



EI1 Bio - Physiologie 2

**Bases de communication cellulaire:
Système endocrinien**

Travaux Dirigés 4

cesar.mattei@univ-angers.fr

Une étude française a cherché à caractériser l'activité de l'ocytocine et du GABA sur l'excitabilité neuronale avant, pendant et après la naissance, chez la ratte gestante, par divers techniques (Tyzio et al., 2006. Science Science 314 : 1788). Dans un premier temps (Figure 1A), les chercheurs réalisent des mesures de l'excitabilité neuronale sur des tranches d'hippocampe de rat fœtaux et nouveau-né en fonction de l'âge en nombre de jours (E : stade embryonnaire, P : post-naissance). Le % de cellules excitées par le GABA est indiqué en ordonné. Le SSR126768A (●) est un antagoniste des récepteurs à l'ocytocine. E21 se situe 1 à 2 heures avant la naissance. Parallèlement, le potentiel de repos (E_m) de ces neurones est mesuré en fonction de l'âge (Figure 1B).

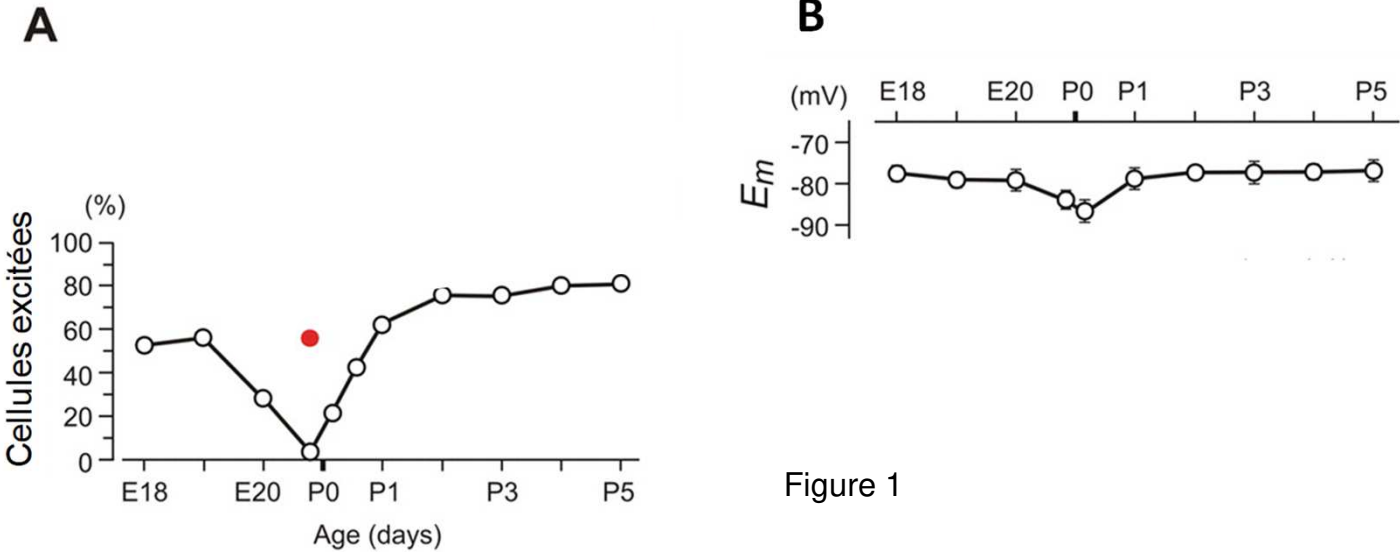
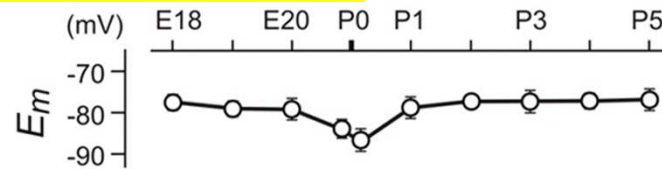
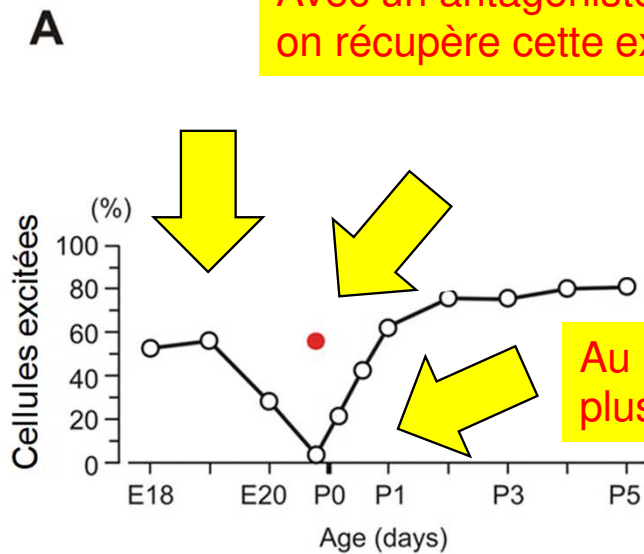


Figure 1

1. Analysez les résultats de la Figure 1A. Que vous apprend-il sur le GABA ? Est-ce conforme à vos connaissances. Justifiez.
2. Pourquoi a-t-on utilisé un antagoniste des récepteurs à l'ocytocine ?
3. Pourquoi a-t-on mesuré le potentiel de repos des neurones ? Interprétez les résultats de la Figure 1 après avoir analysé les données de la Figure 1B.

Le GABA favorise l'excitabilité neuronale : en activant les RGABAA, les neurones sont majoritairement excités

Avec un antagoniste des R à l'ocytocine, on récupère cette excitabilité neuronale



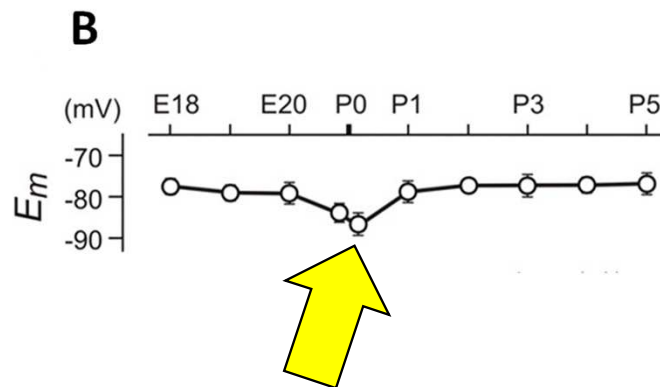
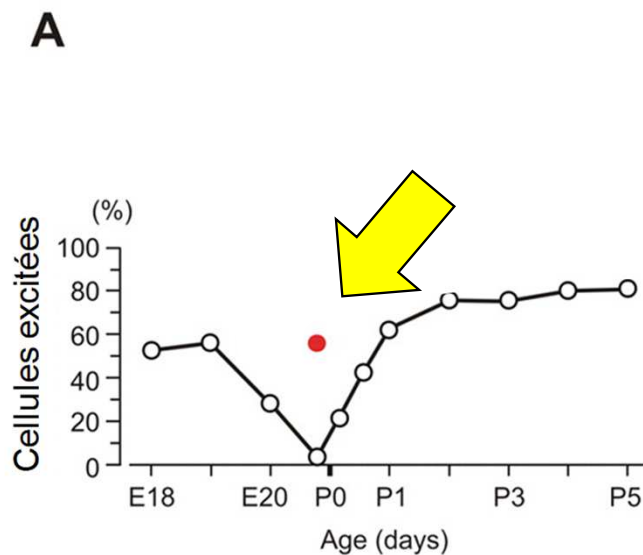
Au moment de la naissance, il n'y plus de neurones excités

Cette inhibition est due à l'occupation de son récepteur par l'OT

Ce qui est contraire à ce que l'on sait des RGABA, qui sont d'ordinaire inhibiteurs. Le GABA joue donc un rôle de NT exciteur.

Donc le GABA est exciteur, l'OT est inhibitrice.

Au moment de la naissance, la mère sécrète de l'OT, et les récepteurs sont occupés. On a donc cherché à mettre en évidence le rôle de l'OT sur les neurones fœtaux.



Le potentiel de repos est normalement négatif : s'il augmente, on se rapproche du seuil d'excitabilité neuronale. S'il diminue, les neurones sont hyperpolarisés et donc hypo-excitable ; c'est ce qui se passe dans la figure 1B : la diminution du E_m indique que les neurones sont hyperpolarisés sous l'action de l'OT.

On mesure ensuite la concentration intracellulaire de Ca^{2+} dans ces mêmes neurones d'hippocampe en fonction du temps à E18, P0 et P5 (Figure 2). La figure 2AB représente le protocole réalisé : une zone de l'hippocampe et les cellules analysées (A et B), la stimulation avec le GABA et les 3 types de réponses enregistrées sur cellules uniques (noir, bleu ou rouge) qui montrent la variation de Ca^{2+} en unité arbitraire (20% de la fluorescence de base). La figure 2CD représente les réponses au GABA des cellules de l'hippocampe.

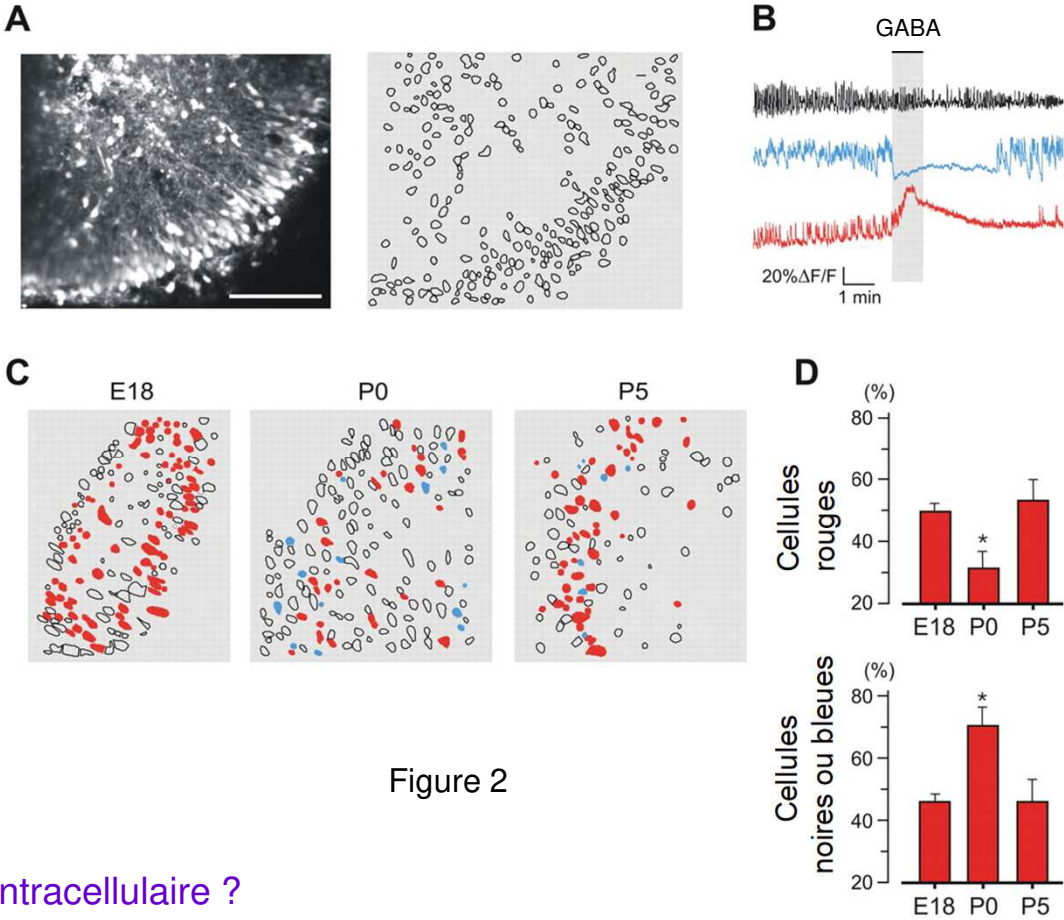
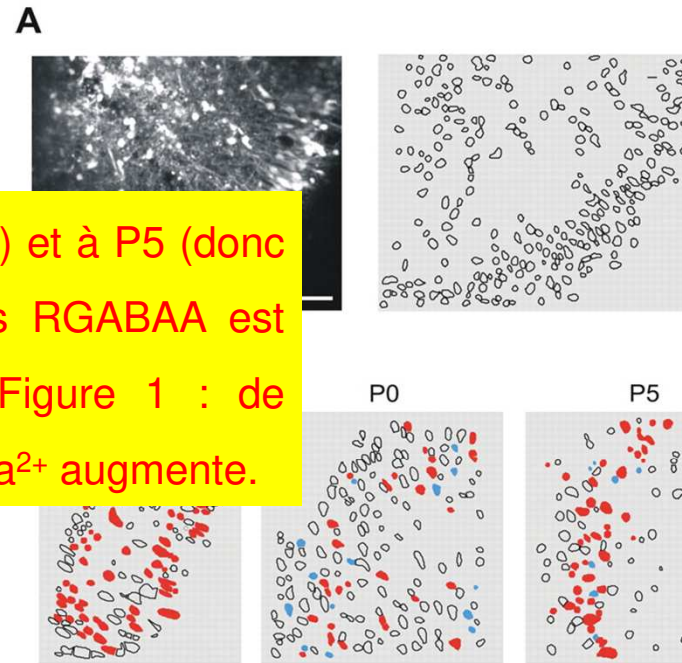


Figure 2

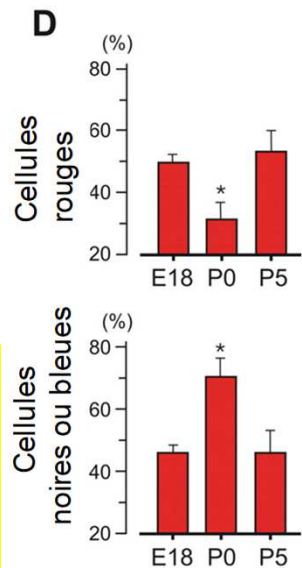
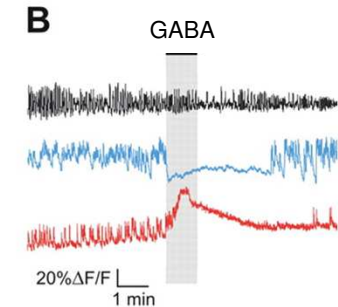
4. Pourquoi mesure-t-on les variations de Ca^{2+} intracellulaire ?

5. Analysez ces résultats, à la lumière des données précédentes.

Une augmentation du Ca^{2+} intracellulaire dans un neurone est la conséquence de l'excitation neuronale, et de la libération de NT.



A E18 (donc largement avant la naissance) et à P5 (donc bien après la naissance), l'activation des RGABAA est bien excitatrice, comme on l'a vu en Figure 1 : de nombreuses cellules sont excitées car le Ca^{2+} augmente.



A P0, au moment, où il y a le plus d'ocytocine libérée, le GABA n'induit pas autant de cellules excitées. Il y a donc bien un effet favorisant de l'OT favorisant l'inhibition du GABA.

La même expérience que la Figure 2 est réitérée mais en présence de GABA seul ou avec l'ocytocine à P4 (Figure 3).

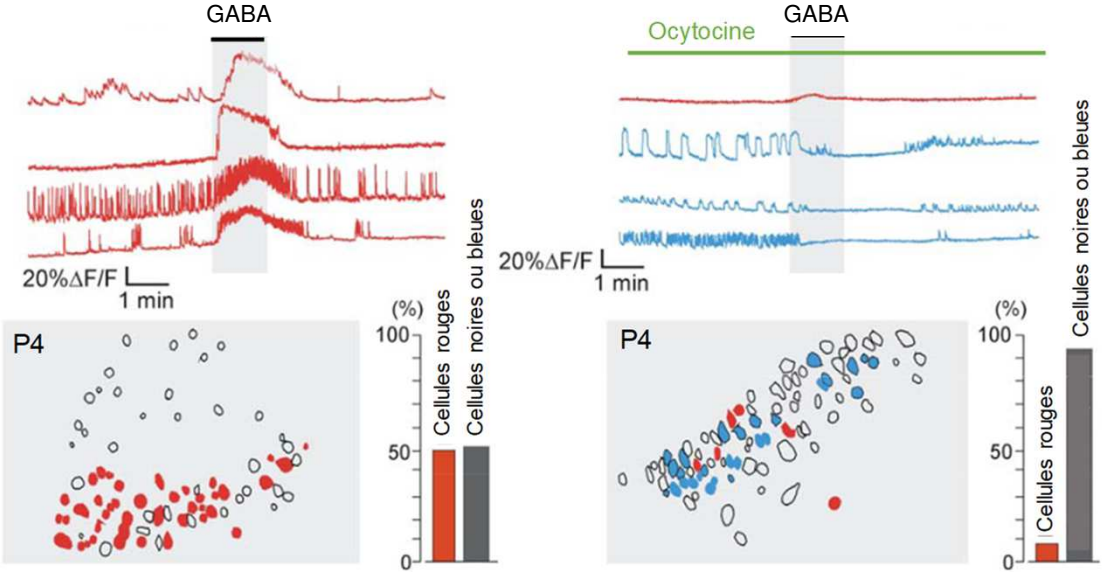
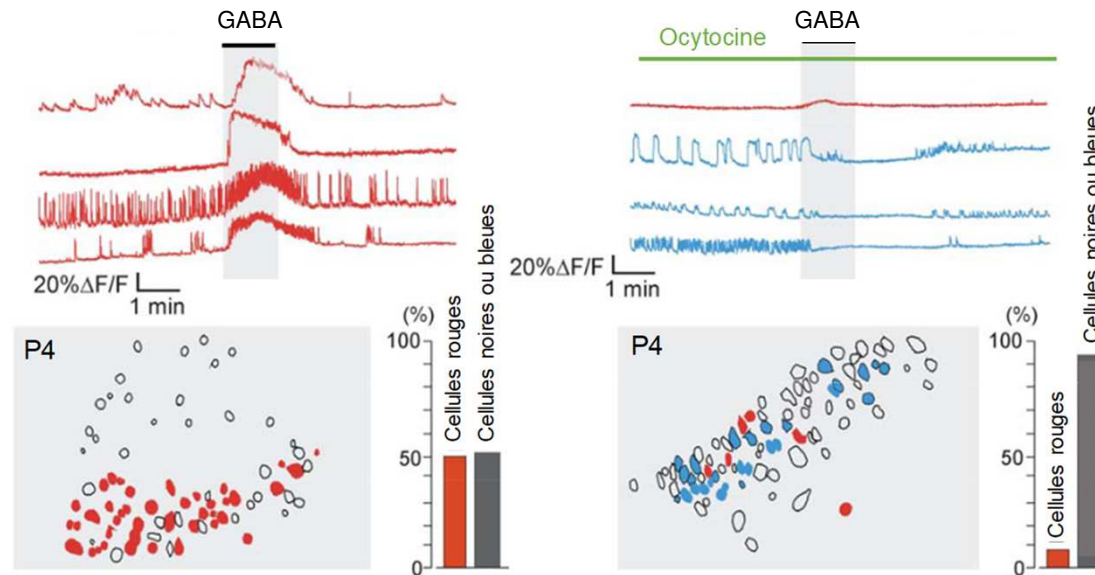


Figure 3

6. Quel est l'effet de l'ocytocine sur les variations de Ca^{2+} intracellulaire ? Comment pouvez-vous l'expliquer ?

A P4 : autant de cellules excitées que silencieuses par activation des RGABAA.



Si on ajoute de l'OT, l'effet excitateur du GABA est réduit. Ce qui confirme le résultat précédent. L'OT, en se fixant à son récepteur (RCPG), induit une voie de signalisation qui favorise l'effet inhibiteur du GABA. A P4, il y a peu d'OT sécrétée, donc peu de récepteurs occupés. Les neurones fœtaux sont excités par le GABA.

Enfin, on réalise des immunomarquages de coupes d'hippocampe, avec des anticorps dirigés contre les récepteurs de l'ocytocine en fonction du stade de développement. La quantification est visible en Figure 4 (mesure de l'intensité de marquage).

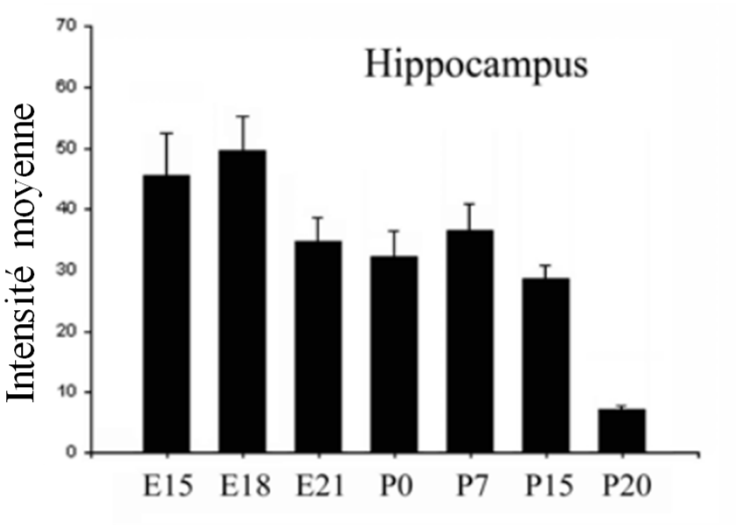
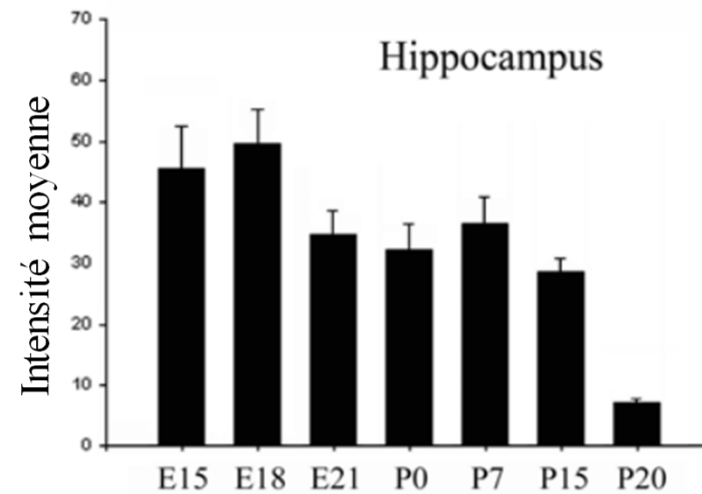


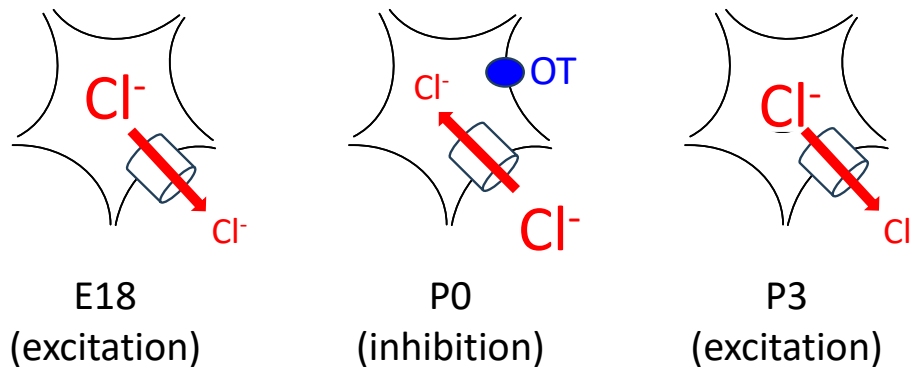
Figure 3

- 7. Que vous indique ce résultat ? Comment pouvez-vous l'expliquer ?
- 8. Proposez une conclusion globale de ces données avec un schéma représentant le mode d'action neuronale du GABA et de l'ocytocine. Votre schéma fera clairement apparaître une hypothèse de voie de signalisation intracellulaire permettant de rendre compte des données des 4 figures.
- 9. Quel est selon-vous le rôle de l'ocytocine qu'illustre ce travail ?

Le nombre de récepteurs à l'OT diminue en fonction du temps : l'expression est maximale avant la naissance, puis diminue dans les jours suivants la naissance. Compte-tenu du rôle inhibiteur de l'OT, il est important qu'il y ait des R_{OT} pendant la naissance, pas après.



Le GABA est un NT normalement inhibiteur, mais il est excitateur dans les neurones immatures : il fait sortir du Cl^- . Au moment de la naissance, l'OT maternelle permet de s'opposer à l'action excitatrice du GABA, en inversant le gradient de Cl^- (au lieu de sortir de la cellule, il y entre).



L'OT joue un rôle inhibiteur sur le SNC des fœtus pour les « anesthésier » au moment de la naissance, cad un moment où ils pourraient se retrouver en anoxie. Ils réduisent donc leur excitabilité et leur métabolisme.