

NEUROSCIENCES & comportements

2^{ème} partie : Neurobiologie moléculaire

Chapitre 6 – LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE (fascicule 2/3)

LA TRANSMISSION NEUROMUSCULAIRE

I – LA PLAQUE MOTRICE

Les axones des motoneurones de la corne ventrale de la moelle épinière se terminent par des synapses sur les fibres musculaires striées (muscles squelettiques). Ces synapses, et plus spécialement leur partie présynaptique, se nomment plaques motrices ou jonctions neuro-musculaires (fig. 1). Elles présentent toutes les caractéristiques anatomiques des synapses chimiques, ce qui nous permet, bien que l'élément cellulaire postsynaptique soit une fibre musculaire striée, et non une cellule nerveuse, de définir les principaux éléments constitutifs d'une synapse.

L'extrémité axonique forme la terminaison présynaptique. Vue au microscope, elle se présente souvent comme un élargissement de la partie distale de l'axone (fig. 2 et 3); on nomme cet élargissement le bouton synaptique. La terminaison présynaptique est séparée de la région postsynaptique par un étroit espace mesurant 10 à 50 nm (100 à 500 Å) : c'est l'espace synaptique. On ne peut le discerner nettement qu'au microscope électronique.

La partie de la membrane qui fait face à la terminaison présynaptique et qui limite l'espace synaptique se nomme membrane postsynaptique. Elle se présente au microscope électronique comme un épaississement de la membrane de la cellule à laquelle elle appartient, ce qui indique quelques particularités de ses fonctions.

La terminaison présynaptique contient un grand nombre de structures sphériques submicroscopiques, visibles seulement au microscope électronique et qui ont été dénommées vésicules synaptiques. Elles ont environ 50 nm (500 Å) de diamètre. De nombreuses preuves expérimentales dont nous présenterons ci-dessous les plus importantes, convergent et permettent de penser que les terminaisons présynaptiques renferment une substance jouant le rôle de transmetteur, laquelle est rejetée dans l'espace synaptique au moment où l'excitation atteint le bouton synaptique. Cette substance engendre l'excitation, ici, (ou l'inhibition parfois) de la membrane postsynaptique.

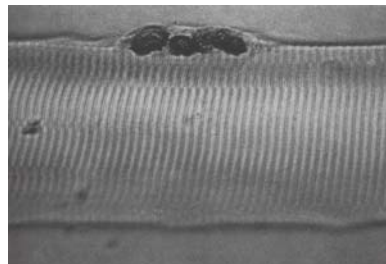


Fig. 1 – Micrographie d'une fibre musculaire (striée) mettant en évidence l'appareil sous-neural d'une plaque motrice (partie sombre: mise en évidence de l'activité acétylcholinestérasique de la plaque motrice par la technique de Koëlle)(X 650).

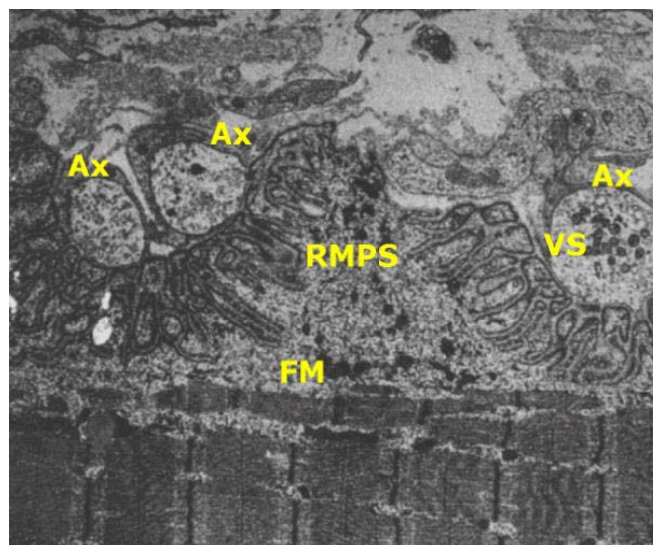


Fig. 2 – Microélectrographie d'une section longitudinale d'une fibre musculaire passant par la zone équatoriale d'une plaque motrice montrant les axones terminaux (Ax) et les replis de la membrane postsynaptique (sarcolemmique; RMPS) qui forment l'appareil sous-neural; FM, fibre musculaire; VS, vésicules synaptiques. Microphotographie X 7 000.

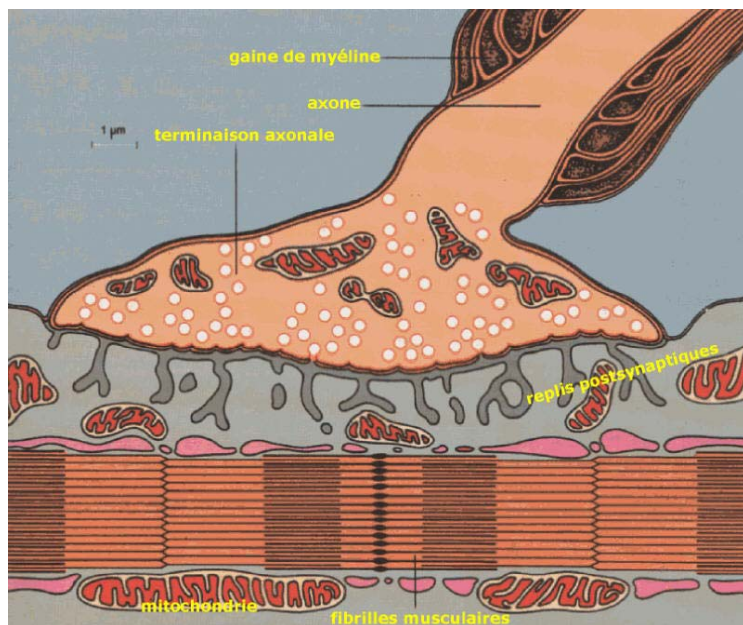


Fig. 3 - Section schématique au travers d'une plaque motrice.

Les vésicules synaptiques sont représentées comparativement aux autres éléments de la synapse avec une taille plus grande que leur taille réelle. On n'a représenté qu'une partie de la fibre musculaire.

II – MISE EN EVIDENCE DU POTENTIEL DE PLAQUE MOTRICE

Il est possible de prélever par dissection *in vivo* de tels muscles et les nerfs qui les desservent. Placés dans une solution physiologique (par exemple liquide de Ringer ou solution de Tyrode), ils conservent pendant quelque temps leurs capacités fonctionnelles. Le gastrocnémien de grenouille ou les muscles sartorius (avec les nerfs de même nom), le diaphragme de rat avec le nerf phrénique, sont des préparations fort utilisées.

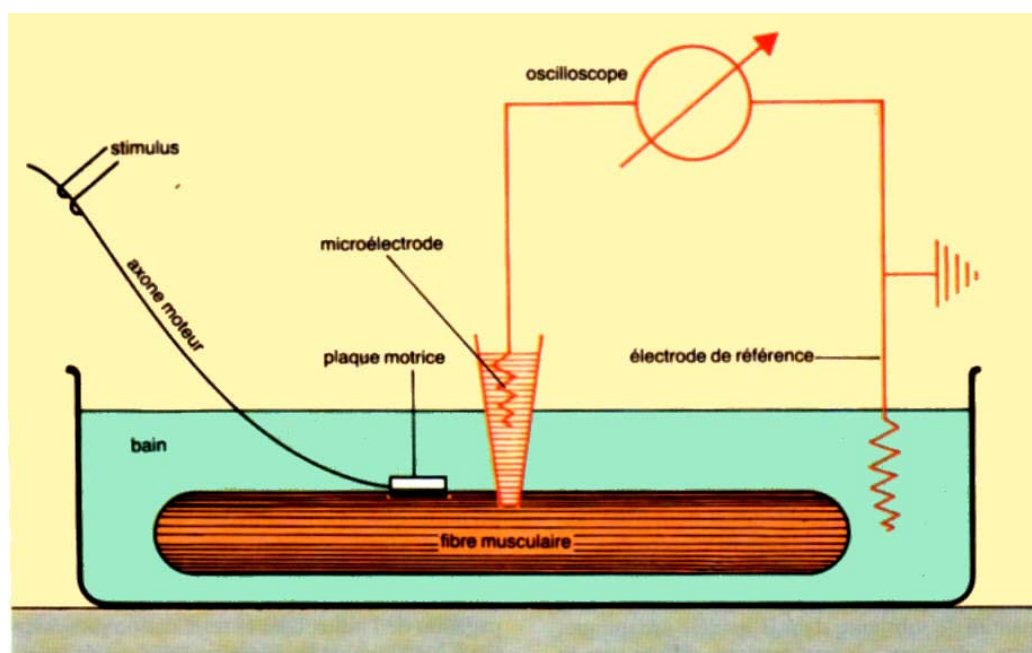


Fig. 4 - Montage expérimental en vue d'enregistrer les potentiels de plaque motrice.

La cuve est remplie de solution de Tyrode. La microélectrode intracellulaire enregistre les modifications du potentiel de membrane de la fibre musculaire en comparaison avec les indications données par l'électrode externe qui plonge dans la solution de Tyrode. L'axone moteur est stimulé électriquement. Pour éviter le court-circuitage des électrodes, le nerf est maintenu hors du bain et enrobé dans une couche de paraffine pendant la stimulation.

La figure 4 représente le dispositif expérimental permettant d'étudier la transmission synaptique au niveau d'une plaque motrice dans une préparation *in vitro* d'un muscle squelettique. La figure montre une fibre musculaire et son axone moteur. On introduit une microélectrode dans la fibre musculaire pour mesurer son potentiel de membrane. Dès que l'électrode pénètre dans la cellule, l'instrument de mesure (oscilloscope) indique un potentiel de repos de - 70 mV (fig. 5).

Stimulons maintenant électriquement l'axone moteur associé à la fibre. Un potentiel d'action s'y propage qui gagne la plaque motrice. Au niveau postsynaptique, on enregistre, entre les deux faces de la membrane de la fibre musculaire, la variation de potentiel représentée sur la figure 5 ; la flèche indique le moment où l'on a stimulé l'axone moteur. Après un temps de latence d'environ 1 ms (ce temps dépend évidemment de la longueur de l'axone et de la vitesse avec laquelle l'influx s'y propage) la membrane de la fibre musculaire se dépolarise, son potentiel dépasse la valeur seuil et un potentiel d'action typique se manifeste. On voit clairement sur la figure 5 comment la dépolarisation initiale induit la phase ascendante rapide du potentiel à partir de la valeur - 42 mV environ. La propagation du potentiel d'action dans la fibre musculaire cause la contraction de celle-ci.

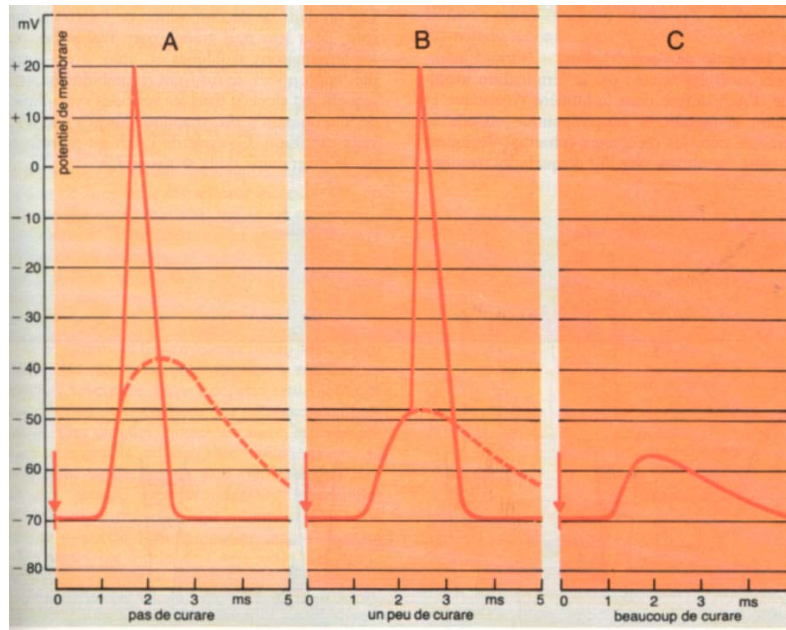


Fig. 5 - Potentiels de plaque motrice enregistrés avec une microélectrode intracellulaire (procédure de la figure 4).

Les flèches indiquent l'intervention de la stimulation de l'axone moteur. 1 - Changement de potentiel enregistré lorsque la fibre musculaire est plongée dans la solution du Tyrode normale. B - Réponse à la stimulation quand la solution contient un peu de curare C - Réponse lorsque la concentration de curare a doublé. Le seuil de potentiel susceptible de provoquer l'excitation de la fibre (seuil du potentiel d'action) est indiqué par la ligne fine continue passant par - 48 mV.

Si on ajoute au milieu dans lequel baigne la préparation, une petite quantité (10^{-7} à 10^{-6} g/ml) de curare (substance utilisée par les Indiens pour empoisonner leurs flèches), les variations du potentiel de membrane de la fibre musculaire après excitation de l'axone sont celles représentées sur la figure 5B. La dépolarisation primaire est plus lente ; le potentiel d'action est donc un peu retardé, mais son décours reste inchangé et on observe une contraction musculaire. Si maintenant, on ajoute davantage de curare (figure 5C), la dépolarisation primaire ne suffit plus à engendrer un potentiel d'action ; elle reste infraliminaire et le potentiel de membrane revient à sa valeur de repos en quelques millisecondes. Le muscle ne se contracte pas. Le potentiel observé dans ce cas de disparition du potentiel d'action est nommé potentiel de plaque motrice (PPM). Les lignes en tiretés des figures 5 A et B, représentent les PPM masqués par les potentiels d'action surimposés.

Les potentiels de plaque motrice peuvent ainsi varier en amplitude ; ils peuvent être supra ou infraliminaires ; dans les muscles sains ils sont toujours supraliminaires. Chaque potentiel d'action présynaptique engendre une contraction de la fibre musculaire. Mais il est possible de bloquer la transmission neuromusculaire par le curare. C'est pourquoi une personne empoisonnée au curare suffoque, ses muscles respiratoires bloqués.

III – MECANISME DE LA TRANSMISSION NEUROMUSCULAIRE

Plusieurs décades de recherches intensives (certaines se poursuivent encore à l'heure actuelle) ont été nécessaires pour éclairer ces mécanismes. Nous résumerons ci-dessous l'ensemble des résultats obtenus et nous examinerons en détail les plus importants d'entre eux.

Le potentiel d'action qui envahit la terminaison présynaptique produit le rejet d'une certaine quantité de substance dans la lumière synaptique. Cette substance, ou transmetteur, diffuse vers la membrane postsynaptique et, après fixation sur un récepteur membranaire, y induit des changements de perméabilité qui engendrent le PPM. L'action sur la membrane postsynaptique ne dure que pendant un temps très court car le transmetteur est rapidement détruit par une enzyme. Le transmetteur de la plaque motrice est l'acétylcholine (Ach) ; il est détruit par la cholinestérase qui le scinde en deux composants inactifs : choline et acide acétique.

Les expériences que nous venons de décrire et d'illustrer par les figures 4 et 5 ne sont pas suffisantes pour conclure quant aux événements pré et postsynaptiques engendrant les PPM ou quant aux moyens par lesquels le curare réduit l'amplitude de ces PPM.

Cette très brève description suffit à faire comprendre que la transmission au niveau d'une synapse chimique peut subir de nombreuses influences. Ainsi, une drogue peut inhiber la transmission synaptique : en s'opposant à la propagation de l'influx dans la terminaison présynaptique, en bloquant le mécanisme de rejet du transmetteur lorsque le potentiel d'action envahit la terminaison, en inhibant le stockage du transmetteur ou en le détruisant très rapidement. En outre, une drogue peut entrer en compétition avec le transmetteur en se liant préférentiellement aux sites récepteurs de la membrane postsynaptique ou en affectant ces mêmes sites de diverses manières. On peut trouver des exemples pour presque toutes ces possibilités. Le curare est un bon exemple de substance qui entre en compétition avec l'Ach et bloque les récepteurs moléculaires de la membrane postsynaptique.

IV – NATURE DU POTENTIEL DE PLAQUE MOTRICE

Dans ce qui suit, nous étudierons les modifications de la membrane postsynaptique qui engendrent les PPM. Mais d'abord, il faut démontrer que les PPM ne sont engendrés qu'au niveau de la membrane postsynaptique. Quelques expériences prouveront qu'un PPM est le résultat d'un bref accroissement de la conductance de la membrane pour les petits cations (K^+ , Na^+ , Ca^{++}).

La figure 6 présente l'enregistrement intracellulaire d'un PPM effectué à diverses distances de la plaque motrice avec une préparation nerf-muscle traitée au curare. Les points d'insertion des électrodes sont distants les uns des autres d'environ 1 mm. Il apparaît nettement que plus l'électrode est implantée loin de la plaque motrice et plus l'amplitude de l'enregistrement diminue - plus sa phase ascendante et sa phase descendante durent longtemps.

Ceci prouve que l'excitation de la membrane postsynaptique d'une plaque motrice engendre une dépolarisation (le PPM), qui se propage électrotoniquement le long de la fibre musculaire à partir du site de production. Ce sont des

mécanismes électriques passifs de la membrane de la fibre musculaire qui assurent cette propagation.

Des expériences de voltage imposé et l'analyse mathématique du décours ou de la distribution spatiale du PPM, permettent de dire que la phase initiale de dépolarisation, qui correspond au moment où le transmetteur Ach réagit avec la membrane postsynaptique, ne dure que 1 à 2 ms. Autrement dit, les changements de conductance de la membrane qui provoquent un déplacement des charges du condensateur membranaire interviennent dans ce court laps de temps. Les caractéristiques électriques de la membrane de la fibre musculaire, à savoir sa capacitance et sa résistance, déterminent le décours du PPM.

La nature des changements intervenant dans la conductance pendant la phase initiale du PPM est plus clairement indiquée par les expériences dans lesquelles, après avoir déterminé le potentiel d'équilibre du PPM dans un milieu extracellulaire de composition normale, on modifie systématiquement la concentration ionique de ce milieu (dans ces expériences, l'amplitude du PPM est maintenue infraliminaire grâce à l'emploi du curare ou d'autres drogues). Le dispositif expérimental permettant de mesurer le potentiel d'équilibre du PPM - le, potentiel de membrane pour lequel aucune variation de potentiel ne se produit en présence d'Ach - est présenté sur la *figure 7*. On ajoute à l'électrode d'enregistrement une seconde microélectrode insérée dans la fibre. Cette électrode est reliée à une source de courant qui permet de faire varier le potentiel de membrane à volonté.

La partie droite de la *figure 7* montre l'effet du stimulus pour quatre potentiels de membrane différents, la préparation étant toujours maintenue dans le même milieu extracellulaire normal. Pour un potentiel de membrane de - 95 mV, le PPM a son amplitude diminuée d'environ 15 mV ; pour - 45 mV, il est à nouveau diminué d'environ 5 mV ; pour - 15 mV, l'amplitude du PPM est nulle ; et pour + 30 mV, le PPM s'est inversé (hyperpolarisation) ; il a alors une amplitude d'environ 15 mV. Ces résultats montrent que, dans les conditions normales, le potentiel d'équilibre du PPM (E_{PPM}) est d'environ -15 mV, c'est-à-dire que sa valeur se situe entre celles des potentiels d'équilibre pour le potassium ($E_K = - 80$ mV) et pour le sodium ($E_{Na} = + 45$ mV).

Ceci suggère que, pendant la (ou les 2) milliseconde (s) que dure l'action de l'Ach sur la membrane postsynaptique, la conductance de cette membrane aux petits cations (Na^+ , K^+) s'accroît considérablement. Dans les conditions normales, donc, on doit s'attendre à observer une entrée d'ions Na^+ dans la fibre. Ceci dépolarise la membrane puisque la force électromotrice animant les ions Na^+ est plus puissante que celle qui anime les ions K^+ lorsque le potentiel de membrane est de - 70 mV ; le flux entrant d'ions Na^+ a reçu le nom de courant de plaque motrice. Si la variation de la conductance est suffisamment importante, la dépolarisation de la membrane au niveau de la plaque motrice atteint la valeur seuil et un potentiel d'action apparaît, qui se propage dans toute la fibre (*cf figure 5*).

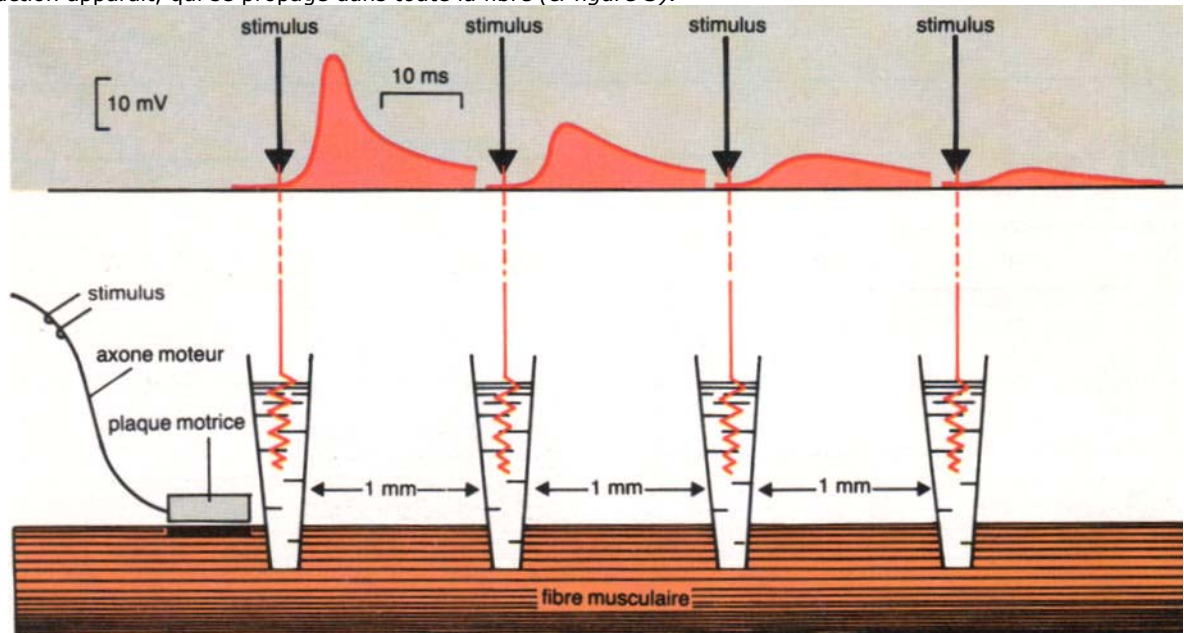


Fig. 6 - La nature électrotonique du PPM est mise en évidence par des enregistrements intracellulaires opérés sur la fibre musculaire à diverses distances de la plaque motrice.

L'appareillage est celui représenté sur la figure 4. On a ajouté suffisamment de curare dans le milieu extracellulaire pour prévenir l'établissement de potentiels propagés dans la fibre lorsque l'axone moteur est stimulé.

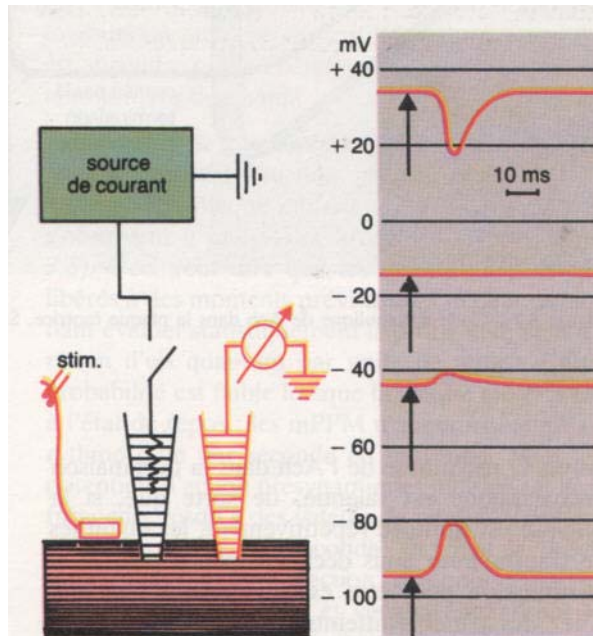


Fig. 7 - Le potentiel d'équilibre du PPM est mesuré comme le représente la partie gauche de la figure. Il s'agit du même appareillage expérimental que sur la figure 4 avec toutefois insertion dans la fibre d'une microélectrode supplémentaire ; elle permet de modifier le potentiel de membrane de la fibre par fourniture d'un courant électrique additionnel. Les flèches qui sont représentées sur le graphique de droite indiquent la stimulation supraliminaire de l'axone moteur. Le PPM dure environ 10 ms.

V - LE DESTIN DE L'ACÉTYLCHOLINE

Normalement, après avoir été rejetée par la terminaison axonique, l'Ach diffuse dans la lumière synaptique et rejoint la membrane postsynaptique où elle se combine avec les récepteurs (pharmacologiques) de cette membrane. Il suffit de quelques fractions de millisecondes à l'Ach pour se combiner au récepteur postsynaptique, ce qui accroît la conductance de la membrane aux petits cations.

Nous dirons, par métaphore, que la clé Ach a été introduite dans la serrure récepteur et que la porte conductance pour les petits cations s'est alors ouverte toute grande. Cependant, l'Ach ne dispose que de 1 à 2 ms pour ouvrir la porte puisque, ainsi qu'on l'a déjà dit, elle est très vite scindée, par l'enzyme cholinestérase, en deux composants inactifs : choline et acide acétique. L'emploi de méthodes spéciales de coloration histologique a prouvé que d'importantes quantités de cholinestérase existent au niveau des plaques motrices. De plus, le sang véhicule également de la cholinestérase, de telle sorte que l'Ach qui diffuse de la plaque motrice dans l'espace extracellulaire, donc dans les vaisseaux sanguins, est également décomposée en choline et acide acétique. Les produits de décomposition de l'acétylcholine sont, pour leur plus grande part, réabsorbés par les terminaisons axoniques et, grâce à des enzymes appropriées, se trouvent recombinaés en Ach, laquelle est stockée dans les vésicules synaptiques de la terminaison présynaptique jusqu'à une nouvelle expulsion. Ce cycle de l'Ach est représenté par le diagramme de la figure 8.

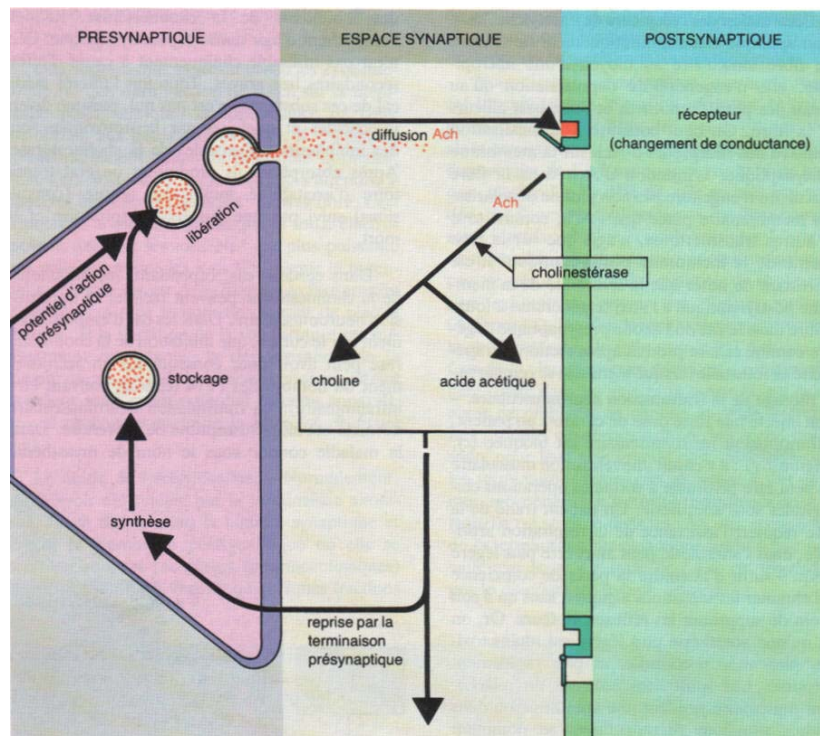


Fig. 8 - Cycle métabolique de Ach dans la plaque motrice. Se référer au texte pour les commentaires.

VI – LOCALISATION DES RECEPTEURS DE L'ACETYLCHOLINE

Si on applique électrophorétiquement de l'Ach à une fibre musculaire au moyen d'une micropipette, elle n'engendre de dépolarisation qu'au niveau des plaques motrices et nulle part ailleurs sur la fibre. On peut conclure à la localisation exclusive des récepteurs d'Ach sur la membrane postsynaptique. L'injection d'Ach dans la fibre musculaire n'engendre pas non plus de dépolarisation membranaire parce que l'Ach, comme tous les autres transmetteurs, n'agit que sur la face externe de la membrane postsynaptique. Il est intéressant de noter que la sensibilité de la membrane postsynaptique à l'Ach se généralise à toute la fibre dans le cas où l'axone présynaptique dégénère comme cela se produit après section. La spécificité se réinstalle lorsque le muscle se réinnerve.

VII – BLOCAGE DE LA TRANSMISSION NEUROMUSCULAIRE

Si on injecte une forte dose de curare à un patient, la transmission neuromusculaire est bloquée (*cf. figure 5*) ; il s'ensuit une relaxation musculaire qui peut être favorable à certaines opérations chirurgicales sous anesthésie. Un patient traité de la sorte requiert l'assistance de la respiration artificielle, mais l'anesthésie peut alors être plus légère puisqu'il suffit d'atteindre la perte de conscience et d'éliminer les sensations algiques, sans qu'il soit besoin de supprimer les réflexes moteurs. Or, on sait qu'une anesthésie plus légère est moins toxique, plus aisée à contrôler et plus rapidement réversible. Les substances assurant un relâchement musculaire pendant une anesthésie ou dans d'autres situations thérapeutiques se nomment myorelaxants.

Le curare entre en compétition avec l'Ach devant les récepteurs postsynaptiques, réalisant un blocage réversible, lequel dépend seulement des concentrations respectives des substances en présence. Des drogues comme le curare, qui agissent sans changer la conductance membranaire, se nomment myorelaxants non dépolarisants. Un second groupe de myorelaxants susceptibles d'applications pratiques agit autrement. Ces substances — succinyl-choline par exemple — ont un effet semblable à celui de l'Ach sur la membrane postsynaptique, mais ils ne sont décomposés que lentement ou pas du tout par la cholinestérase. Ils engendrent alors une dépolarisation prolongée de la membrane, ce qui bloque la transmission neuromusculaire. Ces substances se nomment myorelaxants dépolarisants.

Un blocage de la transmission neuromusculaire peut également s'observer si on administre des inhibiteurs de la cholinestérase, lesquels l'empêchent d'agir dans l'espace synaptique. Ceci n'est pas utilisable cliniquement à cause d'effets secondaires très graves. Toutefois l'intérêt médical de ces substances n'est pas nul, puisque divers insecticides et quelques gaz neurotoxiques sont des inhibiteurs irréversibles de la cholinestérase. Après absorption, ils produisent un état transitoire d'excitabilité musculaire accrue (convulsions) suivi par une paralysie respiratoire et la mort.

Dans certains cas, cependant, les inhibiteurs de la cholinestérase peuvent faciliter la transmission neuromusculaire. Dans les cas d'empoisonnement par le curare, une inhibition de la cholinestérase peut avoir pour conséquence un accroissement du nombre des PPM (chacun pouvant être infraliminaire). La transmission neuromusculaire normale est alors susceptible de reprendre. Dans la maladie connue sous le nom de myasthénie grave, la resynthèse de l'Ach dans la terminaison présynaptique est ralentie, de sorte que, si la synapse est stimulée répétitivement, les quantités de transmetteur émises déclinent peu à peu, et la transmission peut être éventuellement bloquée. Chez des patients atteints de myasthénie, il est classique d'observer une bonne transmission neuromusculaire le matin, alors qu'elle se détériore au cours de la journée (un symptôme précoce de la maladie est la chute des paupières ou ptosis). Dans de tels cas également, l'administration d'inhibiteurs réversibles de la cholinestérase tels que la néostigmine est utile et constitue le traitement le plus efficace trouvé jusqu'à présent.

VIII – POTENTIELS MINIATURE DE PLAQUE MOTRICE

Si on introduit une microélectrode dans une fibre musculaire au repos (la procédure est représentée en haut de la *figure 9*), on enregistre des dépolarisations faibles, brèves et irrégulières. Ces dépolarisations spontanées sont semblables dans leur déroulement aux PPM normaux, mais leur amplitude est beaucoup plus faible (comparez l'échelle des ordonnées de la *figure 9* à celle de la *figure 5*). A cause de ces caractères, les dépolarisations spontanées sont appelées potentiels miniatures de plaque motrice (mPPM). Des expériences du type de celle illustrée par la *figure 4* ont clairement montré que les mPPM comme les PPM ne sont engendrés qu'au niveau de la membrane postsynaptique, et s'irradient électrotoniquement sur toute la fibre (leur faible amplitude ne permet toutefois de les enregistrer qu'au voisinage immédiat de la plaque motrice). Les propriétés pharmacologiques des PPM et des mPPM spontanés sont identiques. On peut donc considérer que les mPPM sont engendrés par la libération spontanée de petites quantités d'Ach.

A) Libération quantique du transmetteur

La *figure 9* montre que les mPPM ont tous à peu près la même amplitude. On en conclut qu'ils sont engendrés par des quantités approximativement égales d'Ach. Ces petites bouffées quasi égales d'Ach se nomment quanta (ne pas confondre avec le concept physique de quantum d'énergie !). Grâce à un artifice expérimental, on peut démontrer que les PPM normaux sont également engendrés par la libération de quanta de transmetteur. La quantité de neurotransmetteur libérée par le potentiel d'action peut être considérablement réduite si on supprime les ions Ca^{++} du milieu expérimental, ou si on ajoute des ions Mg^{++} à ce milieu. Les PPM engendrés dans ces conditions sont représentés dans la zone rouge des graphiques de la *figure 9* (quelques mPPM spontanés apparaissent parfois dans ces enregistrements). Les résultats présentés correspondent à l'effet de 7 stimulations (flèches). Dans deux cas, le PPM est à peu près de même amplitude qu'un mPPM spontané ; dans deux autres cas il est à peu près deux fois plus ample et dans un cas, à peu près trois fois plus ample. Par deux fois, le stimulus ne permet pas d'engendrer de PPM. Ces résultats conduisent à penser que le PPM normal est toujours un multiple des mPPM, c'est-à-dire qu'il est engendré par la libération simultanée d'un certain nombre de quanta.

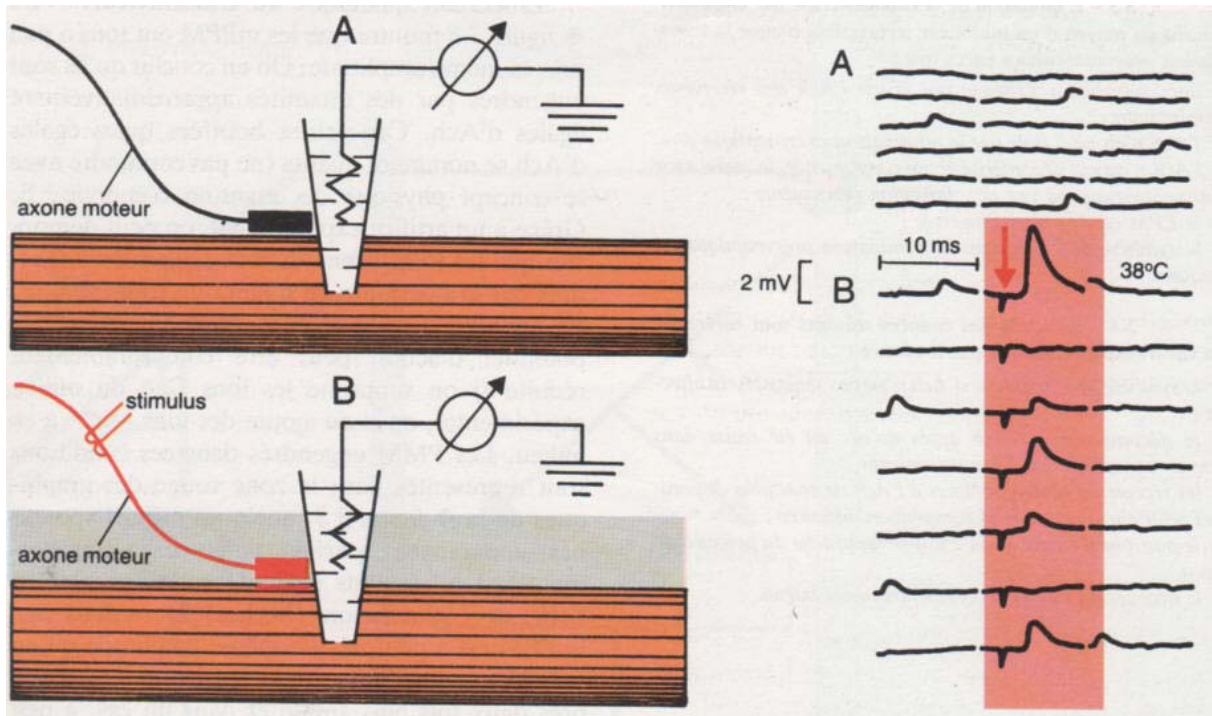


Fig. 9 - Potentiels miniatures de plaque motrice mPPM.

A - Enregistrements à partir d'une fibre musculaire au repos dans laquelle une microélectrode a été insérée juste auprès d'une plaque motrice (c/le schéma). B - PPM produits par stimulation électrique de l'axone moteur (flèche rouge ; les potentiels sont figurés dans la zone ombrée en rouge), alors que la fibre musculaire est plongée dans une solution saline contenant 1mM Ca^{++} et 6mM Mg^{++} . Quelques mPPM spontanés s'observent aussi dans ces enregistrements. Deux stimuli ne parviennent pas à engendrer un potentiel de plaque motrice ; dans les autres cas, l'amplitude du potentiel de plaque motrice correspond à celle d'un mPPM ou à un multiple de cette amplitude (d'après Liley, 1956).

B) Contrôle de la quantité de transmetteur libérée par le potentiel d'action présynaptique

Au niveau de la plaque motrice au repos, les mPPM s'observent à intervalles irréguliers (cf. figure 9). Ceci veut dire que les quanta ne sont pas libérés à des moments prévisibles. On peut cependant évaluer statistiquement la probabilité de libération d'un quantum par unité de temps. Cette probabilité est faible lorsque la plaque motrice est à l'état de repos : les mPPM n'apparaissent qu'au rythme d'un par seconde en moyenne. Mais les potentiels d'action présynaptiques multiplient leur fréquence jusqu'à des valeurs de plusieurs milliers en moins d'une milliseconde. Pendant la brève durée d'un potentiel d'action, quelques centaines de quanta sont libérés et ceux-ci engendrent le PPM. On estime qu'un seul potentiel d'action présynaptique libère environ 200 quanta au niveau d'une plaque motrice - sciatique-gastrocnémien - de grenouille, mais pour d'autres synapses l'estimation donne 2 000 quanta.

Le temps écoulé entre l'arrivée du potentiel d'action au niveau de la terminaison présynaptique et le début du PPM est nommé délai synaptique. Pour la plupart des synapses périphériques ou centrales, le délai synaptique est d'environ 0,2 milliseconde à 0,5 milliseconde.

L'augmentation de probabilité de libération de quanta par unité de temps au niveau de la terminaison présynaptique, n'est pas un phénomène de "tout ou rien". Il dépend au moins pour partie de l'importance des changements de potentiel membranaire, comme nous le montrent les résultats suivants. Quand la membrane présynaptique est dépolarisée par suite de l'augmentation de la concentration des ions K^+ dans le milieu extracellulaire ou par intervention d'une excitation par microélectrode, les mPPM se produisent à plus haute fréquence. L'étude expérimentale des variations de l'amplitude du potentiel d'action présynaptique, ou la production expérimentale de variations du potentiel de membrane présynaptique par électrode externe, montrent clairement que l'amplitude du PPM - c'est-à-dire en définitive le nombre de quanta libérés par le potentiel d'action - dépende de l'amplitude de ce dernier.

C) Le rôle du calcium

Comme on l'a dit au cours de la discussion des résultats présentés sur la figure 9B, un second facteur important affectant la quantité de transmetteur libérée est la concentration du milieu extérieur en ions Ca^{++} . Si on supprime les ions Ca^{++} d'un milieu expérimental *in vitro*, les potentiels d'action présynaptiques ne libèrent plus les quelques centaines de quantum habituels ; le nombre de quantum libérés varie en fonction de la concentration du milieu en ions Ca^{++} . Pour les faibles concentrations, les amplitudes des PPM ne sont que de petits multiples des mPPM, et, occasionnellement, aucun quantum n'est libéré (cf. figure 9B). Toutefois, la taille de chaque quantum n'est pas changée. Ces expériences permettent d'assurer que la présence d'ions Ca^{++} est absolument nécessaire pour que des quanta soient normalement libérés par la terminaison présynaptique.

Si l'on ajoute des ions Mg^{++} à la solution, on observe des effets similaires de ceux qui suivent la suppression des ions Ca^{++} . Il semble donc que les ions Mg^{++} entrent en compétition avec les ions Ca^{++} , les chassant des sites critiques (sites d'action ou sites d'entrée) de la membrane présynaptique. Puisque le nombre de quanta d'Ach libérés est à peu près dans le rapport de 1 à 4 avec la concentration du milieu extracellulaire en ions Ca^{++} , on peut penser qu'il faut au moins 4 ions Ca^{++} pour libérer un quantum.

Le rôle du calcium a été étudié plus complètement dans le cas des synapses de l'axone géant de Calmar, que dans le cas de la plaque motrice. Il en ressort ce qui suit. Un potentiel d'action ou une décharge électrique qui dépolarise la membrane présynaptique ouvre les pores de ses canaux Ca^{++} en même temps que les pores de ses canaux Na^+ . Les ions Ca^{++} pénètrent donc dans la terminaison présynaptique. Ceci se produit dès qu'une dépolarisation de 30 à 40 mV est appliquée. Au-delà de cette valeur, la conductance aux ions Ca^{++} change et donc, l'entrée de Ca^{++} se modifie. En liaison avec ce phénomène, la libération du transmetteur croît avec l'amplitude et la durée de la dépolarisation ; le calcium qui

traverse ainsi la membrane joue un rôle encore mal élucidé, bien que décisif, dans le phénomène de vidage des vésicules dans l'espace synaptique. Dans le cas de la plaque motrice, des ions comme Mg^{++} (ou Mn^{++}) empêchent l'entrée de Ca^{++} dans la terminaison ils bloquent la sortie du transmetteur. Le calcium est également nécessaire à la libération du transmetteur dans les autres types de synapses et sans doute dans toutes les synapses chimiques.

Le blocage de la transmission neuromusculaire, produit par suppression de Ca^{++} ou addition de Mg^{++} dans le milieu extracellulaire, ne peut pas être utilisé chez l'homme comme les autres méthodes de blocage décrites au sous-chapitre précédent. En effet, les fonctions d'organes vitaux comme le cœur, le rein, le système nerveux central et les muscles lisses sont sévèrement atteints par de tels changements. La toxine de la bactérie botulique (nourritures avariées) a, sur la plaque motrice, un effet similaire à l'effet de la suppression de l'ion Ca^{++} . En inhibant la libération de Ach, la toxine botulique provoque une paralysie des muscles souvent fatale parce que les muscles respiratoires peuvent être atteints. Puisque la toxine est thermosensible, on peut efficacement s'en protéger en cuisant soigneusement toute nourriture suspecte.

D) Généralisation de l'hypothèse des quanta

Depuis que l'on a découvert des potentiels miniatures spontanés liés à des vésicules au niveau de la plaque motrice, on a retrouvé les mêmes faits dans d'autres synapses chimiques. On a pu isoler des vésicules synaptiques par ultracentrifugation et démontrer qu'elles contiennent de l'acétylcholine ou d'autres substances fonctionnant comme transmetteurs. On peut donc supposer que toutes ces synapses stockent un transmetteur dans des vésicules synaptiques, et le libèrent par quanta dont chacun correspond au contenu d'une vésicule. Un de ces quanta contient sans doute plusieurs milliers de molécules du transmetteur ; les molécules sont expulsées dans l'étroit espace synaptique (environ 0,1 μm) en une brève volée et elles agissent presque simultanément sur la membrane post-synaptique. Un quantum libéré dans une plaque motrice de grenouille contient 1 000 à 10 000 molécules d'Ach ; 4 000 à 20 000 chez le rat ; 10 000 chez le serpent. On n'a pas d'estimation en ce qui concerne les autres synapses. On ne sait pas non plus si les potentiels miniatures séparés, qui se manifestent spontanément à faible fréquence, jouent un rôle physiologique.

En dehors de ce qui vient d'être dit, on sait peu de choses sur les événements qui interviennent entre l'arrivée du potentiel d'action pré-synaptique et le début du potentiel postsynaptique - c'est-à-dire pendant le délai synaptique -. Retenons simplement que le nombre de quanta libérés par unité de temps dépend de l'amplitude de l'influx. Ceci affecte la libération du transmetteur à la fois de manière directe et par l'intermédiaire de la pénétration des ions Ca^{++} dans la cellule. Les autres aspects du contrôle de la transmission synaptique seront discutés en liaison avec les phénomènes de potentiation synaptique et d'inhibition présynaptique.