

Neurobiologie moléculaire et fonctionnelle

Chimie du système nerveux

2. La transmission synaptique

2.1. La transmission des signaux aux synapses chimiques

Le cycle fonctionnel de la quasi-totalité des neurotransmetteurs est semblable et comprend:

- synthèse et stockage dans des vésicules synaptiques,
- libération par la cellule présynaptique,
- liaison aux récepteurs postsynaptiques et, pour finir,
- élimination rapide et/ou dégradation.

La transmission qu'opèrent les synapses chimiques est fondée sur la succession complexe d'événements qu'illustre la figure 4. Le processus démarre avec l'arrivée d'un potentiel d'action envahissant la terminaison du neurone présynaptique. Le changement concomitant du potentiel de membrane provoque, dans la membrane présynaptique, l'ouverture de canaux calciques activés par le voltage. Etant donné le fort gradient de concentration du Ca^{2+} entre les deux côtés de la membrane présynaptique (la concentration externe du Ca^{2+} est d'environ 70^{-3} M alors que sa concentration interne n'est que d'environ 10^{-7} M, l'ouverture de ces canaux provoque une rapide entrée de Ca^{2+} dans la terminaison présynaptique. Cette entrée de calcium fait passer sa concentration dans le cytoplasme de la terminaison, d'un niveau normalement faible à un niveau beaucoup plus élevé. Cet accroissement de la concentration présynaptique du Ca^{2+} entraîne une fusion des vésicules synaptiques avec la membrane plasmique du neurone présynaptique, processus qui dépend du Ca^{2+} . La fusion des vésicules synaptiques avec la membrane terminale s'accompagne de la libération de leur contenu, des neurotransmetteurs pour l'essentiel, dans la fente synaptique.

À la suite de cette exocytose, les neurotransmetteurs diffusent dans toute la fente synaptique et se lient à des récepteurs spécifiques de la membrane du neurone postsynaptique. La liaison du neurotransmetteur avec les récepteurs entraîne l'ouverture (ou quelquefois la fermeture) de canaux de la membrane postsynaptique, modifiant ainsi la capacité des ions à entrer dans les cellules postsynaptiques. Le courant qui s'ensuit, induit par le neurotransmetteur, modifie la conductance et (d'ordinaire) le potentiel de membrane du neurone postsynaptique, augmentant ou réduisant la probabilité que ce neurone émette un potentiel d'action. Et c'est ainsi que l'information se transmet d'un neurone à un autre.

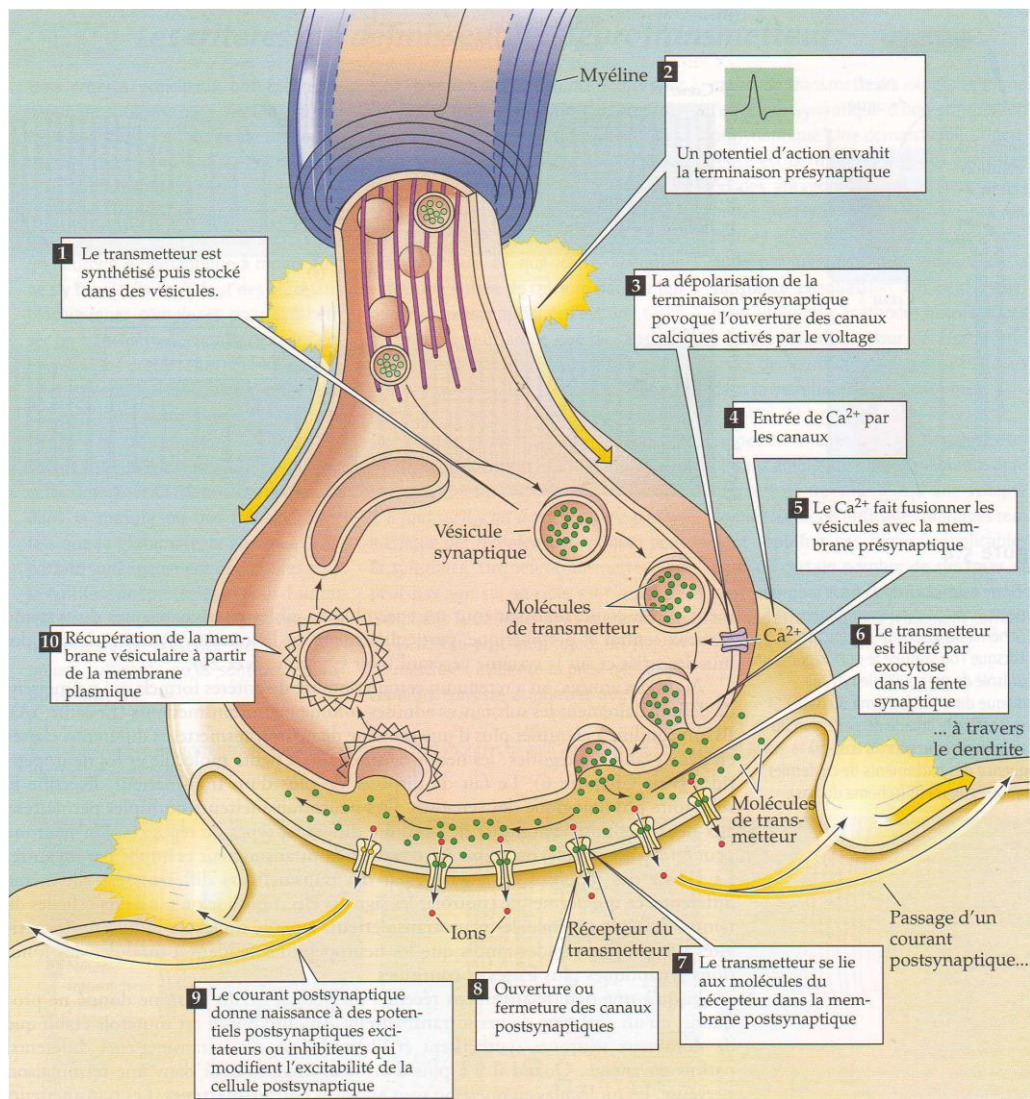


Figure 5. Succession des événements intervenant lors de la transmission par une synapse chimique typique.

2.2. Le recyclage local des vésicules synaptiques

La fusion des vésicules synaptiques a pour conséquence l'addition de nouveaux éléments membranaires à la membrane plasmique de la terminaison présynaptique; mais il ne s'agit pas d'un ajout permanent. Et même si un épisode d'exocytose intensive peut augmenter considérablement la surface des terminaisons présynaptiques, ce surplus de membrane s'élimine en quelques minutes.

Heuser et Reese ont montré que la membrane des vésicules fusionnées est en réalité récupérée et réintégrée dans le cytoplasme de la terminaison nerveuse par un processus d'endocytose.

La membrane de la vésicule synaptique est recyclée dans la terminaison synaptique selon la succession d'événements que résume la figure 6.

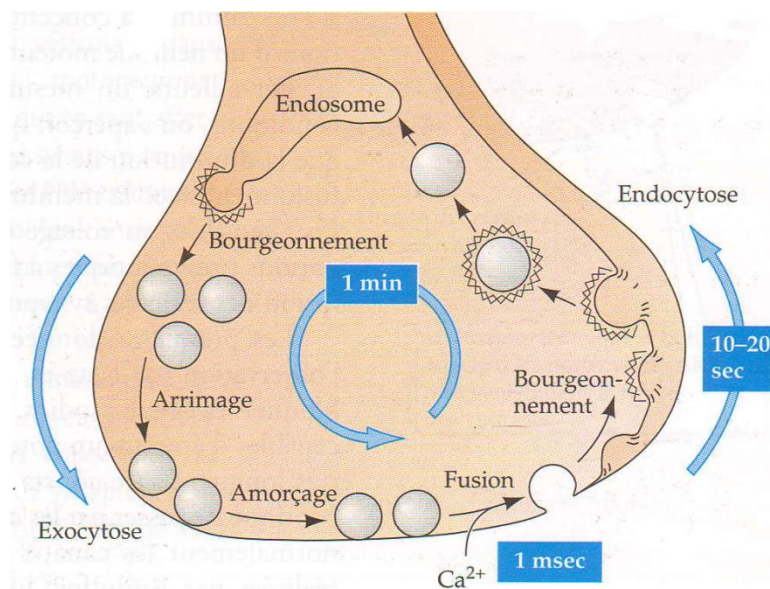


Figure 6. Recyclage local des vésicules synaptiques dans les terminaisons présynaptiques. La fusion, régulée par le calcium, des vésicules avec la membrane présynaptique est suivie d'une récupération de la membrane vésiculaire par endocytose, par l'intermédiaire des vésicules recouvertes et des endosomes, puis de la reconstitution de nouvelles vésicules synaptiques.

Durant cette séquence, dite **cycle de la vésicule synaptique**, la membrane vésiculaire récupérée passe par divers compartiments intracellulaires (vésicules recouvertes et endosomes) et est finalement réutilisée pour former de nouvelles vésicules synaptiques. Ces nouvelles vésicules sont mises en réserve dans le cytoplasme jusqu'à ce qu'il y ait besoin d'elles pour une autre libération de neurotransmetteurs. Elles quittent alors le stock de réserve, s'arriment sur la membrane plasmique et s'amorcent pour recommencer à participer à une exocytose. Des expériences récentes utilisant un marqueur fluorescent ont précisé le déroulement temporel du recyclage des vésicules synaptiques. Leurs résultats indiquent que le cycle de la vésicule synaptique dure au total à peu près 1 minute et que, sur ce temps, 10 à 20 secondes sont prises par le bourgeonnement de la membrane durant l'endocytose. Comme on peut le constater d'après le délai d'une milliseconde qu'exige la transmission faisant suite à l'excitation d'une terminaison présynaptique, la fusion membranaire lors de l'exocytose est beaucoup plus rapide que le bourgeonnement lors de l'endocytose. Toutes les étapes du recyclage, qui vont du bourgeonnement de la membrane à la formation subséquente d'une nouvelle vésicule, prennent donc moins d'une minute.

Les précurseurs des vésicules synaptiques sont, à l'origine, synthétisés au sein du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi, dans le corps cellulaire du neurone. Compte tenu de la distance qui, dans la plupart des neurones, sépare le corps cellulaire des terminaisons présynaptiques, le transport de vésicules à partir du soma ne permettrait pas de refaire rapidement le plein de vésicules en cas d'activité continue. Le recyclage local est donc parfaitement adapté aux particularités de l'anatomie des neurones et il permet aux terminaisons présynaptiques de disposer en permanence de vésicules.

2.3. Le rôle du calcium dans la sécrétion des transmetteurs

Des expériences de Katz et autres décrites que si l'on diminue la concentration du calcium à l'extérieur de la terminaison présynaptique d'un neurone moteur, on réduit la taille du potentiel de plaque motrice (PPM). La raison pour laquelle les PPM deviennent plus petits est que la diminution de la concentration de Ca^{2+} fait baisser le nombre de vésicules qui fusionnent avec la membrane plasmique de la terminaison. La découverte de canaux Ca^{2+} sensibles au voltage dans la membrane plasmique des terminaisons présynaptiques a fourni un indice important sur la façon dont le Ca^{2+} régule la fusion des vésicules synaptiques.

Des expériences réalisées par Rodolfo Llinás et autres sur la terminaison présynaptique géante du calmar, ont confirmé la présence de canaux calciques activés par le voltage dans la terminaison présynaptique. Ces expériences ont montré que la quantité de neurotransmetteur libérée dépend au plus haut point de la quantité

précise de Ca^{2+} qui entre. Par ailleurs, le blocage pharmacologique de ces canaux Ca^{2+} inhibe la libération du neurotransmetteur. Ces observations confirment toutes que les canaux Ca^{2+} activés par le voltage interviennent directement dans la neurotransmission. Au total, les potentiels d'action présynaptiques ouvrent des canaux Ca^{2+} activés par le voltage et provoquent ainsi une entrée de Ca^{2+} .

Les conséquences de cette augmentation de la concentration présynaptique du Ca^{2+} sur la libération du transmetteur ont été mises en évidence de deux façons. Tout d'abord, une micro-injection de Ca^{2+} directement dans les terminaisons présynaptiques déclenche la libération de transmetteur en l'absence même de potentiels d'action présynaptiques. Ensuite, des micro-injections présynaptiques de chélateurs du calcium empêchent les potentiels d'action présynaptiques de déclencher la sécrétion de transmetteur. Tous ces résultats prouvent donc sans doute possible que l'augmentation de la concentration présynaptique de calcium est à la fois nécessaire et suffisante pour la libération du transmetteur.

2.4. Les mécanismes moléculaires de la sécrétion des transmetteurs

Il n'est pas encore connu en détail comment une augmentation de la concentration présynaptique de calcium parvient à déclencher la fusion des vésicules et la libération du neurotransmetteur. Les travaux de biologie moléculaire entrepris pour identifier et caractériser les protéines des vésicules synaptiques et de leurs sites de fixation sur les membranes plasmiques présynaptiques et dans le cytoplasme ont cependant fourni plusieurs indices importants. La plupart de ces protéines, sinon toutes, agissent à une ou plusieurs étapes du cycle de la vésicule synaptique.

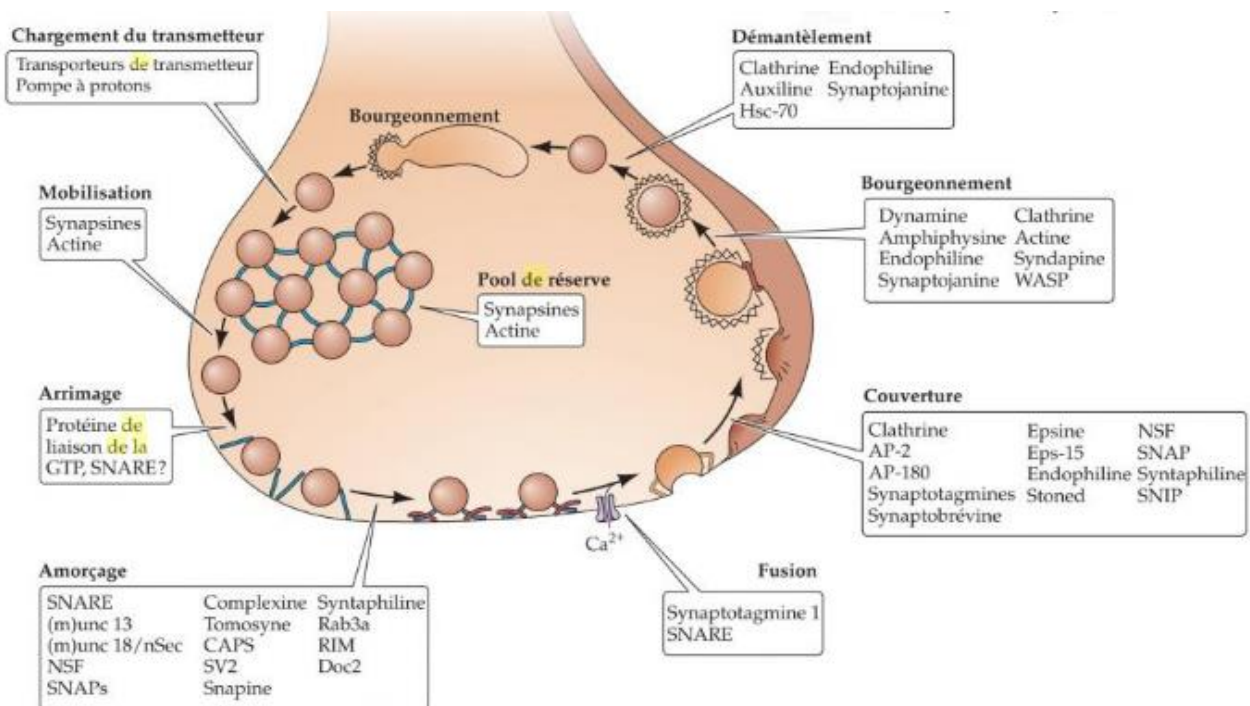


Figure 7. Protéines présynaptiques impliquées dans le cycle des vésicules synaptiques. On sait aujourd'hui que le cycle de la circulation des vésicules (ou trafic vésiculaire) que schématise la figure 5 met en jeu un certain nombre de molécules; des protéines distinctes interviennent dans les différents processus du cycle.

Un faisceau de données indique que la **synapsine**, protéine qui se lie de façon réversible aux vésicules synaptiques, peut accrocher les vésicules entre elles pour les maintenir immobilisées dans le stock de réserve. La mobilisation, on dès vésicules de réserve résulte d'une, phosphorylation de la synapsine par des protéine-kinases, tout particulièrement par la **protéine-kinase Ca^{2+} -calmoduline dépendante de type II** (CaMKII). Cette phosphorylation permet à la synapsine de se dissocier des vésicules. Une fois libérées des attaches qui les renaient dans le stock de réserve, elles se dirigent vers la membrane plasmique à laquelle elles s'arriment par des processus qui impliquent les **protéines SNARE**. Une série de réactions d'amorçage prépare alors la membrane plasmique et celle des vésicules à fusionner l'une avec l'autre. Un grand nombre

de protéines sont impliquées dans l'amorçage, dont certaines participent aussi à d'autres processus de la fusion membranaire, que l'on retrouve dans toutes les cellules (Figure 7).

(L'acronyme SNARE : SNAP REceptor, récepteur des protéines SNAP; SNAP : Soluble NSF Attachment Proteins, protéines solubles d'attachement de la NSF : NEM- Sensitive Fusion protein ou protéine de fusion sensible à la NEM [N-éthylmaleimide]).

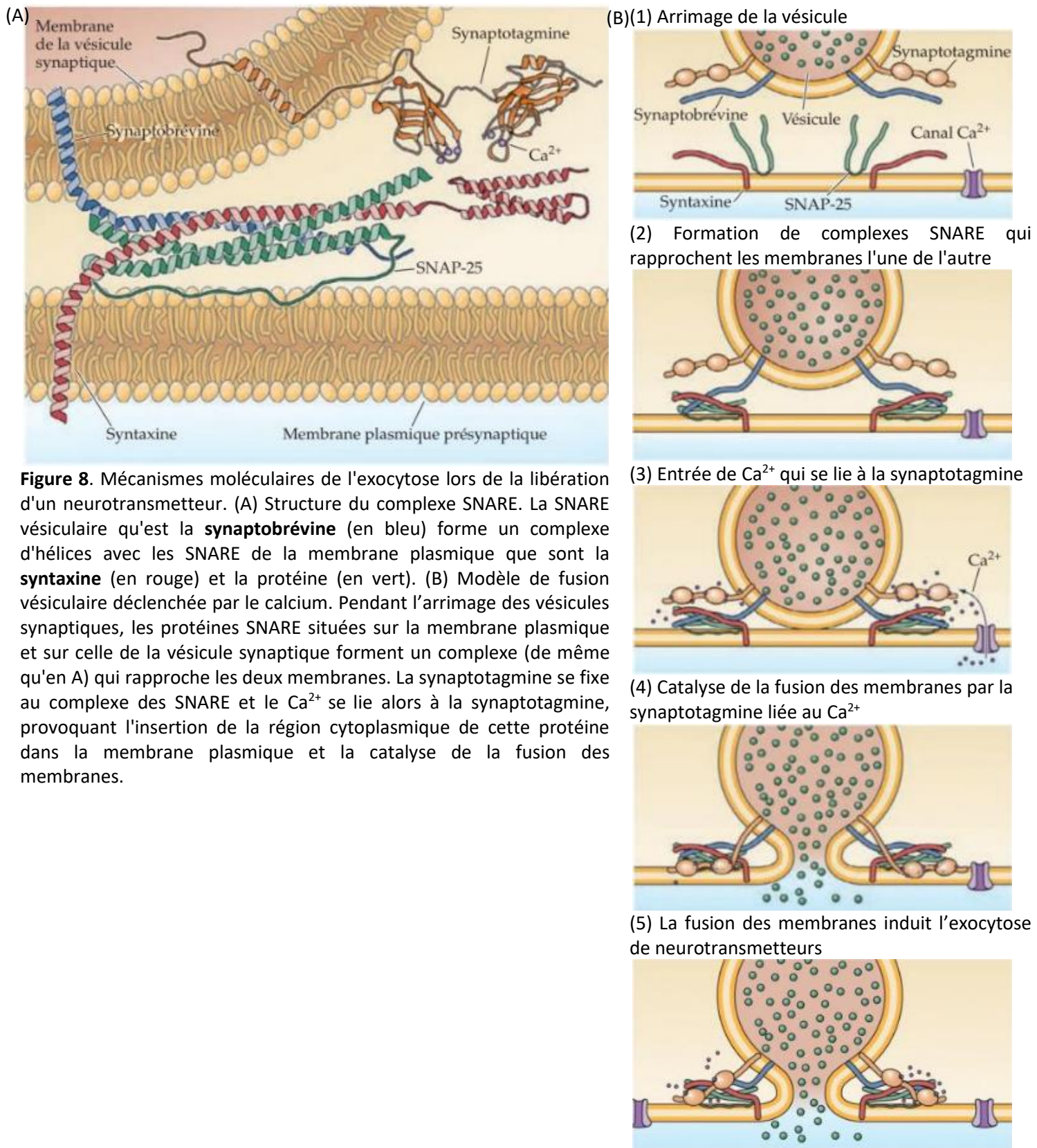


Figure 8. Mécanismes moléculaires de l'exocytose lors de la libération d'un neurotransmetteur. (A) Structure du complexe SNARE. La SNARE vésiculaire qu'est la **synaptobrevine** (en bleu) forme un complexe d'hélices avec les SNARE de la membrane plasmique que sont la **syntaxine** (en rouge) et la protéine (en vert). (B) Modèle de fusion vésiculaire déclenchée par le calcium. Pendant l'arrimage des vésicules synaptiques, les protéines SNARE situées sur la membrane plasmique et sur celle de la vésicule synaptique forment un complexe (de même qu'en A) qui rapproche les deux membranes. La synaptotagmine se fixe au complexe des SNARE et le Ca^{2+} se lie alors à la synaptotagmine, provoquant l'insertion de la région cytoplasmique de cette protéine dans la membrane plasmique et la catalyse de la fusion des membranes.

L'un des objectifs principaux de l'amorçage paraît être d'organiser les protéines SNARE selon la conformation adéquate pour la fusion des membranes. L'une de ces protéines SNARE, la **synaptobrevine**, se trouve dans la membrane des vésicules synaptiques, tandis que deux autres, la **syntaxine** et la **SNAP-25**,

se trouvent principalement dans la membrane plasmique. Ces protéines SNARE peuvent former un complexe macromoléculaire traversant les deux membranes et susceptible ainsi de les mettre en étroite apposition (Figure 8A).

Plusieurs protéines présynaptiques, dont la calmoduline, la CAPS et la munc-13, sont capables de lier le Ca^{2+} . Cependant, il semble que la régulation calcique de la libération du neurotransmetteur est permise par une protéine que l'on trouve dans la membrane des vésicules synaptiques, la **synaptotagmine** (Figure 8A).

La synaptotagmine lie le Ca^{2+} à des concentrations comparables à celles qui, dans les terminaisons présynaptiques, sont connues pour déclencher l'exocytose des vésicules. Elle peut de ce fait jouer le rôle d'un détecteur de Ca^{2+} , signalant que celui-ci augmente, la terminaison et déclenchant ainsi la fusion des vésicules. On notera, à l'appui de cette conception, que les altérations de la synaptotagmine des terminaisons présynaptiques, de souris, de drosophile, de calmar et d'autres espèces animales détériorent la libération de neurotransmetteur dépendante du calcium. Et même, la délétion chez la souris d'un seul des 17 gènes de la synaptotagmine (SYT) constitue une mutation létale qui provoque la mort des animaux peu après leur naissance. La liaison du calcium à la synaptotagmine change ses propriétés chimiques et lui permet de s'insérer dans la membrane plasmique. Ceci provoque une courbure locale de la membrane plasmique et entraîne la fusion des deux membranes. Les protéines SNARE rapprochent donc les deux membranes l'une de l'autre et les modifications de la synaptotagmine induites par le calcium déclenchent alors les dernières étapes de la fusion de ces membranes.

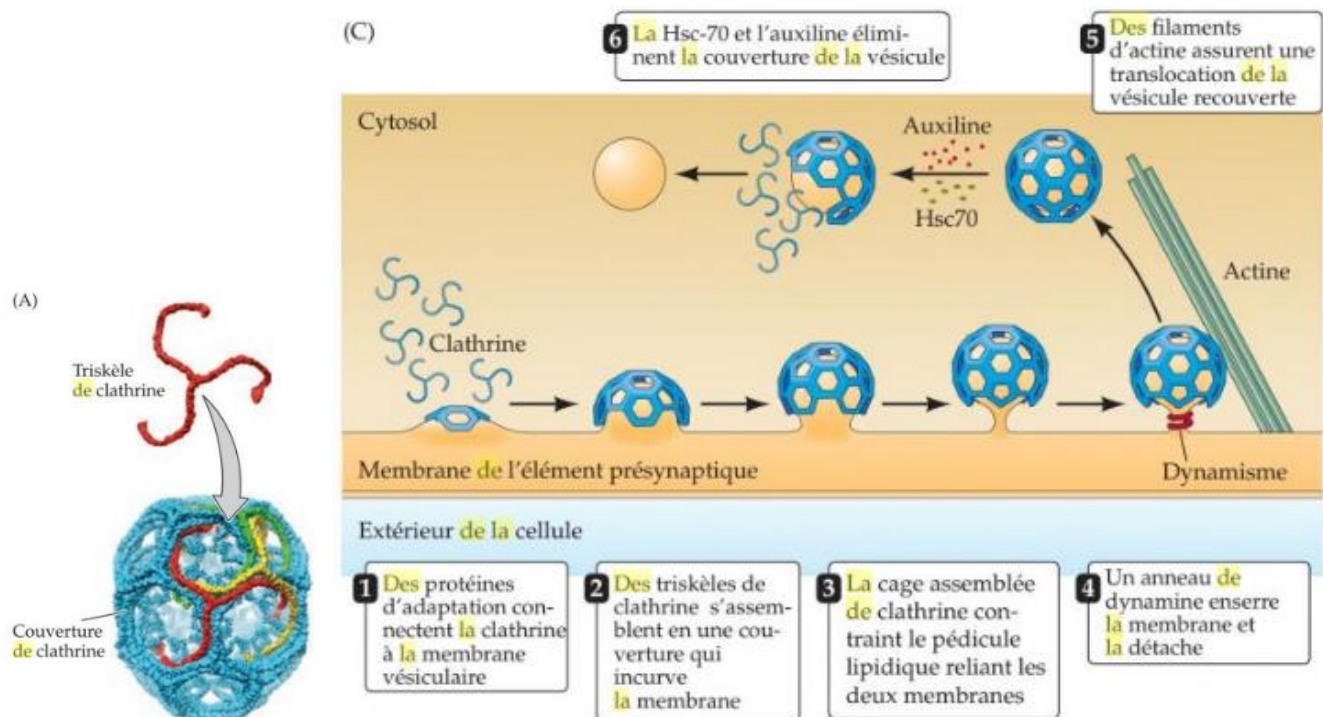


Figure 9. Mécanismes moléculaires de l'endocytose faisant suite à la libération d'un neurotransmetteur. (A) Des triskèles de clathrine s'assemblent pour former les couvertures de la membrane impliquées dans le bourgeonnement membranaire lors de l'endocytose. (C) Modèle pour le bourgeonnement membranaire lors de l'endocytose. Après un apport de membrane de vésicule synaptique lors de l'exocytose, des triskèles de clathrine se fixent sur la membrane vésiculaire; leur fixation est facilitée par des protéines d'adaptation (comme IAp-2 et IAp-180). La polymérisation de la clathrine induit une courbure de la membrane permettant à la dynamine de détacher la vésicule recouverte. Par la suite, le démantèlement de la couverture de la vésicule par l'ATPase, Hsc-70 ayant l'auxiline pour cofacteur aboutira à une vésicule synaptique.

Aux stades ultérieurs du cycle de la vésicule synaptique, lors de l'endocytose, ce sont encore d'autres protéines qui sont à l'œuvre (Figure 9). La **clathrine**, par exemple, est la plus importante des protéines qui interviennent, lors de l'endocytose, dans le bourgeonnement des vésicules à partir de la membrane plasmique. La clathrine présente une structure particulière appelée triskèle (du grec *triskelion* qui signifie tripode) à cause de son aspect à trois pattes (Figure 9A). Durant l'endocytose, les triskèles de clathrine

s'attachent à la membrane vésiculaire à récupérer (Figure 9C). Un certain nombre de protéines d'adaptation telles que l'AP-2 et l'AP-180 connectent la clathrine aux protéines et aux lipides de la membrane. Ces protéines d'adaptation ainsi que d'autres protéines comme l'amphiphysine, l'epsine et l'Eps-15 aident à l'assemblage des triskèles individuels en structures ressemblant à des dômes géodésiques (Figure 9C). Ces structures en dôme forment les puits recouverts par lesquels commence le bourgeonnement de la membrane; elles augmentent la courbure du bourgeon membranaire jusqu'à ce qu'il prenne l'aspect d'une vésicule recouverte qui reste reliée à la membrane plasmique par une pédoncule étroite. Une autre protéine, la **dynamine**, forme une spirale annulaire qui entoure le pédoncule lipidique. Cette spirale provoque le pincement final de la membrane qui coupe le pédoncule et complète la production de vésicules recouvertes. Les vésicules recouvertes sont ensuite transportées loin de la membrane plasmique par l'actine. Les couvertures de clathrine sont alors enlevées par une ATPase, la **Hsc70**, avec une autre protéine, l'**auxiline**, comme cofacteur.

D'autres protéines, telles que la **synaptojanine**, jouent également un rôle important pour enlever la couverture des vésicules. Une fois découvertes, les vésicules peuvent continuer leur parcours dans le processus de recyclage; elles finiront par être de nouveau remplies de neurotransmetteurs grâce à l'intervention de transporteurs de neurotransmetteurs présents dans la membrane vésiculaire. Ces transporteurs échangent des protons de l'intérieur de la vésicule pour des neurotransmetteurs; l'acidité de l'intérieur de la vésicule est fournie par une pompe à protons située elle aussi dans la membrane vésiculaire.

En résumé, pour que les neurones sécrètent les neurotransmetteurs, il faut une cascade de protéines agissant selon une organisation temporelle et spatiale précise. Cette cascade moléculaire sous-tend une importante capacité du cerveau à utiliser ses synapses pour traiter et stocker l'information.