



## **RONÉOS DFGSP2 2020 - 2021**

### **UE PL2.8 : BPC 17-18**

**Date : 04/11/2020**

**Plage horaire : 10h30-12h30**

**Enseignant : QUIGNARD Jean-François**

**N°ISBN : 978-2-37366-080-7**

Ronéistes

CLEDON Mathilde – [cledonmathilde@orange.fr](mailto:cledonmathilde@orange.fr)

SALLABERRY Dana – [d.sallaberry@aol.fr](mailto:d.sallaberry@aol.fr)

## **Signalisation calcique**

### ***Plan du cours :***

#### **VII - Autres voies**

A - Voie Sphingosine 1 P

B- Voie Lysosomes NAADP

#### **VIII - Systèmes OFF**

A - Généralités

B - Mitochondries et calcium

#### **IX - Cible moléculaire du calcium : le calciosome**

A - Calmoduline kinase

#### **X - Intégration du signal calcique**

A - Muscle squelettique

B - Calcium et cœur

C- Muscle lisse

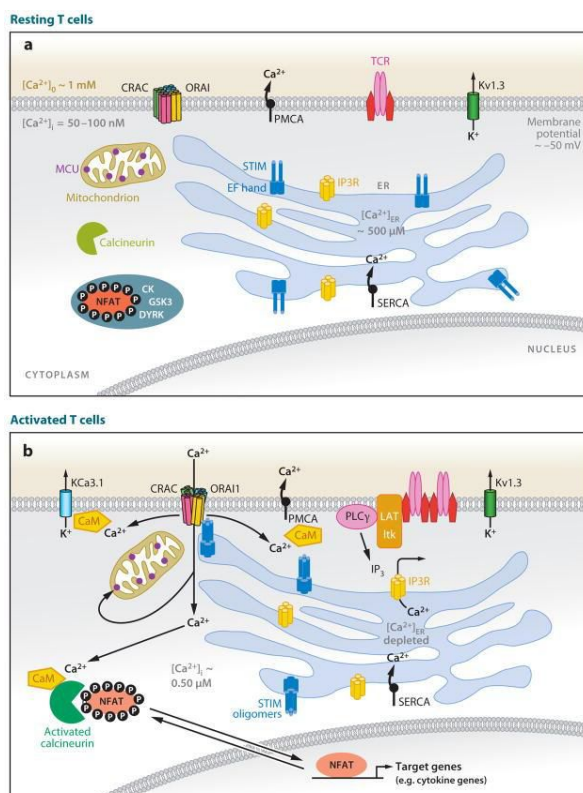
D- Le couplage excitation/contraction

Dans le cours précédent, on avait vu comment augmenter le calcium dans le cytoplasme à partir du milieu EC, on avait vu la diversité des canaux calciques, répondant à des stimulus spécifiques et ayant des temps ou des moments d'activités très différents.

On a vu les canaux qui permettaient de libérer du calcium à partir des stocks IC (= à partir du réticulum) mais aussi le canal récepteur à la ryanodine qui induit des oscillations. On a vu les canaux récepteur à l'IP3 et la synergie avec les PKC, récupérés par le DAG et le calcium.

Des canaux permettent la recharge du réticulum quand il est vide. Le capteur mesure qu'il n'y a pas assez de calcium et stimule un canal qui le fait entrer : système STIM/ORAI. STIM se déplace à la membrane pour activer le canal ORAI.

*Exemple : les cellules d'un lymphocyte T*



Au centre, on retrouve le récepteur à l'antigène. Les cellules possèdent du réticulum et dessus on retrouve des récepteurs à l'IP3 et STIM. Sur la membrane, vous avez les canaux ORAI avec la recharge du réticulum, il y a une pompe qui permet de faire sortir le calcium, et il y a toujours des canaux potassiques qui permettent de maintenir le potentiel de la cellule vers **-60mV**.

Nous sommes en situation initiale, avec une faible concentration de calcium dans le cytoplasme, et une forte concentration en EC.

Sur le schéma, on distingue des récepteurs, le réticulum, le noyau, STIM, la protéine ORAI, la mitochondrie, les pompes SERCA, les pompes calciques membranaires et le facteur de transcription NFAT.

Il y a activation du récepteur au niveau du lymphocyte T (*les ligands sont des antigènes complexés au CMH*). Il est couplé à des récepteurs de **tyrosines kinases**, cela active des **PLC gamma**, et permet la production d'**IP3**.

Cet IP3 se fixe ensuite sur son récepteur au réticulum, et cela va induire la libération de calcium (1er signal).

Cette libération de calcium induit une diminution de calcium dans le réticulum. Lorsque le calcium réticulaire diminue, **STIM est activé** et va migrer vers la membrane pour activer physiquement le **canal ORAI**. ORAI induit une forte entrée de calcium à partir du milieu EC. L'entrée de calcium est 10 fois plus grande que celle d'IP3, qui est juste le signal initial.

*Que va faire ce calcium?*

Il a plusieurs cibles :

- ★ **La pompe SERCA** (le calcium va entrer dans le RE pour le recharger) : c'est la cible physiologique.
- ★ Le calcium entre dans la **mitochondrie** pour produire de l'ATP via le cycle de Krebs, énergie qui pourra permettre la réaction immunitaire.
- ★ Le calcium active un **canal potassique**, induit une hyperpolarisation, c'est un message important pour la prolifération et la différenciation de ces lymphocytes T.
- ★ Expression génique dans la **réponse immunologique** : le **facteur de transcription NFAT**. Ce facteur est phosphorylé et se trouve dans le cytoplasme. Quand il est déphosphorylé, il migre vers le noyau et va induire l'expression des gènes, par ex ici les cytokines pour déclencher une réaction inflammatoire.

Le calcium va se lier à la calmoduline et va activer une **calcineurine**, c'est une phosphatase qui va enlever les phosphates du facteur NFAT. Le facteur va se retrouver déphosphorylé et pourra aller dans le noyau.

A partir d'une stimulation simple, une **PLC** (production d'IP3) fait le 1er signal calcique. Puis par dépression du réticulum, on va avoir un 2e signal calcique qui passe par **ORAI** et qui aura de très nombreux effets sur le potentiel transmembranaire, sur la production de la mitochondrie, et sur certains facteurs de transcription qui permettent l'expression de cytokines.

Ce système peut exister dans pleins d'autres cellules, les modifications seront les cibles du calcium.

*Pour compliquer mais ce n'est pas sur le schéma*, si on avait des canaux récepteurs à la ryanodine, l'IP3 aurait pu induire la libération de calcium, puis le calcium activer les canaux récepteurs de ryanodine : autre phénomène d'amplification.

Ici, c'est une amplification par le système **IP3/ORAI** et **STIM/ORAI**. C'est le signal calcique qui se déclenche dans les lymphocytes.

### Maladie

Mutation des canaux ORAI qui induit une **déficiencia immunitaire**, les patients sont immunodéficient. Quand il y a un déficit de ORAI, cela touche presque tous les organes mais de manière plus ou moins importante.

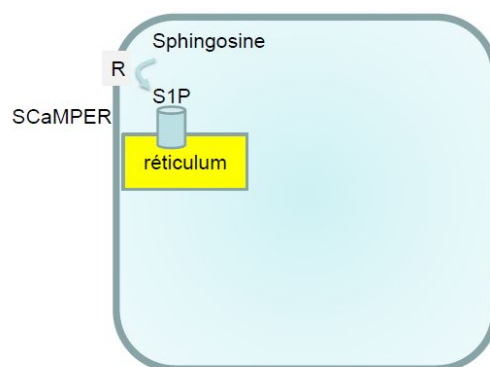
- Dans le cœur, on a pas parlé de STIM/ORAI car c'est un couplage canaux L / ryanodine donc ORAI n'a pas d'implication au niveau du cœur.
- Dans les lymphocytes, c'est le calcium ORAI qui a le rôle majeur. Les lymphocytes ne pourront pas s'activer et cela conduira à une immunodéficiencia.

Le traitement est la thérapie génique, il faut retransfecter ORAI fonctionnel pour retrouver une activité immunitaire correcte.

## VII - Autres voies

### A - Voie sphingosine-1-phosphate

Au niveau du réticulum, il existe d'autres canaux (*ils ne sont pas à connaître, c'est juste à titre informatif car leur rôle est limité*).



Par exemple, dans le cœur c'est le récepteur S1P. C'est un récepteur à la sphingosine . La sphingosine sera activée en sphingosine 1 P, qui activera ce canal et libérera du calcium. C'est un médiateur important dans le cœur.

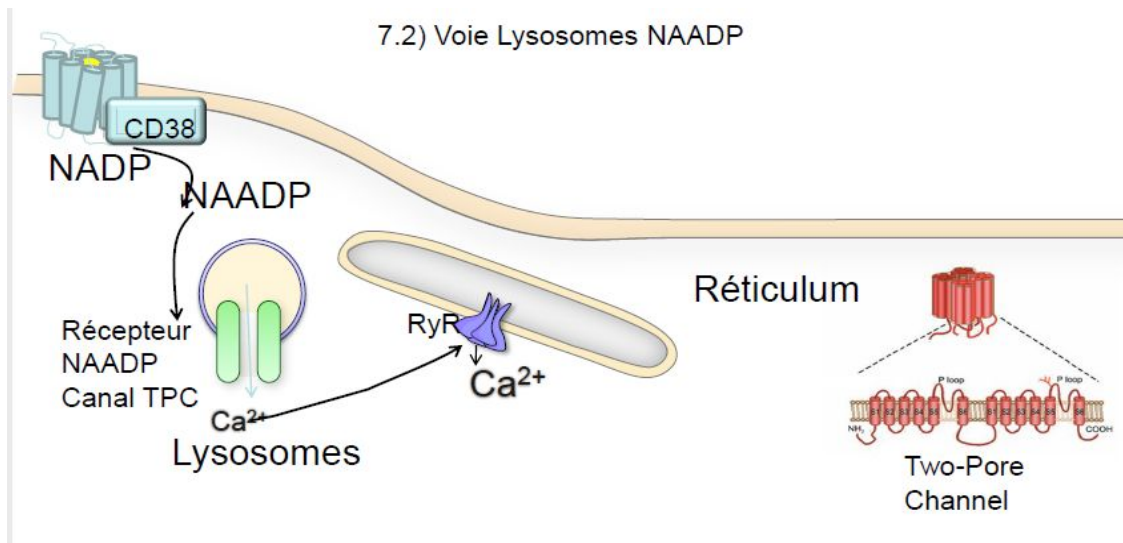
Surtout décrit dans l'apoptose, lors d'un déficit, le récepteur qui permet d'activer est un récepteur SCaMPER qui est une voie extrêmement rare.

## **B - Voie Lysosomes NAADP ★**

Il existe d'autres organelles qui ont aussi des canaux calciques, par exemple les lysosomes.

Les lysosomes sont importants pour la destruction de substances.

D'un point de vue signal calcique, les lysosomes sont une réserve de calcium et peuvent libérer le calcium. Ils sont alors très riches en calcium, ils ont un **canal TPC** (Two Pore Channel). C'est un canal à deux pores, spécifique, et il libère le calcium à partir du lysosome vers le cytoplasme.



Ce canal est activé via un médiateur **NAADP**, synthétisé à partir du NADP, par une enzyme CD38, elle-même activée par des récepteurs à 7 domaines transmembranaires.

Cela libère du calcium, et comme c'est une voie **d'amplification** qui agit sur les canaux à la ryanodine du réticulum, ils vont libérer encore plus de calcium.

La voie de signalisation a bien été décrite dans les artères mais surtout dans le pancréas, car le calcium du pancréas permet la sécrétion de suc pancréatique (fonction exocrine du pancréas) et ce calcium vient en grande partie des lysosomes.

À l'heure actuelle, il n'y a aucune pharmacologie dessus car ces voies ont été décrites il y a à peine 15/20 ans, donc aucun médicaments n'ont encore vu le jour.

## VIII - Systèmes OFF

### A - Généralités

On va voir les systèmes qui permettent de diminuer la concentration de calcium (*ils ont déjà été vus en PACES*).

- ➔ Le principal système est la **pompe calcique** qui fait sortir le calcium, du cytoplasme vers le milieu extracellulaire.
- ➔ **L'échangeur Na/Ca** : le sodium entre, donne de l'énergie et fait sortir du calcium.
- ➔ La **pompe SERCA**, au niveau du réticulum, fait entrer le calcium dans la lumière du RE.
- ➔ Des systèmes qui font entrer le calcium dans la **mitochondrie**, pour diminuer le calcium du cytoplasme, et activer la production d'ATP.
- ➔ **Des systèmes tampons** : protéines qui lient le calcium et lorsqu'il est lié, il n'est plus actif. Cela permet de tamponner le calcium grâce à des protéines chélatrices.

### B - Mitochondries et calcium ★

Cet organite capte et libère le calcium. C'est un système de captage très rapide. Lorsqu'il y a de fortes augmentation de calcium dans le cytoplasme, le calcium est capté rapidement dans la mitochondrie et la mitochondrie va le relâcher plus tard mais de manière plus lente : **rôle de tampon calcique IC**.

La mitochondrie est entourée de réticulum, et lors de libération de calcium par le réticulum, la mitochondrie pourra le prendre. Cela a une action sur la production **d'ATP** avec par exemple la pyruvate, l'alpha cétooglutarate ou l'isocitrate DH qui sont mises en jeu. Quand il y a trop de calcium dans le cytoplasme puis dans la mitochondrie, elle se surchargera et cela induira **l'apoptose**.

*Comment se font les échanges?*

Les échanges avec la mitochondrie sont compliqués car il y a deux membranes à passer : une membrane externe et une membrane interne.

- ❖ **La membrane externe** n'est pas un frein pour le calcium. Elle possède de larges pores non spécifiques qui laissent passer le calcium.
- ❖ **La membrane interne** : possède des uniports calciques, mais aussi un canal calcique mitochondrial.

Dans la mitochondrie, pour faire entrer du calcium, il y a une force mise en jeu : le potentiel IC de la mitochondrie est d'environ **-220 mv** par rapport à l'EC. L'intérieur est très négatif et il y attire le calcium.

Pour faire entrer le calcium : pompes échangeur Na/Ca, échangeur protons H/Ca

Pour faire sortir le calcium : **pore de transition** (large pore laissant passer le calcium).

Donc au niveau de la mitochondrie, beaucoup de régulations dans les entrées et sorties de calcium, qui seront importants soit dans la production d'ATP soit dans l'apoptose.

## **IX - Cible moléculaire du calcium : le calciosome**

Les cibles cellulaires sont les protéines sensibles au calcium, calci-sensibles = **calciosome**, elles seront modifiées par le calcium.

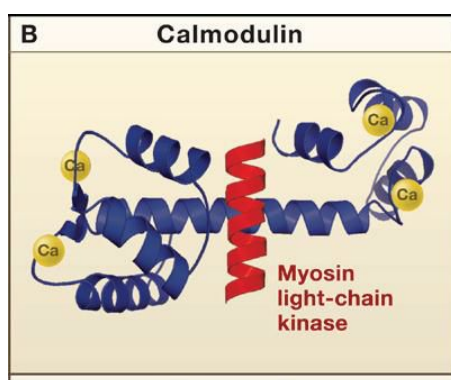
Pour agir le calcium doit se lier à des protéines calciosomes, elles doivent donc avoir un domaine récepteur au calcium. Il existe deux grands domaines :

- ★ **Domaine EF hand** : représenté le plus souvent par la calmoduline
- ★ **Domaine C2**

Une protéine est sensible au calcium si elle possède un de ces deux domaines. 650 protéines au moins ont le domaine C2, cela crée une zone de liaison électrostatique de la protéine aux lipides.

Le domaine **EF** a deux hélices, cela permet de maintenir le calcium, avec autour des acides aminés impliqués dans la liaison avec le calcium.

Le domaine **C2** y ressemble un peu, les ions calcium sont au milieu et au nombre de 2 (d'où le nom C2).



Lors d'analyses du protéome, une fois qu'on connaît la structure d'un domaine EF ou C2, on saura par avance si la protéine lie ou ne lie pas le calcium.

## A - Calmoduline kinase

La calmoduline est une protéine qui lie 4 molécules de calcium. Quand le calcium se lie, il y a modification de la protéine, qui permet d'exposer ses domaines **hydrophobes**. Ils pourront agir avec d'autres protéines hydrophobes (ex : myosine kinase impliqué dans la contraction).

Il existe plus de 100 protéines qui peuvent se lier à la calmoduline, la plus simple est la **calmoduline kinase**.

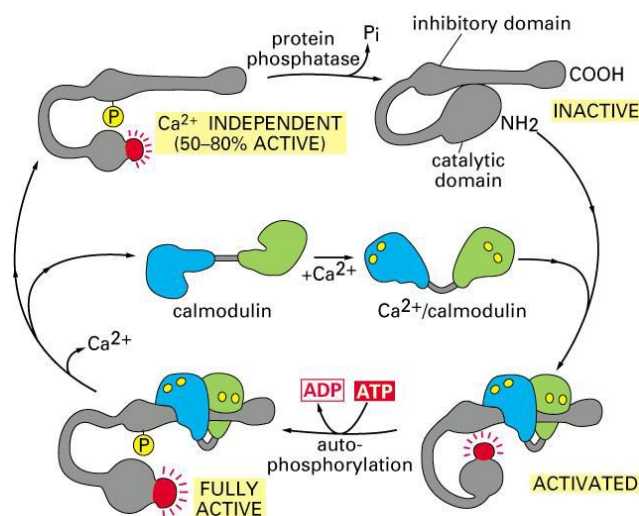
Au moins 25 gènes sont impliqués et modifient le fonctionnement de 90 protéines.

Le domaine permet la liaison de la protéine à des lipides, des phospholipases, à la PKC, à PI3K, à la synaptotagmine... Il y a aussi des canaux ioniques, eux-mêmes sensibles au calcium.

La calmoduline kinase est impliquée dans de très nombreux processus cellulaires. Le calcium se lie à la calmoduline qui active la calmoduline kinase.

Les **principales cibles** sont la phosphorylation des protéines, le métabolisme des nucléotides cycliques, le transport cellulaire, la voie du NO et les régulations des protéines cytosoliques.

*Comment fonctionne cette enzyme?*



Toutes les kinases ont un domaine catalytique (phosphorylation) et un domaine inhibiteur. Le domaine inhibiteur se colle au domaine catalytique et bloque l'activité catalytique.

C'est valable pour les PKC, les PKA... : ainsi, ils ne sont plus actifs car le domaine catalytique est bloqué par l'inhibiteur qui agit comme un **leurre**.

A côté, on retrouve du calcium. Il se lie à la calmoduline et change sa conformation. Puis la calmoduline se fixe sur la kinase, sur le domaine inhibiteur. Elle induit un changement de conformation et libère le domaine catalytique.

La protéine est prête à phosphoryler.



*Elle va phosphoryler qui?*

Tout d'abord, elle va **s'auto-phosphoryler**, en présence d'ATP. La kinase est **totale**ment active et va pouvoir phosphoryler d'autres protéines.

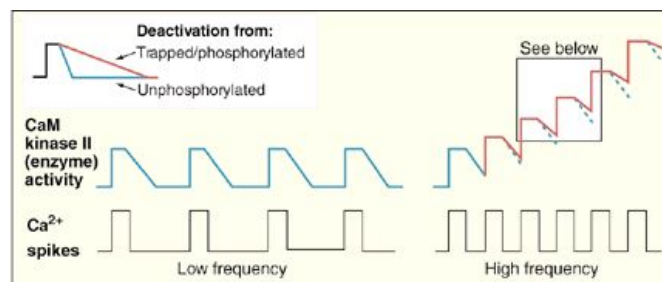
Via les mécanismes OFF qu'on a vu (SERCA, pompe Na/Ca), la concentration calcique diminue dans le cytoplasme. Le calcium se sépare de la calmoduline, elle retrouve sa conformation, puis elle se sépare de sa kinase. La kinase est toujours phosphorylée et toujours active.

La phosphorylation empêche que le domaine inhibiteur revienne sur le domaine catalytique.

La kinase a toujours son activité, **calcium indépendante**, ce qui représente de 50 à 80% de son activité totale. Elle retournera à l'état initial que si une phosphatase retire le phosphate, afin de retrouver l'interaction domaine inhibiteur/domaine catalytique.

**La kinase sera active en présence de calcium mais elle continuera à être active même en absence de calcium.**

*Quelles sont les conséquences possibles de ce mécanisme ?*

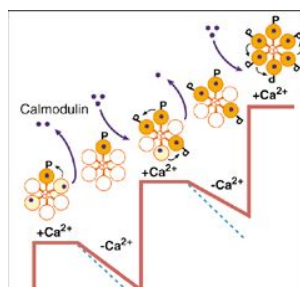


*Application physiologique : Activité de la calmodulase*

Lorsqu'il y a du calcium, la calmoduline kinase est activée, mais s'il n'y a plus de calcium, l'activité perdure à faible fréquence (en bleu).

Au niveau des grandes fréquences (en rouge), une partie de la kinase est encore phosphorylée et donc encore active. On a en plus l'activité du calcium, donc le complexe devient de plus en plus actif. Cela ressemble à un **tétanos imparfait** (vu en TP muscle squelettique) avec une activité croissante et une fréquence qui augmente.

Avec un vrai signal calcique, les **oscillations** induites par le récepteur à la ryanodine feront des augmentations progressives.



Ici, c'est plus compliqué car il n'y a pas 1 kinase mais 6 kinases, donc x 6.  
Elles sont de plus en plus phosphorylées, on aura une forte augmentation de notre activité.

Une oscillation donne un signal, un pic à fréquence rapide donne un autre signal et un pic à fréquence lente donne encore un autre signal.

En fonction du signal calcique, je vais avoir une activité de la kinase qui sera modifiée : soit transitoire soit fortement amplifiée. La signature dépend de la fréquence et de la forme du signal

## X - Intégration du signal calcique ★

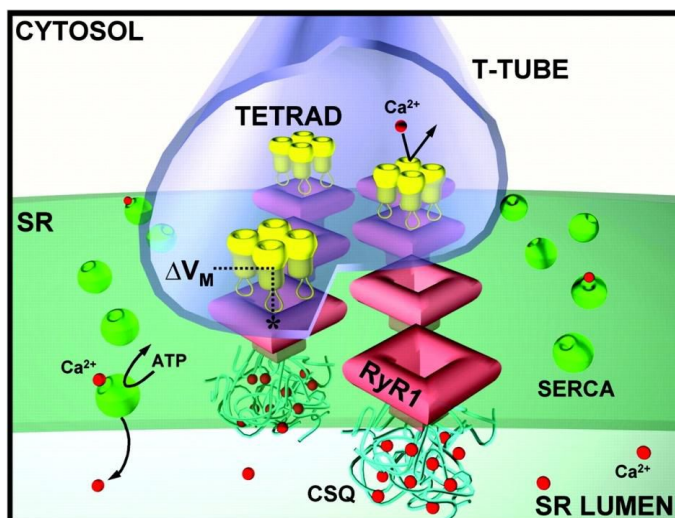
On va étudier l'intégration du signal calcique dans la contraction du muscle lisse, du muscle cardiaque et du muscle strié.

Le calcium est indispensable dans ces 3 cas, pour la contraction. Des phénomènes d'amplification sont aussi présents.

### A - Muscle squelettique

On y retrouve impliqué le canal calcique de type L (l'isoforme spécifique du muscle squelettique). De plus, on retrouve un système d'amplification des canaux à la ryanodine.

Le muscle squelettique doit avoir une contraction **ultra rapide**, c'est à dire qu'il faut une augmentation de calcium ultra rapide (très différent du muscle lisse, car les muscles de nos vaisseaux ou de nos intestins n'en n'ont pas besoin).



Le cytosol est en blanc, le réticulum est en vert. On retrouve les tubules en T, structures spécifiques du muscle squelettique (=membrane plasmique).

Dans un muscle squelettique, une **plaque motrice** active des **canaux récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine** (le nerf moteur est un nerf **cholinergique**), puis fait entrer du sodium et induit une dépolarisation.

La **dépolarisation** active les **canaux L** (canaux calciques dépendants du potentiel), au niveau du tubule T.

Ces canaux L vont activer les **canaux récepteurs à la ryanodine**, c'est un **lien physique** entre les deux canaux, spécifique de l'isoforme 1. Le changement de conformation du canal L va induire un changement de conformation du canal à la ryanodine.

Les canaux à la ryanodine s'ouvrent, le calcium diffuse dans le cytoplasme à partir du réticulum. Ce calcium induira la contraction en se liant à la **troponine C** et les ponts **actine/myosine** se forment.

C'est un système d'amplification qui implique le réticulum avec une activation physique directe.

Si je supprime le calcium dans les tubules, et que j'induis une dépolarisation, il y aura un changement de conformation du canal L, puis ouverture du canal mais le calcium ne rentrera pas. Cependant, comme on a un lien physique direct, la ryanodine s'activera quand même et induira une sortie de calcium.

La contraction du muscle squelettique est surtout due au calcium qui provient du réticulum. Une fois sorti du réticulum, il sera repompé par les **pompes SERCA** (*sarcoplasmique endoplasmique reticulum calcium ATPase*) qui feront entrer le calcium dans le réticulum.

Il y a aussi des **systèmes STIM/ORAI** qui sont présents lorsqu'il n'y a plus assez de calcium dans le réticulum, afin d'en prendre à partir du milieu EC.

Cette contraction n'est efficace que si la libération de calcium a lieu dans tout le cytoplasme, grâce aux tubules en T qui entrent en profondeur dans la cellule.

On y retrouve un couplage sur presque tout le volume de la cellule, ce qui induit une forte libération de calcium presque instantanée sur toute l'épaisseur de la cellule.

La dépolarisation se diffuse très rapidement.

Pathologie : On peut avoir un problème de thermorégulation : **hyperthermie maligne**.

Il y a un surfonctionnement du muscle ainsi qu'un surplus de chaleur, mais aussi une suractivité des mitochondries.

Le calcium induit la contraction puis il entre à nouveau dans le réticulum, mais il peut aussi agir sur les mitochondries afin de produire de l'ATP, qui fera la contraction musculaire et elle va se fixer sur les pompes SERCA.

La mitochondrie va produire beaucoup de chaleur : activité musculaire.

Si la production de chaleur est trop importante, on retrouvera de l'**hyperthermie maligne**, la température de notre corps ne peut plus être régulée et passe de 37 à 43 degrés. Cette maladie peut être due à un dysfonctionnement de ce système, avec une libération de calcium trop importante qui ira vers la mitochondrie.

Les raisons :

- **raison génétique** : mutation avec dysfonctionnement de ce système, silencieux et révélé par des conditions extrêmes : anesthésie (la plus connue). Certains anesthésiques vont modifier le couplage canaux L/ Ryanodine, ils vont suractiver la Ryanodine qui va libérer trop de calcium pour induire l'hyperproduction de chaleur. C'est une des complications majeures de l'anesthésie mais reste très rare. On pourrait prévenir cela en faisant des analyses génétiques mais l'on n'en fait pas encore.

Ce qui induit un produit obligatoire dans chaque salle d'anesthésie: **la dantrolène**. C'est un inhibiteur des RyR1 et des RyR3 mais ne touche pas les RyR2. Il y a donc une action plutôt **sélective des muscles squelettiques**. RyR1 est présent dans le muscle squelettiques alors que RyR2 est plutôt présent au niveau du cœur.

Donc avec les dantrolènes, dès que la température s'élève (elle dépasse 40°C) on l'injecte, elle bloque le RyR, arrêt de la libération de calcium, la mitochondrie arrête de fonctionner et ne produit plus de chaleur. Donc très rapidement la personne refroidit et nous pouvons aussi la poser sur un lit de glace afin de faire descendre la température le plus rapidement possible.

**Donc le dantrolène est obligatoire dans toutes les salles d'anesthésie afin d'éviter l'hyperthermie maligne qui est rare mais très bien décrite.**

## **B - Calcium et cœur**

Dans le cœur, nous avons la transformation d'un **stimulus électrique** en un **signal intracellulaire** qui déclenche la contraction. Nous avons en premier un potentiel d'action, dans la phase plateau de ce potentiel d'action nous avons l'activation des canaux calciques L qui permettent la montée du calcium et elle va induire la contraction.

Quels sont les partenaires?

Dans un muscle cardiaque, nous retrouvons les tubules en T avec les invaginations de la membrane plasmique à l'intérieur. Et nous retrouvons du réticulum de part et d'autre de ces invaginations.

Il y a au même moment une **excitation musculaire** suite au potentiel d'action qui vient du nœud sinusal et qui diffuse ensuite dans tout le cœur. Le potentiel d'action diffuse le long de notre tubule en T et active les canaux calciques (de type L version K1.2 différent du muscle squelettique qui est de K1.1 donc ce n'est pas le même gène mais se sont 2 canaux qui se ressemblent). La **dépolarisation** induit l'ouverture de ce canal. Ce canal doit

laisser transiter du calcium. Ce qui est important pour l'**activation de la Ryanodine** (ici la 2 au niveau du réticulum et elles ne sont pas activées directement par le canal mais par le calcium). Il faut donc du calcium qui passe par les canal 1.2 qui activent par la suite les Ryanodines. **Il y a donc un intermédiaire entre la membrane plasmique et le réticulum qui est le calcium.**

Il y a ensuite **libération de calcium** qui se lie à la calmoduline qui se lie à la kinase à chaîne légère, phosphorylation et la contraction se fait.

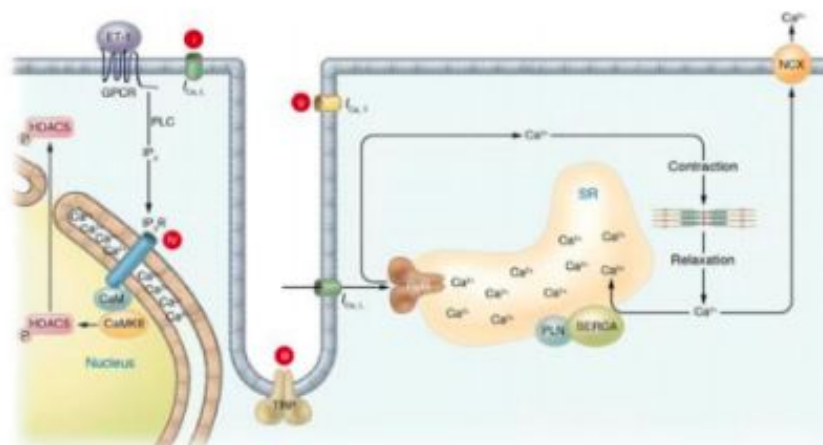
Pour résumer: dépolarisation, activation des canaux L, libération de calcium par le réticulum, activation des canaux RyR.

Il y a donc **deux sources** de calcium: soit par les canaux L, soit par le réticulum. Les deux vont induire la contraction et vont aussi agir sur les mitochondries pour produire de l'énergie.

Donc le mécanisme y ressemble mais la différence est le couplage entre les canaux L et Ryanodines. Muscles **squelettiques couplage physique** alors **muscle cardiaque calcium libéré puis amplification**. Dans le cœur il n'y a pas de couplage physique entre les canaux L et les Ryanodines. Et pour avoir une bonne augmentation de calcium (mis à part des tubules T qui entrent en profondeur) il faut qu'il y ai une bonne association entre le tubule T et le réticulum, ainsi que des canaux à la Ryanodines sous les canaux L (1 canaux L active 6 Ryanodines donc 1 influx de calcium va libérer 6 sorties calcium: c'est l'amplification)

#### Contraction du muscle cardiaque :

1. Excitation musculaire
2. Activation des canaux de type L pour faire entrer le calcium
3. Le calcium va activer la ryanodine, /!\ la ryanodine n'est pas activée par les canaux.
4. Le complexe Ca-Calmoduline se lie à KCLM (phosphoryle les chaînes légères de la myosine)
5. La myosine phosphorylé devient active
6. Des ponts actine-myosine se forment
7. Contraction musculaire



Une fois que le calcium agit dans la contraction, pour pouvoir permettre la **relaxation**, il va être **repompé** par le réticulum par la pompe SERCA ou il va être sorti de la cellule. Dans le cœur la principale sortie est l'échangeur sodium/calcium. La pompe calcique membranaire est peu active dans ce cas.

En titre de comparaison, il y a d'autres endroits qui permettent de sortir le calcium. Par exemple, autour du noyau il y a le réticulum et ce réticulum n'est pas riche en Ryanodine, il est riche en récepteurs à IP3. Et donc par exemple l'endothéline qui peut agir sur le cœur ou bien activer un IP3 avec libération de calcium et ce calcium va agir sur le noyau et nous aurons d'autres effets nucléaires.

Les canaux TRP vont aussi faire entrer du calcium mais ici il n'y a pas de réticulum en face. Ce calcium là va avoir un autre effet.

Le calcium, en fonction de l'endroit où il rentre, des partenaires qu'il a en face, il aura des effets très différents:

- Canaux L/Ryanodine = contraction.
- IP3 autour du noyau va avoir une autre action
- autres qui jouent peu dans la contraction mais ont d'autres actions

Le complexe canal L/Ryanodine s'accorde parfaitement dans le **temps** pour qu'il y ait une augmentation transitoire de calcium (contraction) et une baisse du niveau de calcium (relaxation). Il faut qu'il y ait une **parfaite synergie**, sinon il y a une pathologie.

Par exemple, dans l'insuffisance cardiaque il y a des défauts de couplage entre la Ryanodine et SERCA ce qui implique que le calcium augmente trop ou alors pas assez ce qui a un impact sur les contractions. Il faut une bonne localisation dans le temps, dans l'espace (canaux L bien en face des ryanodines ).

Dans les hypertrophies cardiaques, les tubules en T ont tendance à disparaître et ce couplage va se faire en surface des cellules induisant des modifications de la contraction.

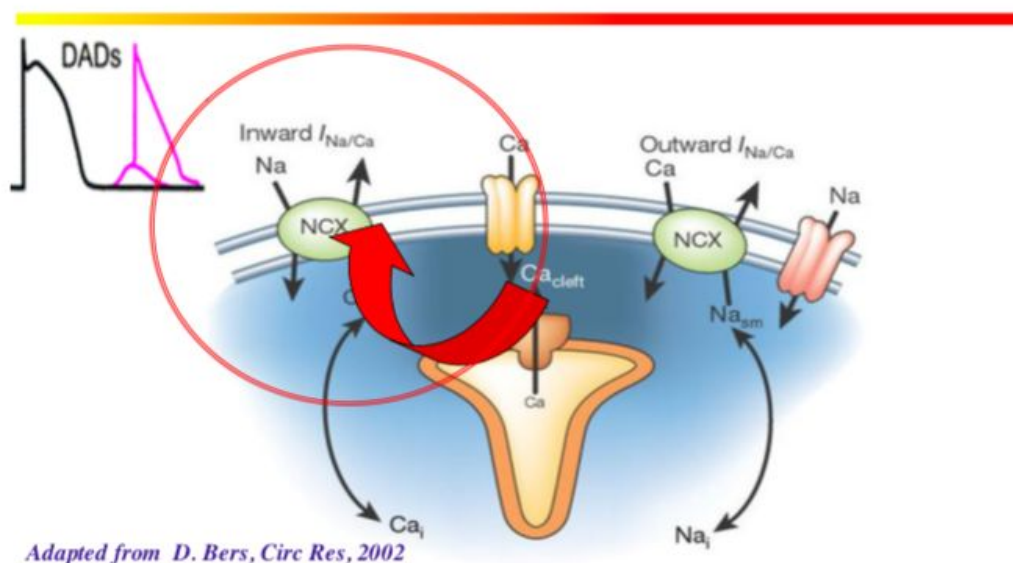
**Dans les insuffisances cardiaques il y a très souvent une déstructuration de ces tubules en T.**

Un autre exemple de dysfonctionnement avec l'échangeur sodium/calcium induisant l'apparition de **dépolarisation diastolique**. Ce qui signifie que nous avons un potentiel d'action. Nous avons une dépolarisation au niveau de la diastole (qui n'est pas la bienvenue) et normalement elle n'est pas donnée par le rythme sinusal. Cette dépolarisation est due au fonctionnement des Ryanodines **en dehors de la stimulation par les L**.

En effet, si la Ryanodine commence à fonctionner de manière autonome (sans être déclenchée par le canal L), cela va augmenter le calcium et celui-ci va sortir par l'échangeur sodium/calcium. Et cet échangeur va avoir un problème, en effet il y a 1 calcium qui sort pour 3 sodium qui rentrent (2 charges positives sortent pour 3 charges positives qui rentrent). Quand il fonctionne, il fait rentrer une charge positive.

Donc quand la Ryanodine se met à fonctionner de manière aléatoire dans une pathologie, l'échangeur sodium/calcium se met en marche donc fait rentrer une charge positive (la petite bosse bleu). Elle devient alors un stimulus pour déclencher un potentiel d'action. Là où ça devient dangereux c'est que le potentiel d'action en noir est déclenché par le noeud sinusal qui est dans le rythme normal alors que celui en bleu est déclenché par la cellule elle-même: il ne dépend pas du rythme sinusal. Elle crée ses propres potentiels d'actions qui vont venir en contradiction avec les normaux. **La cellule devient autonome et se crée ses propres potentiels d'actions.** Cela va donner des arythmies et cela donne des potentiels d'action en phase diastolique que l'on appelle aussi potentiel d'action retardé.

**exemple de pathologie : RYR fonctionnent en dehors de la stimulation par les L (altération de FKBP)**

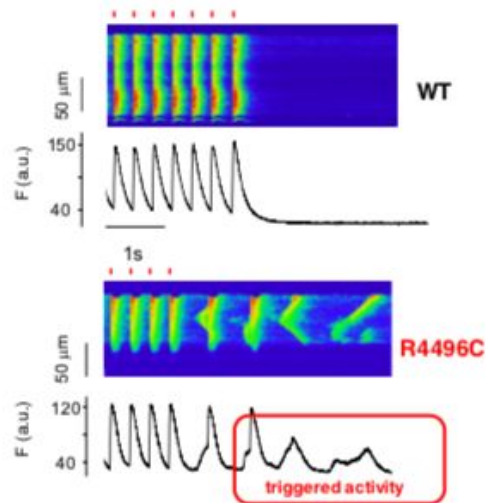


Post dépolarisation tardive, DAD

Pathologie sur la protéine FKBP: Il peut y avoir des mutations génétiques sur cette protéine qui tient les canaux à l'état fermé (s'ouvre qu'en présence de calcium). Quand elle est mutée elle va donc perdre sa fonction et donc le canal n'a plus de pression pour se maintenir à l'état fermé et bascule à l'état ouvert de manière totalement aléatoire. Il reste toujours stimulé par le calcium mais aussi de manière aléatoire et déclenche ces potentiels d'actions. Cela provoque des arythmies.

Il va donc falloir essayer de restabiliser ce canal pour qu'il ne s'ouvre qu'en présence de calcium suite à la stimulation par les canaux L. Un autre moyen de traiter la maladie est d'inhiber l'échangeur sodium/calcium, mais cela peut être dangereux car le but premier de cet échangeur est de faire sortir le calcium. Donc si on l'inhibe on va garder du calcium longtemps dans nos cellules et induire des contractions plus soutenues ce qui est dangereux.

### Exemple d'activité spontanée avec un mutant de RYR2



Sur cette image qui mesure le calcium intracellulaire. Il y a des stimulations qui représentent les potentiels d'action grâce à l'influx de calcium. A l'horizontale est représenté le temps et à la verticale l'épaisseur de la cellule. Les fausses couleurs représentent la concentration en calcium:

- bleu= faible calcium
- rouge/jaune= fort calcium

Entre chaque stimulation, nous revenons bien à du bleu, cela représente la relaxation. Il y a donc une **alternance de contraction et de relaxation**.

Si artificiellement j'arrête le nœud sinusal, il n'y a plus de potentiel d'action qui arrive et il n'y a plus de contraction.

Sur un animal qui a un récepteur muté, si nous bloquons le nœud sinusal, nous voyons apparaître des signaux calciques aléatoires. Dans un premier temps une partie du cœur se contracte et à un autre moment c'est l'autre partie du cœur qui va se contracter. C'est donc l'activité autonome du cœur qui apparaît.

### **C- Muscle Lisse**

Dans un muscle lisse, le calcium stimule la **calmoduline qui active la MLCK** qui induit la contraction. Nous avons une relation avec la concentration en calcium et le degré de phosphorylation de la myosine induite par le MLCK. Plus il y a de calcium, plus il y a de phosphorylations.

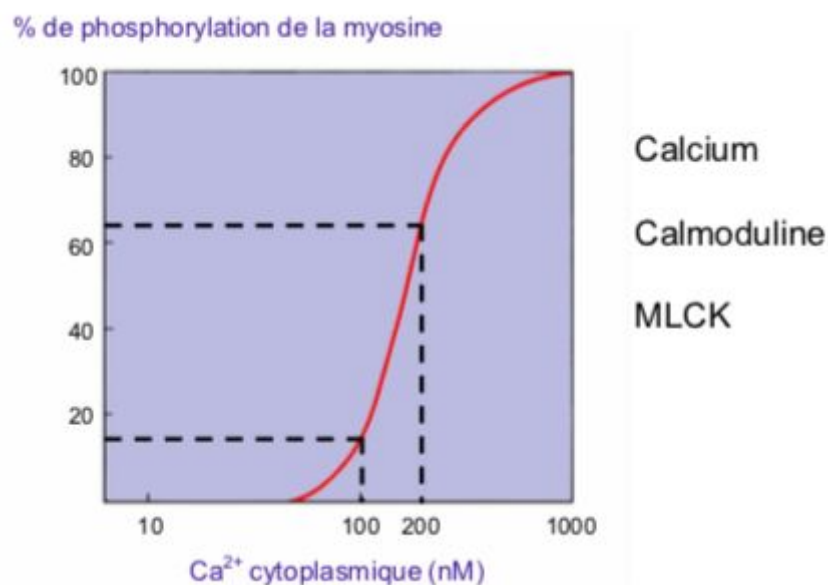


Dans un muscle lisse, il y a une **activité tonique**. Quand le muscle squelettique est au repos, il y a une stimulation nerveuse.

La spécificité du **muscle cardiaque** est une **activité rythmique**.

Le **muscle lisse** a lui une **activité tonique**. C'est-à-dire de base il a un certain degré de contraction et après nous allons venir moduler ce degré de contraction vers plus de contraction ou moins de contraction. Donc quand il y a une activité qui **dure dans le temps**, c'est une activité **tonique**.

Pourquoi il y a une activité tonique ? C'est parce que les concentrations de calcium dans le cytoplasme sont moyennement élevées de base, ce qui fait que l'on se retrouve entre les 2 zones et une contraction de base de la cellule.



**Donc une cellule musculaire lisse (vaisseaux, intestin) est toujours plus ou moins contractée.** La myosine est donc partiellement phosphorylée et le myocyte pas totalement relâché. Donc il existe un tonus de base qui permet des modulations dans les sens opposés (augmenter ou diminuer le tonus de base). Nous avons une quantité de base de calcium que l'on va soit augmenter soit diminuer.

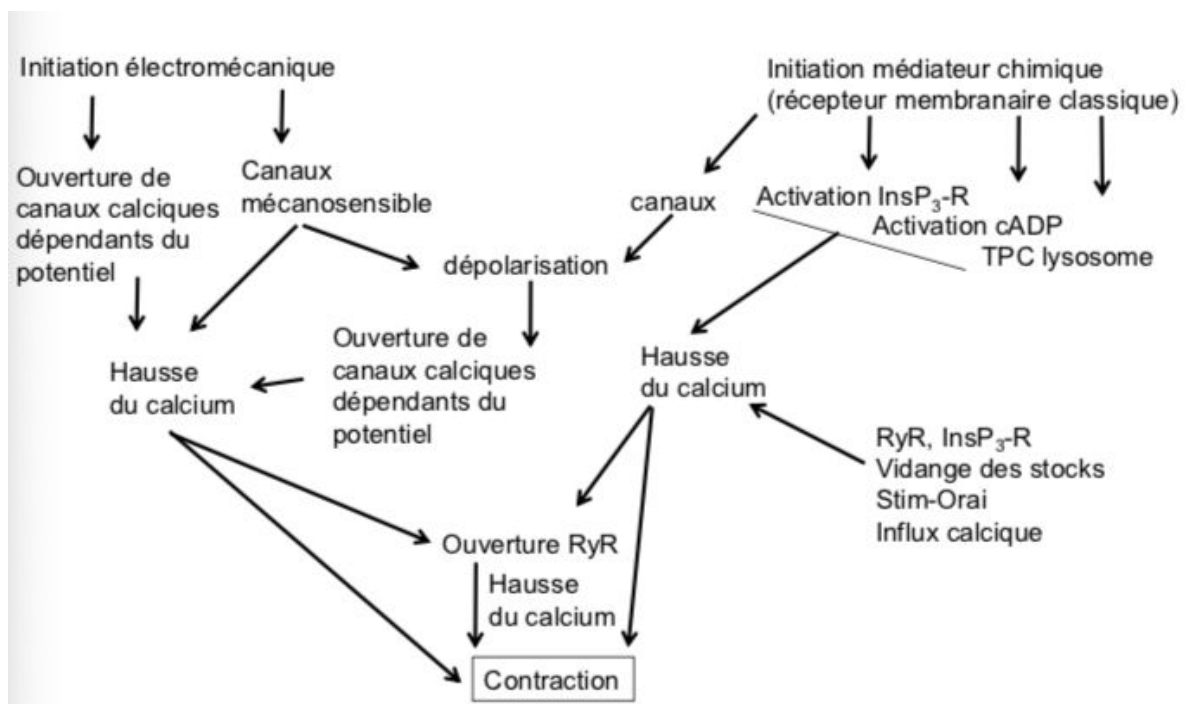
Comment peut-on augmenter le calcium ? C'est très compliqué. Car autant dans le muscle squelettique il y avait une source. Dans le muscle cardiaque c'est le couplage potentiel d'action/canaux L. Autant dans le muscle lisse, il y a des stimulus très différents qui vont permettre d'augmenter le calcium. Au niveau de la membrane d'un muscle lisse, il y a énormément de canaux et au niveau du réticulum des canaux à Ryanodine, des IP3. Et ils participent tous à la contraction.

Cela signifie que la cellule musculaire est un **intégrateur d'informations** car il faut plusieurs stimulus pour obtenir une contraction. C'est un réceptacle car il y a de très nombreuses voies.

Quelles sont les différentes voies possibles?

- Les **voies électromécaniques**: une dépolarisation ouvre les canaux calciques dépendants du potentiel va faire entrer du calcium, peut être amplifié par l'ouverture des canaux à la Ryanodine et permet la contraction.
- Les **canaux mécanosensibles**. Il en existe au niveau des cellules musculaires lisses qui permettent de sentir le tonus myogénique. Il y en a d'autres au niveau des cellules endothéliales qui permettent de mesurer le flux. Ces canaux sont activés par des forces mécaniques, généralement la pression artérielle. Ils vont faire entrer le calcium: hausse du calcium qui produit la contraction. Il peut y avoir un autre schéma avec l'entrée du calcium positive induisant une dépolarisation qui ouvre les canaux dépendant du potentiel... (toujours le même schéma)
- Les contractions dues aux **médiateurs chimiques**: les hormones ou neurotransmetteurs. Ils auront différentes cibles, soit ils activent différents canaux, soit ils sont couplés à une PLC pour produire de l'IP<sub>3</sub>: augmentation du calcium qui va lui-même activer les canaux à la ryanodine et induire la contraction. Pour chaque voie IP<sub>3</sub>, nous induisons une vidange des stocks qui active le système stim-orai qui permet aussi la contraction.

Dans une cellule vasculaire, tous les éléments sont présents en simultanée. Dans les cellules cardiaques et squelettiques, il y a généralement une voie majoritaire. Il n'y en a pas une qui est plus importante que les autres, elles fonctionnent toutes en même temps. *Il faut imaginer que dans notre corps il y a toujours du sang qui circule avec des hormones, il y a toujours un tonus avec une pression artérielle, des variances de potentiel...* Avec un rôle final important à chaque fois des Ryanodines.

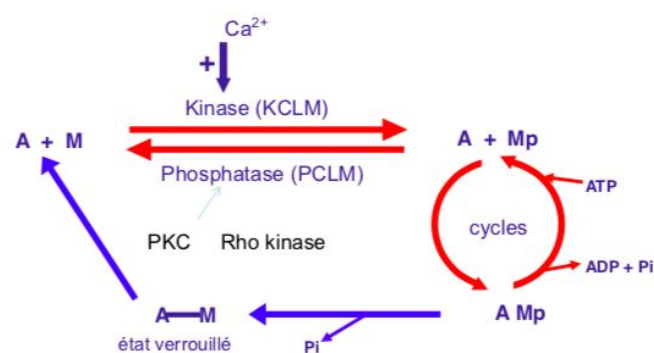


Le calcium du cytoplasme des cellules musculaires lisse contrôle le degré de contraction du muscle, mais aussi le degré d'expression du gène ou la prolifération.

L'altération des canaux calciques va être impliquée dans de nombreuses pathologies comme l'hypertension pulmonaire.

Pathologie: hypertension artérielle. Elle va induire une hypertrophie cardiaque mais aussi un remodelage des vaisseaux qui deviennent plus épais. Comme la pression artérielle s'élève, cela va agir sur les mécanorécepteurs qui vont faire entrer plus de calcium et celui-ci va entrer dans le noyau induisant la prolifération des cellules musculaires lisses.

#### D- Le couplage excitation- contraction



Le calcium va arriver en présence de la calmoduline va activer la kinase de la chaîne légère de la myosine qui permet la contraction. Il y aussi le retour pour la relaxation. Pour induire une contraction, il y a 2 moyens: **augmenter le calcium** ou alors une deuxième voie qui est indépendante du calcium, nous allons **inhiber la phosphatase** (garder la phosphorylation et donc maintien de la contraction).

Pour obtenir le couplage excitation/contraction, le calcium joue un rôle majeur dans la **voie de la kinase**. Par contre, il est possible de maintenir sa phosphorylation en jouant sur la phosphatase (inhibition de la phosphatase = maintien de la contraction). Il existe donc des voies de signalisation qui jouent sur la **phosphatase** qui permet de déphosphoryler la myosine. Ce sont des enzymes comme la PKC ou encore des petites protéines G comme la Rho et son intermédiaire la Rho kinase.

La phosphatase est active quelque soit le calcium. Quand le calcium est élevé, la kinase est activée et ainsi prédominance de la kinase sur la phosphatase → Contraction. Et quand le calcium est bas, la kinase est inactive et la phosphatase induit le relâchement.

Au niveau d'un vaisseau et d'un agent vaso contractant qui augmente la quantité de calcium (angiotensine par ex). Ce sont des hormones couplées aux protéines G et à la PLC, induction d'IP3, libération du calcium par le réticulum. Le calcium se lie à la Ryanodine pour activer la PLCK. La myosine va être **phosphorylée** induisant la **contraction**.

Pour maintenir la contraction, il existe une deuxième voie: la **voie des protéines G**.

Ces protéines vont agir sur la phosphatase et l'inhibe empêchant la relaxation. Nous jouons sur les 2 voies en même temps.

Il y a des médicaments qui empêchent la contraction: certains antagonistes d'autres jouent sur le calcium. Mais il pourrait en exister pour empêcher la relaxation en **inhibant l'inhibition de la relaxation → favorise la contraction** . Bien penser que l'on joue sur les 2 voies en même temps.