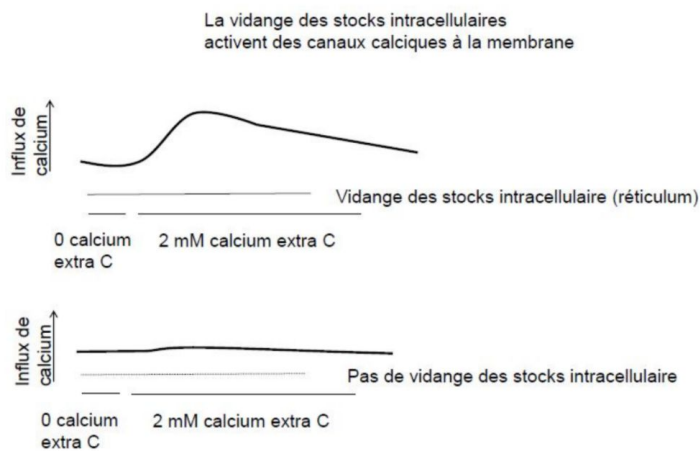
VI - Les canaux contrôlés par les stocks intracellulaires

Traduction plus physiologique :

L'IP₃ induit une libération de calcium du réticulum vers le cytoplasme, c'est une **vidange des stocks intracellulaires**. Puis on recharge le réticulum à partir du cytoplasme.

Le calcium peut venir du réticulum qui a été libéré par les canaux récepteurs à l'IP₃ ou du milieu extracellulaire.

expérience : mesure des flux de calcium



- vidange des stocks intracellulaires (réticulum). Il n'y a plus de calcium dans le réticulum, il faut donc le recharger avec du calcium cytoplasmique, mais aussi du milieu extracellulaire.

Au début de l'expérience, on ne peut pas observer les effets du milieu extracellulaire car il n'y a pas de calcium extracellulaire.

- ajout de calcium extracellulaire : un **influx de calcium** dans le cytoplasme puis vers le réticulum pour le recharger
- on fait exactement la même expérience sans vider le réticulum (c'est-à-dire sans calcium) : il ne se passe rien.

Lorsque le **réticulum est vide**, il va chercher à se **recharger**. Il active une protéine au niveau de sa membrane (**STIM**), qui elle-même va activer par contact physique une protéine au niveau de la **membrane** (**TRP** ou **ORAI1 = canal principal** "gardien des portes calciques"), pour faire **entrer du calcium à partir du milieu extracellulaire** qui va ensuite dans le réticulum.

STIM possède un **domaine de liaison au calcium** dans le réticulum. Il y mesure le calcium présent et quand le calcium réticulaire diminue (c'est à dire quand on a trop vidé le réticulum), il se polymérise et migre du réticulum profond vers le réticulum sous-membranaire, afin d'**activer ORAI** avec qui il forme un complexe actif qui laisse entrer du calcium.

Au niveau du réticulum, les canaux qui permettent la libération de calcium sont **IP3** et **ryanodine**, mais il y a également tout un système de censeurs qui permettent d'ouvrir les canaux calciques membranaires pour recharger (par une pompe) en calcium le réticulum.

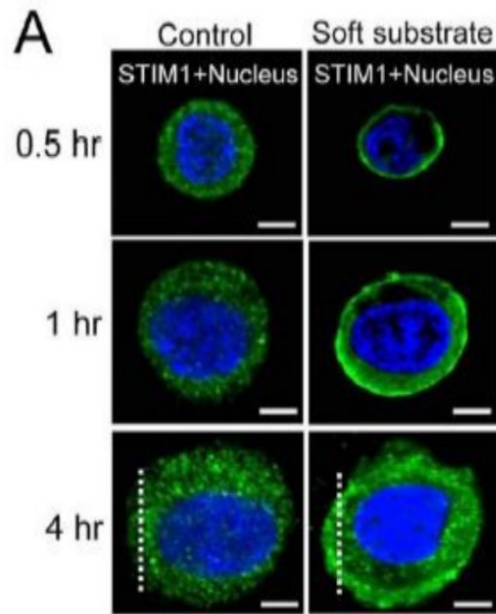


image : protéine STIM verte, noyau bleu

- A gauche, le calcium est très riche dans le réticulum, pas besoin de recharge, STIM se retrouve dans toute la cellule.
- A droite, on a vidé le réticulum. La protéine STIM se retrouve uniquement en position sous membranaire car elle vient activer ORAI pour faire une entrée.

on fait entrer du calcium en extracellulaire après la vidange :

- En noir, STIM est détruit, il n'y a pas d'entrée de calcium
- En bleu, on a gardé STIM, on a une entrée de calcium.