

Transmission synaptique : le calcium sous haute surveillance

Le rôle joué dans la transmission synaptique par l'entrée de calcium dans la terminaison axonale a été suggéré dès les années 50 par Katz *et al.* [1]. La transmission d'un influx au niveau d'une synapse neuromusculaire est en effet bloquée lorsque la préparation est baignée par un milieu dépourvu de calcium. Comme cette interruption s'accompagne d'une préservation du potentiel d'action pré-synaptique d'une part, de l'action du transmetteur sur les structures post-synaptiques d'autre part, c'est au niveau de la libération du neurotransmetteur que s'exerce l'effet de l'ion. C'est effectivement ce qu'ont démontré, en 1985, Augustine *et al.* [2] sur la synapse de l'axone géant de calamar grâce à des expériences en voltage imposé. L'augmentation du calcium intracellulaire dans le bouton synaptique en l'absence d'une dépolarisation stimule effectivement la libération du neurotransmetteur. L'utilisation de colorants fluorescents sensibles à la concentration de calcium (comme fura-2) a permis de montrer que l'augmentation du calcium intracellulaire apparaît très tôt après l'arrivée du potentiel d'action, ce qui suggère fortement l'intervention de canaux calcium dépendants du voltage (figure 1). Plusieurs sous-types de ces canaux ont été mis en évidence et différenciés grâce à leurs propriétés physiologiques et pharmacologiques. On reconnaît ainsi des canaux T et L en fonction de leurs vitesses d'activation et d'inactivation,

des canaux N qui ont des propriétés intermédiaires et des canaux P. Les canaux T semblent participer à des courants produisant des influx rythmiques. Takahashi et Momiyawa (Kyoto, Japon) [3] ont tenté de déterminer lequel (ou lesquels) parmi les trois autres joue(nt) un rôle direct dans la libération des neurotransmetteurs par la terminaison synaptique dans le système nerveux central. Grâce à trois agents pharmacologiques bloquant de

façon spécifique chacun des sous-types de canaux (ω -conotoxine GVIA pour le canal N, ω -aga-IVA pour le canal P et nifedipine pour le canal L), ils ont exclu le canal L et montré qu'une large proportion des canaux impliqués sont de type P avec une participation plus faible des canaux de type N. Il existe donc deux sous-types, au moins (car d'autres sous-types, encore méconnus, pourraient être mis en évidence), de canaux calcium dépendants

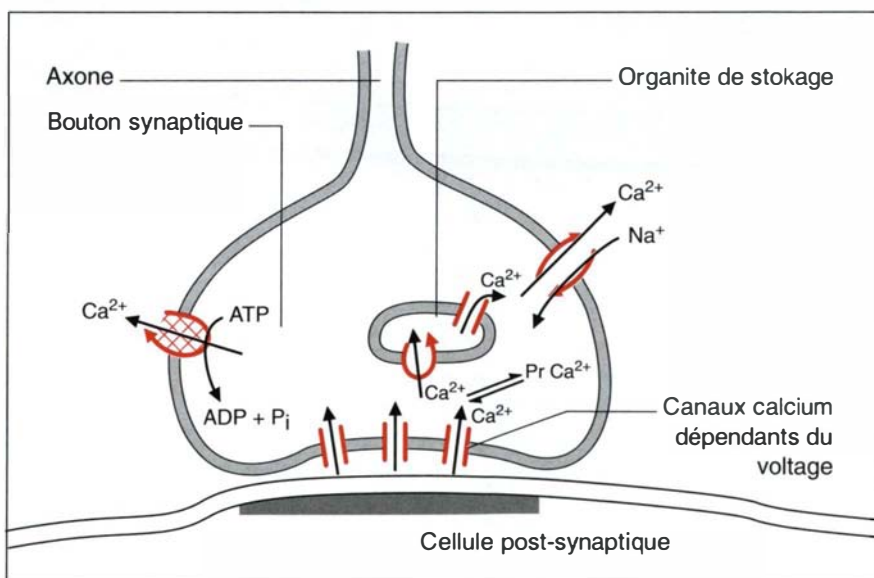


Figure 1. **Circuit du calcium dans la terminaison synaptique à la suite d'une dépolarisation.** Le calcium pénètre massivement au niveau de la « zone active » où il stimule la libération du transmetteur. Il diffuse ensuite dans l'ensemble du bouton synaptique dans lequel il se lie à des protéines (Pr.), est capté par des organites de stockage ou excrété activement par des pompes Na^+/Ca^{2+} ou Ca^{2+} -ATPase.

dants du voltage au niveau de la « zone active » des terminaisons axonales dans le système nerveux central. Ces canaux possédant des sites régulateurs différents, la libération des neurotransmetteurs apparaît modulable à ce niveau.

Une fois dans la terminaison synaptique, le calcium libre est-il directement responsable de la libération du neurotransmetteur ? Cette question légèrement iconoclaste vient de trouver, dans une étude réalisée par Blundon *et al.* (université du Texas, USA) [4], une réponse qui ne l'est pas moins. Ces auteurs ont en effet observé chez le poisson que l'accroissement de la concentration intracellulaire du calcium est beaucoup trop bref (1 à 4 msec) pour expliquer la durée (7 à 43 msec) pendant laquelle la libération du neurotransmetteur est stimulée. Une concentration intracellulaire identique de calcium libre induit par ailleurs des facilitations d'importance très diverse. Il n'existerait donc pas de lien direct entre calcium libre et facilitation de la libération du neurotransmetteur. Ces résultats, qui répondent à des interrogations soulevées ces dernières années, suggèrent que le calcium aurait besoin de se lier à des molécules situées dans la zone active du bouton synaptique pour agir sur la libération du neurotransmetteur. De ce fait, des éléments de contrôle assumant une modulation complexe de la transmission synaptique pourraient agir à ce niveau également.

M.P.

■■■ Une deuxième zone instable dans le gène X fragile. La mutation du gène X fragile est la cause la plus fréquente de retard mental ; sa base moléculaire est un mécanisme original d'expansion d'un triplet répété (CGG) n dans la partie 5' non traduite du gène FMR-1. Les études épidémiologiques et familiales ont permis de définir un certain nombre de sous-groupes selon l'importance de l'expansion : sujets normaux ($n = 5$ à 50), zone intermédiaire ($n = 45$ à 60), transmettrices sûres ($n > 60$). Comme dans d'autres affections — identifiées ultérieurement et dont le défaut génétique est le même type d'expansion — la dystrophie myotonique et la chorée de Huntington, on a cherché à retrouver un effet fondateur par la mise en évidence d'un déséquilibre de liaison avec des sites polymorphes. Dans une première série de travaux, on a ainsi défini deux microsatellites, situés de part et d'autre de la mutation (CGG) n et polymorphes, FRAXAC1 (AC1) et FRAXAC2 (AC2), ce dernier à 10 kb en 3', dans le deuxième intron du gène. Un troisième microsatellite polymorphe, DXS548, 150 kb plus loin, confirmait les premiers résultats en faveur d'un déséquilibre de liaison. Ces résultats ont été partiellement remis en question par l'exploration des relations entre (CGG) n d'une part, et AC1 et AC2 d'autre part, dans une nouvelle série de 262 chromosomes, dont 125 provenaient de sujets normaux, et 137 de sujets présentant le syndrome de l'X fragile. Une liaison précise a bien été retrouvée entre la mutation pathogène et AC1 (AC variant de 17 à 21). La valeur statistique de l'association est forte ($\chi^2 = 29,2$; $p < 0,001$). Ces résultats s'accordent bien avec la notion d'un effet fondateur : un événement génétique rare aurait créé initialement la mutation (CGG) $n > 35$, transmise et servant de réservoir pour des fluctuations de taille ultérieures, qui peuvent aboutir aux cas pathologiques. Dans le cas de AC2, en revanche, le phénomène s'est avéré plus complexe. La taille du microsatellite,

amplifié par PCR, est le plus souvent de 142 à 153 nt, dans quelques cas supérieure, jusqu'à 159 nt. La détermination de séquence de tous les produits d'amplification a surtout montré qu'il n'y avait pas répétition d'un dinucléotide unique, mais coexistence de trois variables du type (GT) x -C-(TA) y -(T) z , une longueur finale identique pouvant être le résultat de différentes combinaisons. Aucun déséquilibre de liaison significatif n'a pu, par ailleurs, être trouvé. L'étape suivante a été l'étude de trente-huit familles, dont trente-deux étaient des familles de malades, et six, à titre de contrôle, des familles du Centre d'études du polymorphisme humain. Une étude systématique de la structure de AC2 a montré un taux de recombinaison méiotique supérieur à la normale chez les transmettrices sûres (4/121, soit 3,3 %) et nul chez les femmes normales (0/160). Ces résultats sont très significatifs ($\chi^2 = 18,92$; $p < 0,001$). L'existence de cette mutabilité d'un microsatellite pose ainsi plusieurs questions. Elle démontre les précautions à prendre dans l'interprétation de certains polymorphismes quand leur stabilité n'est pas établie. Quelle est, par ailleurs, la signification de la mutabilité de ce microsatellite, le premier jusqu'à présent à présenter trois variables ? Le voisinage d'une séquence *Alu* pourrait entrer en ligne de compte, ainsi que des contraintes favorisant certaines longueurs, puisque la distribution de celles-ci n'est pas aléatoire. Il faut remarquer, cependant, que le phénomène n'est observé que sur le chromosome X fragile, et non sur le chromosome normal : le gène FMR-1 lui-même doit donc avoir un rôle. Et se pose le problème de deux séquences mutables situées dans le même gène à ≈ 10 kb l'une de l'autre, toutes deux fonction du sexe et de la maladie, ce qui ne semble pas une simple coïncidence, et du mécanisme potentiellement responsable de ce phénomène.

[Zhong N, *et al.* *Nature Genet* 1993; 5 : 248-52.]

1. Katz B. Nerve, muscle and synapse, New York, McGraw-Hill: 1966.
2. Augustine GJ, Charlton MP, Smith SJ. Calcium entry and transmitter release at voltage-clamped nerve terminals of squid. *J Physiol* 1985; 367: 163-81.
3. Takahashi T, Momiya A. Different types of calcium channels mediate central synaptic transmission. *Nature* 1993; 366: 156-8.
4. Blundon JA, Wright SN, Brodwick MS, Bittner GD. Residual free calcium is not responsible for facilitation of neurotransmitter release. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 9388-92.