

Des portes s'ouvrent sur les allées et venues des ions calcium

Compte rendu du V^e Colloque « Canaux Ioniques »

Le V^e Colloque « Canaux Ioniques » s'est tenu à Carry-le-Rouet, près de Marseille, du 29 septembre au 1^{er} octobre 1994. Ce colloque francophone a réuni français et étrangers dont les travaux portent sur les canaux ioniques, les transporteurs, et sur l'implication de ces protéines dans la physiologie cellulaire. Un dysfonctionnement (souvent initial et originel) de ce type de protéines est observé dans des maladies cardiovasculaires, des myopathies, la mucoviscidose, et des maladies neurodégénératives. Ce compte rendu résume des travaux récents, présentés lors du colloque, concernant l'homéostasie calcique intracellulaire. Cet article ne constituant pas une revue sur le sujet, le lecteur est invité à consulter les références [1-11] pour plus de détails. Les conclusions de certains articles référencés ici font encore l'objet de discussions.

Le contrôle du calcium ionisé intracellulaire

Le niveau de calcium intracellulaire ionisé ($[Ca^{2+}]_i$) détermine l'activité des cellules, procaryotes et eucaryotes, animales et végétales. Des modifications de $[Ca^{2+}]_i$ interviennent au cours de phénomènes cellulaires aussi essentiels que la transmission intracellulaire du signal, la sécrétion hormonale, la neurotransmission, la contraction musculaire, la synthèse d'ADN et la fécondation. $[Ca^{2+}]_i$ est contrôlé par l'activité de protéines de la membrane plas-

mique, mais également par l'activité de protéines assurant la communication entre le cytoplasme et les organites intracellulaires. La recherche dans le domaine du contrôle de $[Ca^{2+}]_i$ s'est intensifiée autour de deux questions essentielles [7-10] : quels sont les mécanismes qui permettent la mobilisation du calcium séquestré dans les compartiments intracellulaires, et quels sont ceux qui interviennent dans le remplissage de ces compartiments intracellulaires partiellement vidés.

Mobilisation du calcium séquestré

Le réticulum endoplasmique (RE) et le réticulum sarcoplasmique (RS) des cellules musculaires constituent les sources principales de calcium mobilisable séquestré dans les organites intracellulaires. La mobilisation du calcium séquestré s'effectue par l'ouverture de canaux calciques rassemblés en deux familles : la famille des récepteurs de l'inositol 1,4,5-triphosphate (InsP3), un second messager intracellulaire, et la famille des récepteurs de la ryanodine, un alcaloïde végétal (Tableau I). Ces deux familles de canaux intracellulaires peuplent la plupart des types cellulaires.

• Récepteur de l'InsP3

De nombreux récepteurs des hormones ou des neurotransmetteurs sont couplés aux phospholipases C par l'intermédiaire de protéines G [3, 7, 9, 11, 12]. En présence d'ago-

nistes, les phospholipases C produisent notamment l'InsP3 qui peut alors diffuser jusqu'à son récepteur sur le réticulum (figure 1A). Le récepteur de l'InsP3 est un tétramère qui possède une activité de canal ionique [3-8]. *In vitro*, il présente une catégorie homogène de sites de liaison pour l'agoniste (Z. Hannaert-Merah, département de biologie cellulaire et moléculaire, centre d'études de Saclay, Gif-sur-Yvette, France). Cela suggère que l'InsP3 se fixe de manière équivalente sur les quatre sous-unités du récepteur. La vitesse de dissociation de l'InsP3 de ce site est influencée par des cations monovalents, des cations divalents et par l'ATP. En présence de l'agoniste, l'ouverture du canal calcique du récepteur de l'InsP3 permet la mobilisation du calcium séquestré, provoquant des fluctuations de $[Ca^{2+}]_i$. L'aspect pulsatile, transitoire, des modulations de $[Ca^{2+}]_i$ résulte en grande partie de rétrocontrôles de l'activité du récepteur de l'InsP3 dans lesquels le calcium prend une place importante [13]. Dans les cellules musculaires lisses, la présence de calcium dans le cytoplasme pourra conditionner la mobilisation de calcium par le récepteur de l'InsP3 du RS (J. Parys, Katholieke Universiteit Leuven, Louvain, Belgique). Aux valeurs de $[Ca^{2+}]_i$ proches des concentrations de repos (entre 10 et 300 nM), le calcium est un co-activateur des récepteurs de l'InsP3 [14], et il amplifie l'ouverture des canaux calciques sensibles à ce messager. En

Tableau I		
CARACTÉRISTIQUES PRINCIPALES DES CANAUX CALCIFIQUES DU RÉTICULUM		
Propriétés	Récepteur ryanodine	Récepteur InsP3
Séquences (acides aminés)	au moins 3 isoformes RYR1 (5032) RYR2 (5037) RYR3 (641)	au moins 4 isoformes IP3R1a (2749) IP3R1b (2709) IP3R2 (2701) IP3R3 (2670) IP3R4 (partiel)
Protéine fonctionnelle	Tétramère	Tétramère
Modulateurs		
InsP3	pas d'effet	+
ADPRc	+	pas d'effet
Mg ²⁺ cytosolique	-	-
Ca ²⁺ cytosolique	+	+/-
Ca ²⁺ luminal	+	+
ATP	+	+/-
Ca ²⁺ /calmoduline	-	pas d'effet
Pharmacologie		
Ryanodine	+/-	pas d'effet
Procaïne, Tétracaïne	-	pas d'effet
Caféine	+	-
Héparine	+	-
Décavanadate	?	-

+ : activation; - : inhibition (d'après [4, 8, 34, 35]). Notez que ce tableau ne constitue pas une liste exhaustive des modulateurs et des outils pharmacologiques des canaux calcifiques du réticulum. ADPRc: adénine diphosphate-ribose cyclique.

revanche, lorsque $[Ca^{2+}]_i$ augmente (au-delà de 500 nM), le calcium devient un puissant inhibiteur de l'activité des canaux calcifiques-récepteurs de l'InsP3, et il limite sa libération [14]. En parallèle, le calcium séquestré dans le RS module aussi sa propre libération sous l'effet de l'InsP3 (J. Parys). Des niveaux intermédiaires de calcium intraluminal, voisins de 30 % de la capacité totale de séquestration par le RE, provoquent une forte potentialisation de l'effet de l'InsP3. Aux fortes concentrations de calcium intraluminal (~ 100 % de la capacité totale), le récepteur de l'InsP3 perd l'essentiel de sa sensibilité à $[Ca^{2+}]_i$. Ces derniers résultats montrent que les effets du calcium intraluminal ne peuvent s'expliquer par l'occupation

d'un site cytosolique du récepteur. En fait, l'emplacement exact du ou des sites du récepteur pour le calcium reste à préciser. En complément, certains effets du calcium sur le récepteur de l'InsP3 pourraient faire intervenir des protéines intermédiaires. Sur la face cytoplasmique, l'activation de la protéine kinase dépendante du complexe calcium-calmoduline provoque une inhibition de l'activité du récepteur de l'InsP3 (F. Matifat, Université de Picardie, Amiens, France). Sur la face luminale, un rôle pour une protéine régulatrice dépendante du calcium est toujours envisagé.

• Récepteurs de la ryanodine

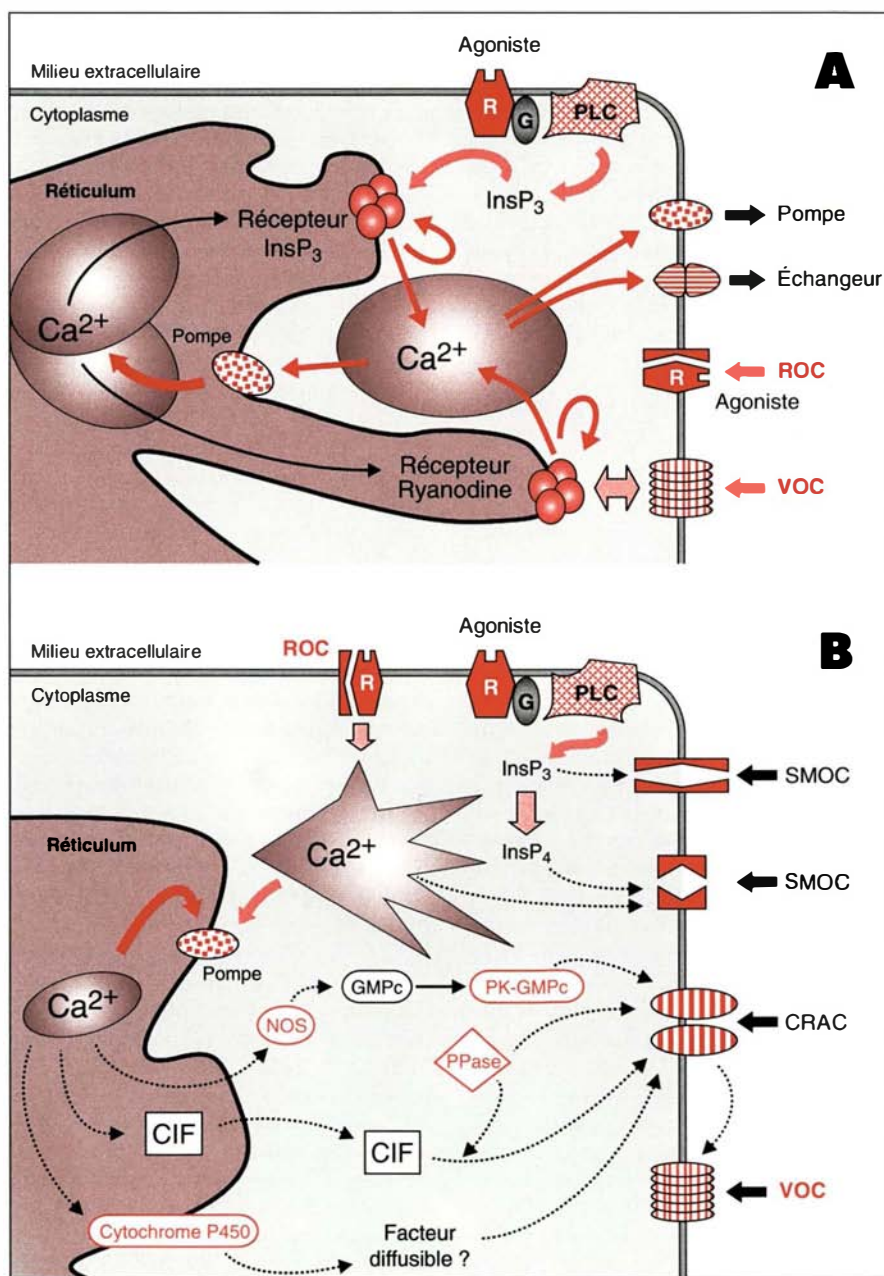
Les récepteurs de la ryanodine sont abondamment étudiés dans les cel-

lules musculaires [2, 6-8]. Leur fonctionnement y est souvent associé à celui des canaux calcifiques membranaires dépendants du potentiel (VOC) (figure 1A). Dans la cellule cardiaque, l'ouverture des VOC de type L engendre une élévation de $[Ca^{2+}]_i$, qui ouvre les canaux-récepteurs de la ryanodine du RS. Cette coopération entre VOC et canaux du RS rend compte du couplage excitation-contraction dans le cœur [2]. Dans le muscle squelettique, l'ouverture du VOC de type L, provoquée par une dépolarisation membranaire, entraîne également l'ouverture du canal calcifique-récepteur de la ryanodine du RS. Le calcium ne joue pas un rôle essentiel dans le couplage excitation-contraction de ces cellules, car c'est un contact physique qui permet la coopération entre VOC et canal du RS [2, 15]. Ici, le canal calcifique membranaire remplirait la double fonction de canal ionique et de détecteur de potentiel membranaire pour le canal calcifique du RS. La coopération entre VOC et récepteurs de la ryanodine pourrait être encore différente dans les cellules de Purkinje (K. Melliti, laboratoire de neurobiologie cellulaire et moléculaire, Cnrs, Gif-sur-Yvette, France). Dans ces neurones, qui ne présentent pas (ou peu) de courant de type L, l'activité de canal ionique est dévolue aux VOC de type P [11]. Toutefois, ces neurones expriment à la fois la sous-unité $\alpha 2\text{-}\delta$ du VOC de type L et le récepteur de la ryanodine. Par ailleurs, un inhibiteur du VOC de type L (la nifédipine) qui bloque les mouvements de charges membranaires dans le muscle squelettique, immobilise 40 % des mouvements de charges membranaires dans les cellules de Purkinje. Ainsi, les VOC de type L pourraient fonctionner exclusivement comme détecteurs de potentiel membranaire pour les récepteurs de la ryanodine. Cette hypothèse pourra être testée à l'avenir en tirant partie de la pharmacologie et de la très solide biologie moléculaire des VOC [11]. Bien entendu, l'activité des récepteurs de la ryanodine n'est pas uniquement associée à celle des canaux calcifiques membranaires. Des travaux récents confirment qu'un dérivé du NAD⁺, l'adéni-

Figure 1. **Allées et venues des ions calcium entre réticulum et membrane plasmique.** A. Le niveau de calcium cytoplasmique ionisé s'élève après ouverture de canaux membranaires (ROC et VOC) ou après mobilisation du calcium séquestré. La mobilisation résulte de l'ouverture des récepteurs de l'InsP₃, ou de celle des récepteurs de la ryanodine. Les ions calcium libérés par ces canaux proviennent du même, ou de différents, compartiment(s), suivant le type cellulaire. Les ions calcium réintègrent le réticulum grâce à des pompes calciques. Ils sont aussi extrudés par les pompes membranaires et l'échangeur Na⁺-Ca²⁺ (ce dernier peut fonctionner dans le sens d'un flux entrant calcique, dans les cellules excitables). B. La déplétion des compartiments calciques intracellulaires provoque un flux entrant calcique «capacitif», consécutif à l'ouverture d'un canal cationique (CRAC). Des messagers intracellulaires sont impliqués dans la stimulation de l'influx capacitif par cette déplétion du réticulum. Le CIF, les cytochromes P-450, l'InsP₃, l'InsP₄, le GMPc sont proposés dans ce rôle d'intermédiaires. Des phosphatases (PPase) règlent le flux entrant «capacitif», soit directement, soit en provoquant la dégradation du CIF. Les ROC et les VOC pourraient participer au remplissage du réticulum. Les flèches épaisses indiquent les mouvements de calcium. Les flèches fines continues indiquent des régulations consensuelles, les flèches discontinues indiquent des régulations potentielles. Notez que ce schéma regroupe des résultats obtenus dans des types cellulaires différents. (D'après [9].) R: récepteur; G: protéine liant le GTP; PLC: phospholipase C; VOC: canaux calciques membranaires dépendants du potentiel; ROC: récepteurs ionotropiques membranaires; SMOC: canaux membranaires ouverts par des seconds messagers; NOS: NO-synthase; PK-GMPc: protéine kinase dépendante du GMPc; CIF: calcium influx factor; CRAC: calcium-release-activated-channels.

ne diphosphate-ribose cyclique (ADPRC) ouvre les (certains) récepteurs de la ryanodine (C. Martin, University of Edinburgh, Edinburgh, Royaume-Uni). Dans le cadre de cette modulation, [Ca²⁺]_i agit comme co-agoniste de sa libération du réticulum. La polémique suscitée par la découverte de cet effet de l'ADPRC [10] pourrait donc se dénouer prochainement.

On le voit, les deux familles de canaux calciques du réticulum possèdent des modalités de fonctionnement très différentes. La coexpression, dans une même cellule, d'un récepteur de l'InsP₃ et d'un récepteur de la ryanodine permettrait donc une complémentarité des modes de transduction entre la membrane plasmique et les compartiments calciques intracellulaires.



Remplissage des compartiments calciques

La terminaison du signal calcique est assurée pour une part par la réintégration des ions calcium dans le réticulum, grâce aux pompes calciques, mais également par l'extrusion d'une partie des ions calcium vers l'extérieur de la cellule, grâce à des pompes et des échangeurs calciques de la membrane plasmique (*figure 1A*). Intuitivement, on conçoit que cette extrusion du calcium pourrait conduire à l'appauvrissement du contenu calcique du réticulum, en l'absence d'un mécanisme compensatoire [1, 9, 10]. Or, les agonistes qui mobilisent le calcium séquestré n'agissent pas uniquement sur l'ouverture de canaux calciques du réticulum. Ces agonistes activent également un flux entrant de calcium membranaire (« capacitif » [1]) qui permet le remplissage du contenu calcique des compartiments intracellulaires, et en particulier du réticulum. Ce flux entrant « capacitif » serait d'autant plus ample que les compartiments calciques intracellulaires auraient été préalablement vidés.

• Flux entrant calcique capacitif: I_{crac}

Un courant calcique membranaire activé par la vidange des compartiments intracellulaires, I_{crac} (pour *calcium-release-activated-channel*), a tout d'abord été identifié dans des lymphocytes et des mastocytes (M. Hoth, department of molecular and cellular physiology, Stanford, CA, USA) [16]. Les dihydropyridines telles que la nifédipine, l'isradipine ou le Bay-K 8644, sont sans effet sur I_{crac} , confirmant l'implication d'un canal distinct du canal calcique de type L. Ce courant membranaire d'amplitude modeste n'a pas été résolu à l'échelle du canal isolé [9]. Les estimations les plus optimistes lui attribuent une conductance élémentaire de l'ordre de 10-100 fS [16, 17], et cette valeur pourrait être dix fois plus faible dans des conditions physiologiques. Ce canal est perméable à plusieurs ions multivalents (calcium, baryum, strontium), mais pas tous (lanthane, cadmium, nickel, etc.) [18]. Sa faible perméabilité aux ions monovalents

suggère une sélectivité très prononcée (M. Hoth), (C. Van Renterghem, Cnrs UPR411, Sophia-Antipolis, Valbonne, France). A l'heure actuelle, il n'existe pas d'outils pharmacologiques spécifiques de I_{crac} . En fait, les anticalciques (SK&F 96365), les antiinflammatoires (tenidap, ketotifen et cromolyn), et des dérivés de l'imidazole (econazole) utilisés pour bloquer I_{crac} , sont tout aussi efficaces pour inhiber certains canaux cationiques non sélectifs ou les canaux chlorures activés par l'AMPc (M. Hoth). Plusieurs auteurs ont insisté sur les précautions nécessaires à l'étude macroscopique de I_{crac} . En effet, des courants entrants d'ions chlorures (T. Capiod, Inserm U. 274, Université Paris-XI, Orsay, France) ou des activités d'échangeurs liés à l'homéostasie des ions chlorures (P. Sartor, Cnrs URA 1200, Université Bordeaux-II, Bordeaux, France) peuvent compliquer sérieusement l'étude de I_{crac} . Néanmoins, I_{crac} est maintenant caractérisé dans d'autres types cellulaires tels que des neurones de l'hippocampe, et les cellules chromaffines (M. Hoth). Il est évident que la caractérisation moléculaire de ce canal constituera une étape importante dans la validation de l'hypothèse du flux entrant « capacitif ».

• Initiation et modulation du flux entrant calcique capacitif

L'activation d'un flux entrant calcique capacitif nécessite un couplage entre le compartiment intracellulaire appauvri en calcium et la membrane plasmique. Selon certains travaux, ce couplage pourrait être assuré par l'InsP3 [19] et/ou son congénère, l'inositol 1,3,4,5 tétrakisphosphate [20], tout deux produits de l'activité de la voie de la phospholipase C (*figure 1B*). Ces observations, encore isolées, attendent confirmation. L'activation du flux entrant se manifeste aussi sans participation du calcium ou de la voie de l'InsP3 [1, 7, 9, 10]. Il apparaît maintenant que la vidange du compartiment intracellulaire, *per se*, produit un (ou plusieurs) message(s) qui provoque(nt) l'activation du flux entrant capacitif en atteignant la membrane plasmique. Les travaux actuels visent l'identifica-

tion de ce(s) facteur(s) diffusible(s) provenant des compartiments vides. Le candidat le plus sérieux est le CIF (*calcium influx factor*) [21] qui provoque un flux entrant calcique durable dans plusieurs types cellulaires (C. Randriamampita, laboratoire de neurobiologie, Ecole normale supérieure, Paris, France). Sous l'action d'agonistes ou de traitements pharmacologiques qui vident les compartiments calciques internes, le CIF est libéré dans le cytoplasme des macrophages, des fibroblastes, des astrocytes et des lymphocytes. L'identification moléculaire du CIF reste à achever, mais il faut retenir que ce composé de faible poids moléculaire est dégradé par les phosphatases alcalines [22].

Les inhibiteurs de cytochrome P-450 bloquent l'influx calcique, après déplétion des compartiments internes, dans plusieurs types cellulaires, tels que les thymocytes, les plaquettes, et les neutrophiles humains (J. Garcia-Sancho, departamento de fisiología y bioquímica, facultad de medicina, Valladolid, Espagne) [23]. Certaines isoformes de cytochrome P-450 ancrées dans la membrane du réticulum pourraient intervenir dans la transmission du signal de déplétion calcique. Les expériences d'électrophysiologie montrent que ces composés, tels les dérivés de l'imidazole, inhibent I_{crac} (M. Hoth). L'hypothèse cytochrome P-450 est toutefois affaiblie par l'absence de spécificité de ces inhibiteurs qui, en particulier, affectent d'autres canaux ioniques (M. Hoth) [9, 23]. Ces expériences attirent tout de même l'attention sur les NO-synthases, qui possèdent des propriétés P-450 réductase. En effet, la déplétion des compartiments calciques provoque une forte stimulation de l'activité de NO-synthases dans les *acini* pancréatiques [24]. En engendrant le monoxyde d'azote, la NO-synthase stimule la production de GMPc. Dans les hépatocytes isolés, le GMPc provoque une puissante potentiación de l'influx calcique, après déplétion des compartiments calciques intracellulaires (G. Guillard, Inserm U. 274, Université Paris-XI, Orsay, France). La protéine kinase dépendante du GMPc serait responsable de cette stimulation du

flux entrant puisque le 8Br-GMPc mime l'effet du GMPc. Cette kinase intervient à d'autres étapes de la mobilisation de calcium séquestré. On sait, en particulier, qu'elle peut stimuler la production d'ADPRc [25], activer la pompe calcique de la membrane plasmique [26], activer la pompe calcique du réticulum [27] et inhiber la production de l'InsP3 [28].

Des phosphatases ont été associées au contrôle du flux entrant calcique capacitif [29]. Dans les neutrophiles, des inhibiteurs de phosphatases, l'acide okadaïque et la calyculine A, abolissent le flux entrant calcique (J. Garcia-Sancho). Dans ces cellules, ces inhibiteurs semblent effectivement agir en bloquant l'activité de protéine phosphatases, suggérant que le flux entrant calcique capacitif est réglé par une ou plusieurs protéine kinases [30]. A l'inverse, dans les cellules astrocytaires, l'activation du flux entrant calcique par le CIF est potentialisée par des inhibiteurs de phosphatases, tels que l'acide okadaïque ou la ciclosporine (C. Randriamampita) [22, 29]. Ces inhibiteurs potentialisent également le flux entrant calcique provoqué par le carbachol, un agoniste muscarinique. Dans ce système, l'inhibition des phosphatases empêcherait directement la dégradation du CIF. Il faut ajouter que la modification de ce flux entrant calcique n'intervient pas dans les effets indésirables de la ciclosporine A (A. Lo Russo, groupe de pharmacologie, École de pharmacie, Lausanne, Suisse). Ce célèbre immunosuppresseur provoque souvent une néphrotoxicité et un effet hypertenseur, qui seraient tous deux expliqués par une vasoconstriction locale exagérée. *In vitro*, la ciclosporine A augmente l'efficacité et la potentialité d'hormones vasoconstrictrices (vasopressine, endothéline ou angiotensine II) sur des cultures de cellules musculaires lisses aortiques. Une étude comparative des effets de la ciclosporine et de ses dérivés indique une absence de corrélation entre le pouvoir d'inhibition de protéine phosphatase et la potentialisation des effets des vasoconstricteurs. De plus, l'extrusion des ions calcium n'est pas modifiée par la ciclosporine.

En revanche, la mobilisation des ions calcium par l'InsP3 est potentialisée par l'immunodépresseur. Cette observation peut rendre compte de son effet indésirable chez certains patients.

Autres mécanismes de remplissage

Il n'est pas strictement établi que les messagers recensés ci-dessus activent l'influx calcique en stimulant le canal responsable de I_{crac} . Plusieurs autres canaux membranaires perméables au calcium sont susceptibles de contribuer au flux entrant calcique dans des conditions physiologiques [7, 9, 10].

• Canaux calciques membranaires

Dans les myocytes cardiaques, un canal (dit « de base ») pourrait engendrer un flux entrant calcique tonique en l'absence de potentiel d'action. En effet, ce canal est actif dans une gamme de potentiels membranaires proche du potentiel de repos (A. Coulombe, Cnrs URA1159, hôpital M. Lannelongue, Le Plessis-Robinson, France). Il possède trois états de conductances (18, 40, 70 pS), et semble sélectivement perméable aux cations divalents (calcium, baryum, magnésium, manganèse). L'ouverture de ce canal est grandement facilitée par les phénothiazines, telles que la trifluopérazine et la chlorpromazine. Toutefois, on ignore la relation existant entre l'activité de ces canaux et le contenu calcique des compartiments intracellulaires.

En principe, les VOC pourraient participer au remplissage des compartiments calciques dans les cellules électriquement excitables [9]. Dans les cellules glomérulées de la glande surrénale, la vasopressine stimule un flux entrant calcique après déplétion des compartiments intracellulaires (E. Grazzini, Inserm U. 401, CCIPE, Montpellier, France). L'implication des VOC de type L repose sur deux observations. D'une part, l'hormone augmente l'amplitude du courant calcique de type L. D'autre part, le flux entrant calcique est inhibé par la nifédipine, un inhibiteur des VOC de type L. De même, certaines similitudes entre le flux entrant calcique

et les VOC de type L sont suggérées par l'étude de la régulation de la contraction de muscles lisses par la vasopressine et par la noradrénaline (M. Skutella, groupe de pharmacologie, École de pharmacie, Lausanne, Suisse). La présence d'un flux entrant calcique similaire au I_{crac} a pourtant été établie dans les cellules excitables. En particulier, l'activation d'un flux entrant calcique par la vasopressine persiste après inhibition des VOC dans des cellules musculaires lisses aortiques (C. Van Renterghem) [18]. On peut imaginer que dans les cellules excitables, l'activation de I_{crac} dépolarise suffisamment la membrane plasmique pour faciliter l'activité des VOC. Dans cette hypothèse, la participation des VOC apparaît comme importante, mais non suffisante. En théorie, l'activité d'un I_{crac} reste déterminante aux potentiels membranaires proches du potentiel de repos.

• Les récepteurs « ionotropiques »

Les neurotransmetteurs et les hormones qui mobilisent le calcium intracellulaire sont souvent des ligands de récepteurs « ionotropiques », possédant une activité de canal ionique membranaire (ou ROC) [7, 9]. A la famille moléculaire des ROC cationiques « classiques », tels que le récepteur nicotinique et le récepteur NMDA, s'ajoute une nouvelle famille représentée par les récepteurs P_{2X} activé par l'ATP extracellulaire (N. Hussy, Glaxo Institute of Molecular Biology, Genève, Suisse) [31, 32]. Les sous-unités séquencées de ces ROC sont de petite taille (379 [31] ou 472 [32] acides aminés), et leurs profils d'hydrophobicité suggèrent seulement deux segments transmembranaires. Le nombre de sous-unités des récepteurs P_{2X} fonctionnels n'est pas connu. Exprimés dans de nombreux types cellulaires, les récepteurs P_{2X} semblent posséder une perméabilité aux ions calcium plus élevée que leurs congénères (N. Hussy) [31]. Leur activité pourrait donc modifier $[Ca^{2+}]_i$ et participer au remplissage des compartiments calciques intracellulaires. Toutefois, le flux entrant calcique consécutif à l'ouverture d'un ROC semble se distinguer, par

définition, du flux entrant de type «capacitif». En effet, l'activité des ROC est généralement transitoire, en particulier aux fortes concentrations d'agoniste. Par exemple, il n'existe pas d'exemples montrant que l'ouverture d'un ROC soit influencée par le contenu calcique du réticulum.

• Inhibition de l'extrusion calcique

Le remplissage des compartiments calciques n'est pas assuré uniquement, *via* le flux entrant capacitif, par les agonistes et les traitements qui mobilisent le calcium de ces compartiments. Un tel exemple nous est apporté par la description de l'effet inotrope positif du glucagon dans le cœur (C. Pavoine, Inserm U. 99, Créteil, France). L'apparition de cet effet est corrélée à la conversion par le tissu cible d'une fraction de l'hormone en mini-glucagon (le fragment 19-29) [33]. L'effet principal du mini-glucagon est d'inhiber 75 % de l'activité de la pompe calcique de la membrane plasmique des myocytes cardiaques embryonnaires. Le mini-glucagon ne modifie pas de façon détectable les taux d'AMPc, de GMPc, et d'InsP3 ou le $[Ca^{2+}]_i$. Cette inhibition de l'extrusion entraîne une accumulation de calcium dans les compartiments intracellulaires. En effet, la libération de calcium par la ryanodine est amplifiée par le peptide. De la même manière, la mobilisation de calcium provoquée par le glucagon (ou l'AMPc) est nettement amplifiée en présence de mini-glucagon. Ce mécanisme pourrait rendre compte de la synergie d'action entre l'hormone native et son produit de clivage sur l'organe entier.

Conclusions et perspectives

Les résultats présentés lors de ce colloque indiquent les différences et les complémentarités des modalités de fonctionnement des canaux calciques du réticulum. La nature précise des interactions entre les ions calcium et le récepteur de l'InsP3 reste une question d'actualité. La nature des interactions entre VOC de type L et récepteur de la ryanodine demeure à approfondir dans les cellules non musculaires. En complément,

des données structurales enrichiraient l'identification définitive de I_{crac} . Les relations entre I_{crac} et les autres courants ioniques membranaires restent à explorer, en particulier dans les cellules électriquement excitables. De la même manière, on attend une description moléculaire définitive du ou des facteurs responsables du flux entrant calcique capacitif. L'identification de ces modes de régulation de la mobilisation du calcium intracellulaire permet déjà d'entrevoir le développement d'une pharmacologie spécifique fondée sur ces nouvelles cibles ■

Remerciements

Nous remercions Gilles Guihard, Gervaise Loirand, et les experts du journal pour les commentaires sur ce résumé.

Thierry Capiod

CR1 Inserm, laboratoire de physiologie et pharmacologie cellulaire, Inserm U.274, faculté d'Orsay, université Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex, France.

Pierre-François Méry

CR2 Inserm, laboratoire de cardiologie cellulaire et moléculaire, Inserm CjF 92-11, faculté de pharmacie, 5, rue Jean-Baptiste-Clément, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France.

Pierre Pacaud

Maître de conférences, laboratoire de physiologie, université de Bordeaux-II, 146, rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux Cedex, France.

Ken Takeda

DR2 Cnrs, laboratoire de pharmacologie, Cnrs Ura-600, université Louis-Pasteur de Strasbourg, BP 24, 67401 Illkirch, France.

RÉFÉRENCES

- Putney JW Jr. Capacitative Ca^{2+} -entry revisited. *Cell Calcium* 1990; 11: 611-24.
- Missiaen L, De Smets H, Droogmans G, Himpens B, Casteels R. Calcium ion homeostasis in smooth muscle. *Pharmacol Ther* 1992; 56: 191-231.
- Callewaert G. Excitation-contraction coupling in mammalian cardiac cells. *Cardiovasc Res* 1992; 26: 923-32.
- Berridge MJ. Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature* 1993; 361: 315-25.
- Mauger JP. Régulation du récepteur de l'inositol 1,4,5-triphosphate. *médecine/sciences* 1994; 10: 1013-7.
- Mikoshiha K. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *Trends Pharmacol Sci* 1993; 14: 86-9.
- Sorrentino V, Volpe P. Ryanodine receptors: how many, where, and why? *Trends Pharmacol Sci* 1993; 14: 98-103.
- Ehrlich BE, Kaftan E, Bezprozvannaya S, Bezprozvany I. The pharmacology of intracellular Ca^{2+} -release channels. *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15: 145-9.
- Fasolato C, Innocenti B, Pozzan T. Receptor-activated Ca^{2+} influx: how many mechanisms for how many channels? *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15: 77-83.
- Taylor CW. Ca^{2+} sparks: a wave of excitement. *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15: 271-4.
- Nargeot J, Charnet P. Diversité moléculaire des canaux calciques: du gène à la fonction. *médecine/sciences* 1994; 10: 1293-308.
- Bockaert J. Les récepteurs à sept domaines transmembranaires: physiologie et pathologie de la transduction. *médecine/sciences* 1995; 11: 382-94.
- Claret M, Mauger JP. Hormones, oscillations et vagues calciques. *médecine/sciences* 1994; 10: 393-5.
- Bezprozvany I, Watras J, Ehrlich BE. Bell-shaped calcium-response curves of InsP₃- and Ca^{2+} -gated channels from endoplasmic reticulum of cerebellum. *Nature* 1993; 31: 751-4.
- Marty I, Robert M, Villaz M, De Jongh KS, Lai Y, Catterall WA, Ronjat M. Biochemical evidence for a complex involving dihydropyridine receptor and ryanodine receptor in triad junctions of skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 2270-4.
- Hoth M, Penner R. Depletion of intracellular calcium stores activate a calcium current in mast cells. *Nature* 1992; 355: 353-6.
- Zweifach A, Lewis RS. Mitogen-regulated Ca^{2+} -current of T lymphocytes is activated by depletion of intracellular Ca^{2+} stores. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 6295-9.

18. Van Renterghem C, Lazdunski M. Identification of Ca^{2+} -current activated by vasoconstrictors in vascular smooth muscle cells. *Pflugers Arch* 1994; 429: 1-6.
19. Kuno M, Gardner P. Ion channels activated by inositol 1,4,5-trisphosphate. *Nature* 1987; 326: 301-4.
20. Lückhoff A, Clapham DE. Inositol-tetraphosphate activates an endothelial Ca^{2+} -permeable channel. *Nature* 1992; 355: 356-8.
21. Randriamampita C, Tsien RY. Emptying of intracellular Ca^{2+} stores releases a novel small messenger that stimulates Ca^{2+} influx. *Nature* 1993; 364: 809-11.
22. Randriamampita C, Tsien RY. Degradation of a calcium-influx factor (CIF) can be blocked by phosphatases inhibitors or chelation of Ca^{2+} . *J Biol Chem* 1995; 270: 29-32.
23. Alvarez G, Montero M, Garcia-Sancho G. Cytochrome P450 may regulate plasma membrane Ca^{2+} permeability according to the filling state of the intracellular Ca^{2+} stores. *FASEB J* 1992; 6: 786-92.
24. Xu X, Star RA, Trottorici G, Muallem S. Depletion of intracellular Ca^{2+} stores activates nitric-oxide synthase to generate cGMP and regulate Ca^{2+} influx. *J Biol Chem* 1994; 269: 12645-53.
25. Galione A, White A, Willmott N, Turner M, Potter BVL, Watson SP. cGMP mobilizes intracellular Ca^{2+} in sea urchin eggs by stimulating cyclic ADP-ribose synthesis. *Nature* 1993; 365: 456-9.
26. Yoshida Y, Sun H-T, Cai J-Q, Imai S. Cyclic GMP-dependent protein kinase stimulates the plasma membrane Ca^{2+} pump ATPase of vascular smooth muscle via phosphorylation of a 240-kDa protein. *J Biol Chem* 1991; 266: 19819-25.
27. Randriamampita C, Ciapa B, Trautmann A. Cyclic-GMP-dependent refilling of calcium stores in macrophages. *Pflugers Arch* 1991; 417: 633-7.
28. Ruth P, Wang G-X, Boekhoff I, May B, Pfeiffer A, Penner R, Korth M, Breer H, Hofmann F. Transfected cGMP-dependent protein kinase suppresses calcium transients by inhibition of inositol 1,4,5-trisphosphate production. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 2623-7.
29. Parekh AB, Terlau H, Stühmer W. Depletion of InsP_3 stores activates a Ca^{2+} and K^+ current by means of a phosphatase and a diffusible messenger. *Nature* 1993; 364: 814-8.
30. Montero M, Garcia-Sancho J, Alvarez J. Phosphorylation down-regulates the store-operated Ca^{2+} entry pathway in human neutrophils. *J Biol Chem* 1994; 269: 3963-7.
31. Valera S, Hussy N, Evans RJ, Adami N, North RA, Surprenant A, Buell G. A new class of ligand-gated ion channel defined by $\text{P}_{2\text{U}}$ receptor for extracellular ATP. *Nature* 1994; 371: 516-8.
32. Brake AJ, Wagenbach MJ, Julius D. New structural motif for ligand-gated ion channels defined by an inotropic ATP receptor. *Nature* 1994; 371: 519-23.
33. Pavoine C, Brechler V, Kervran A, Blache P, Le-Nguyen D, Laurent S, Bataille D, Pecker F. Miniglucagon glucagon-(19-29) is a component of the positive inotropic effect of glucagon. *Am J Physiol (Cell Physiol)* 1991; 260: C993-9.
34. Blondel O, Takeda J, Janssen H, Seino S, Bell GI. Sequence and functional characterization of a third inositol trisphosphate receptor subtype, $\text{IP}_3\text{R-3}$, expressed in pancreatic islets, kidney, gastrointestinal tract, and other tissues. *J Biol Chem* 1993; 268: 11356-63.
35. Fohr KJ, Wahl Y, Engling R, Kemmer TP, Gratzl M. Decevanadate displaces inositol 1,4,5-trisphosphate (IP_3) from its receptor and inhibits IP_3 induced Ca^{2+} release in permeabilized pancreatic acinar cells. *Cell Calcium* 1991; 12: 735-42.

TIRÉS À PART

P.F. Méry.