

SV-I Communications intercellulaires et intégration d'une fonction à l'organisme

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires



2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

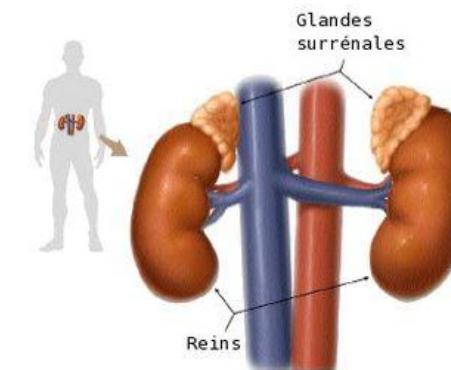
❖ Communication **hormonale = endocrine** : communication publique

Emission du message par une cellule endocrine : cellule sécrétant un messager chimique dans le sang

Distribution à toutes les cellules

Action sur des cellules cibles (qui possèdent le récepteur)

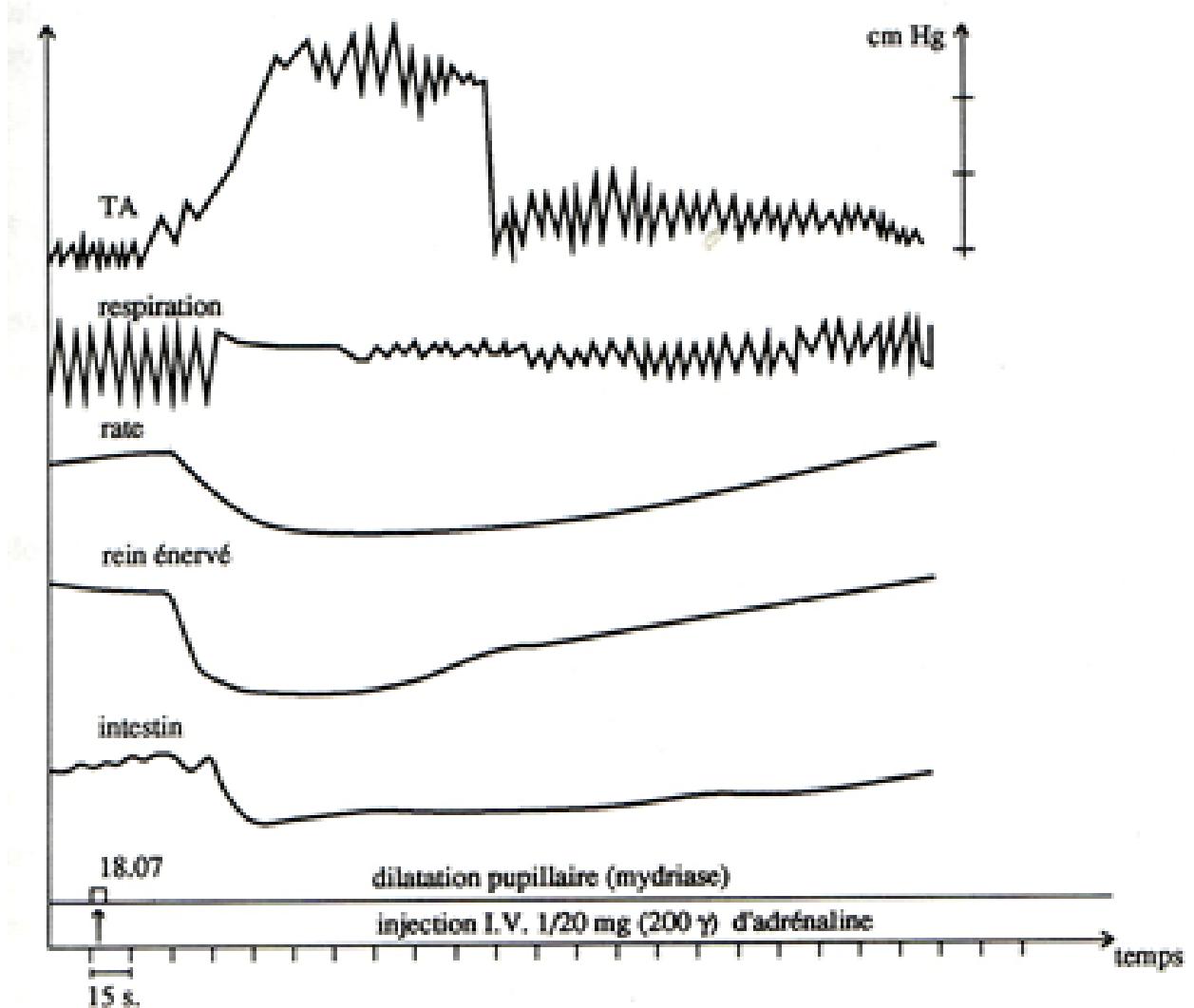
Exemple : adrénaline et glandes Surrénales



2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

Injection d'adrénaline : différentes réponses

Effet de l'adrénaline sur différentes cibles



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

Codage en concentration

Exemple : libération d'adrénaline lors de l'exercice : plus l'intensité est grande, plus il y a d'adrénaline sécrétée

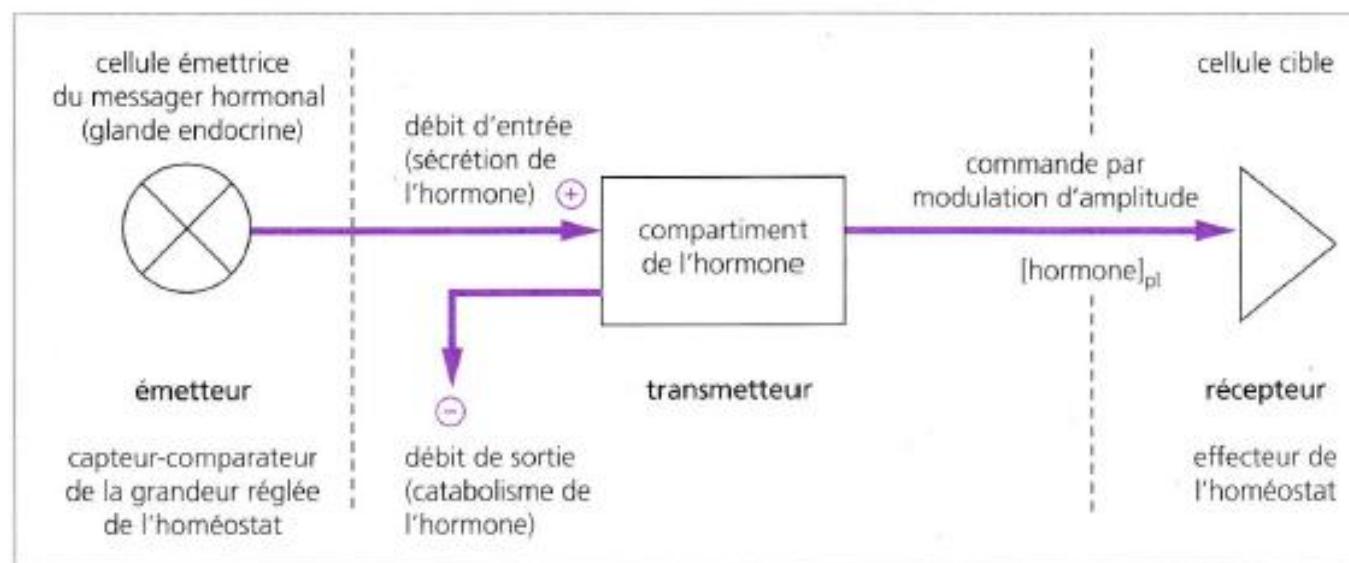
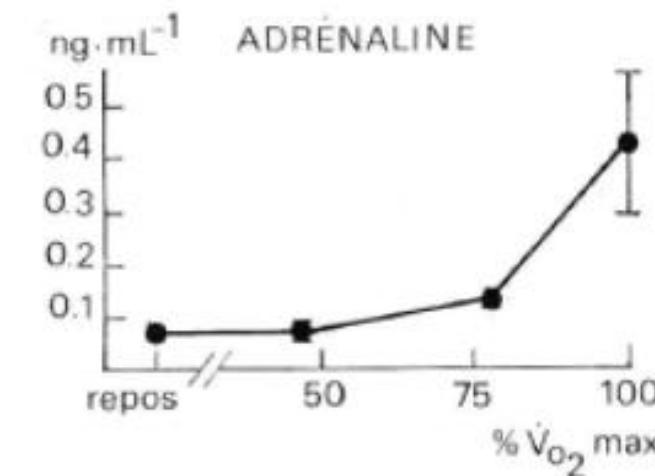


Fig. 3.1. Schéma cybernétique de la voie de communication hormonale.

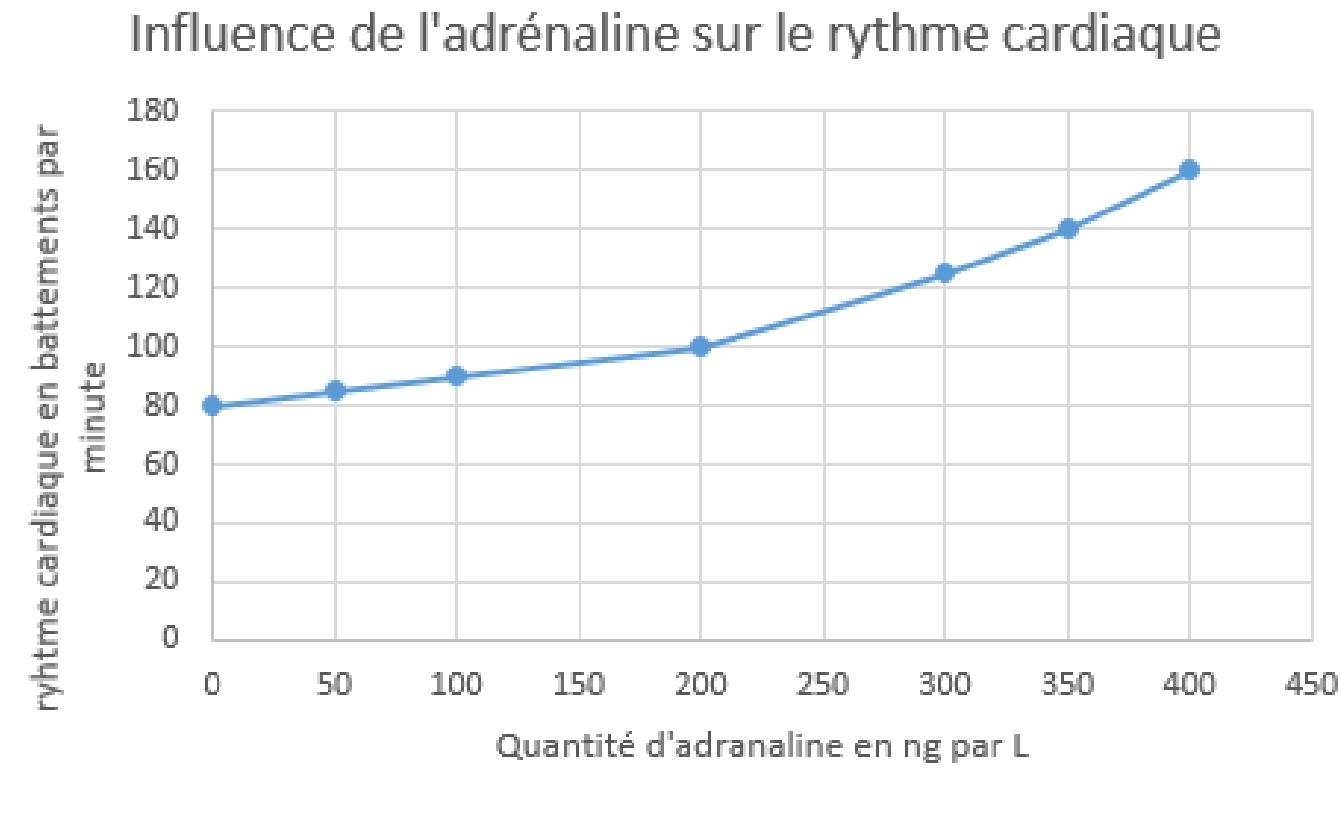


SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

Message codé en concentration

Exemple : effet de la dose d'adrénaline sur la fréquence cardiaque



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

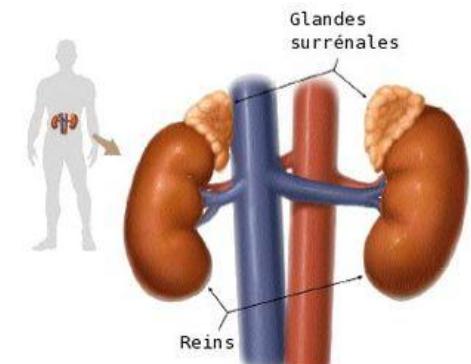
2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

❖ Communication **hormonale = endocrine** : communication publique

- Emission du message par une **cellule endocrine** : cellule sécrétant un messager chimique dans le sang
- **Distribution** à toutes les cellules **via le sang**
- Action sur des **cellules cibles** (qui possèdent le récepteur), la spécificité de la réponse dépend de la cellule cible.
- **Codage de l'information en concentration**



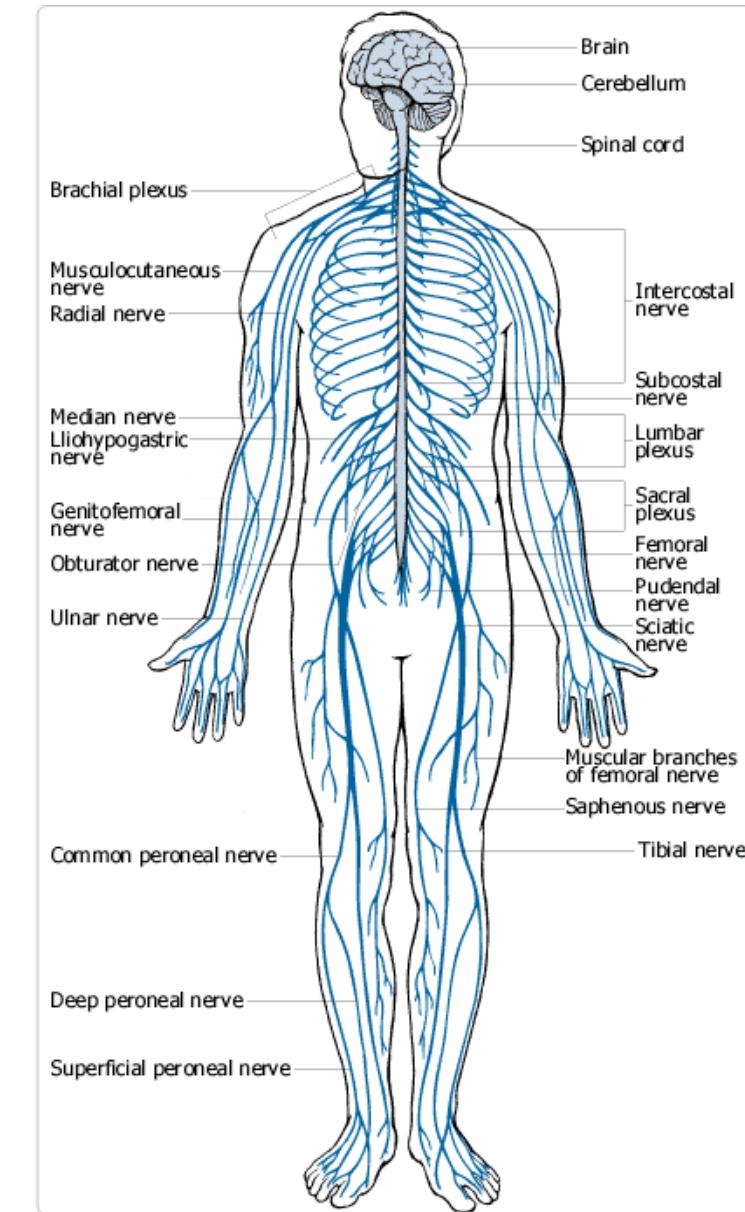
Exemple : adrénaline



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

❖ La communication nerveuse : une communication privée



Source <http://www.ama-assn.org/>

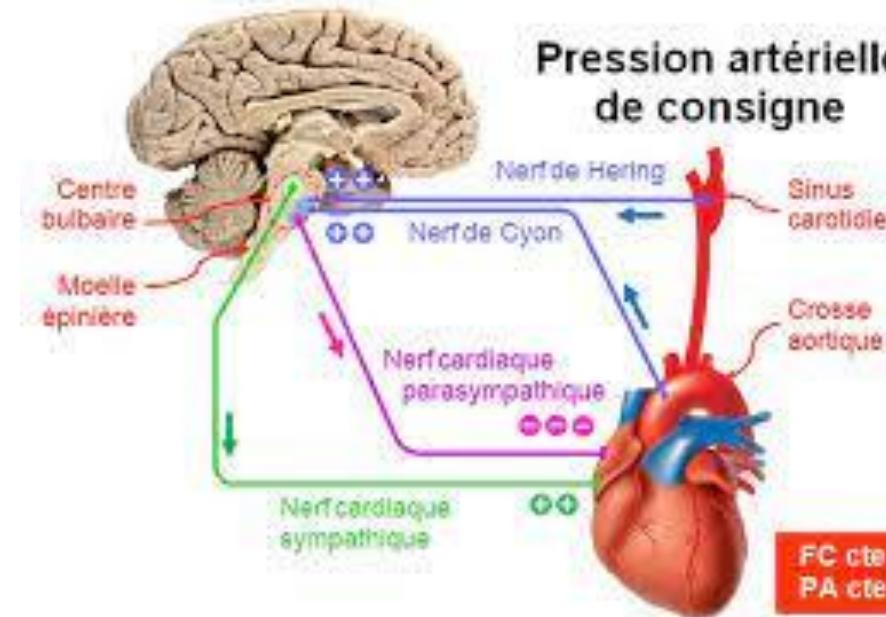
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

Principe général : lien SV-I-1

Exemple du Baroréflexe :

Récepteur sensoriel / centre intégrateur / effecteur



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

Codage en fréquence de potentiel d'action

Message nerveux codé par la fréquence des potentiels d'action

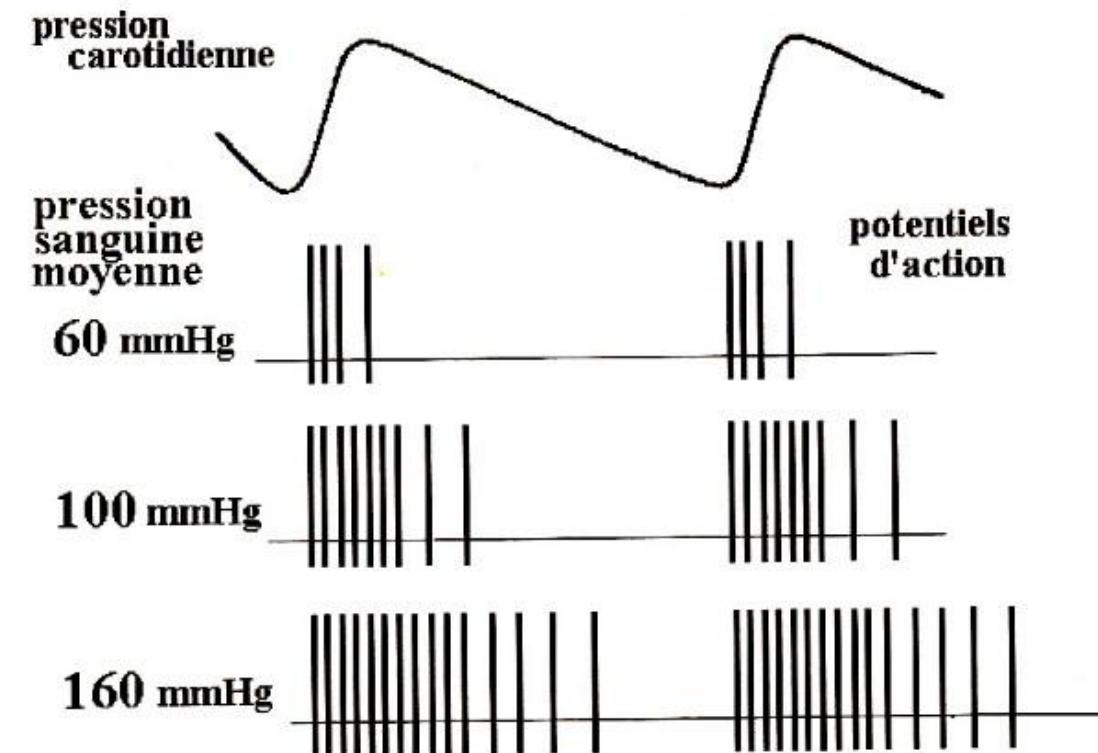


Figure 16-2 Potentiels d'action enregistrés sur le nerf sinusal (en raison de la faible vitesse de balayage de l'oscilloscope, les PA apparaissent comme de simples traits verticaux).

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

Généralisation

Principe général
somatique Vs autonome

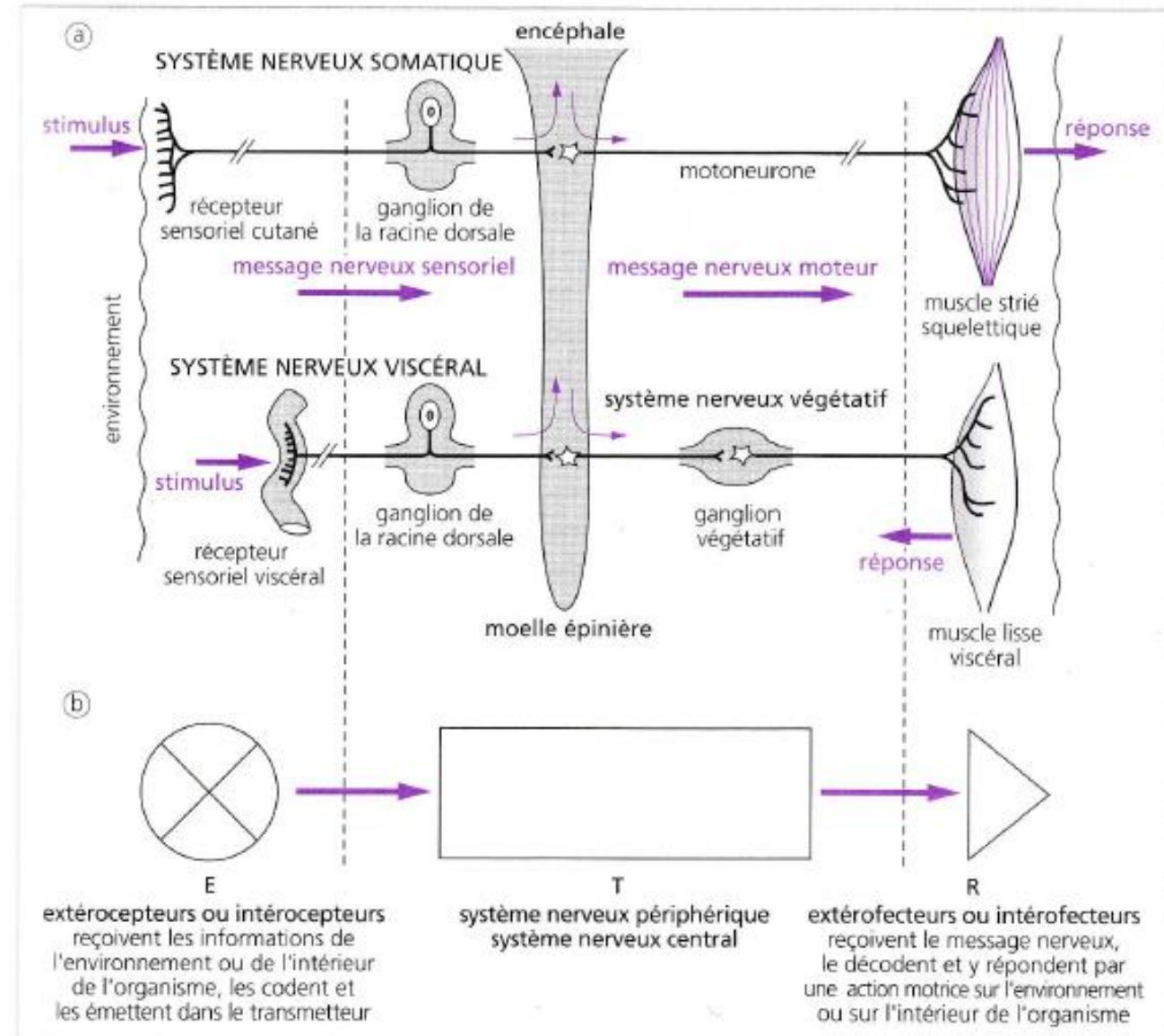


Fig. 4.1. La voie de communication du système nerveux au niveau d'organisation systémique. a. Schéma analogique et fonctionnel; b. schéma cybernétique. E: émetteur-capteur; T: transmetteur; R: récepteur-effecteur.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

❖ La communication **paracrine** une communication à courte distance

Rappel exercice musculaire :
production NO par l'endothélium
(intima) des artéries du muscle et
action sur la média de la même artéole
Diffusion sur quelques cellules.

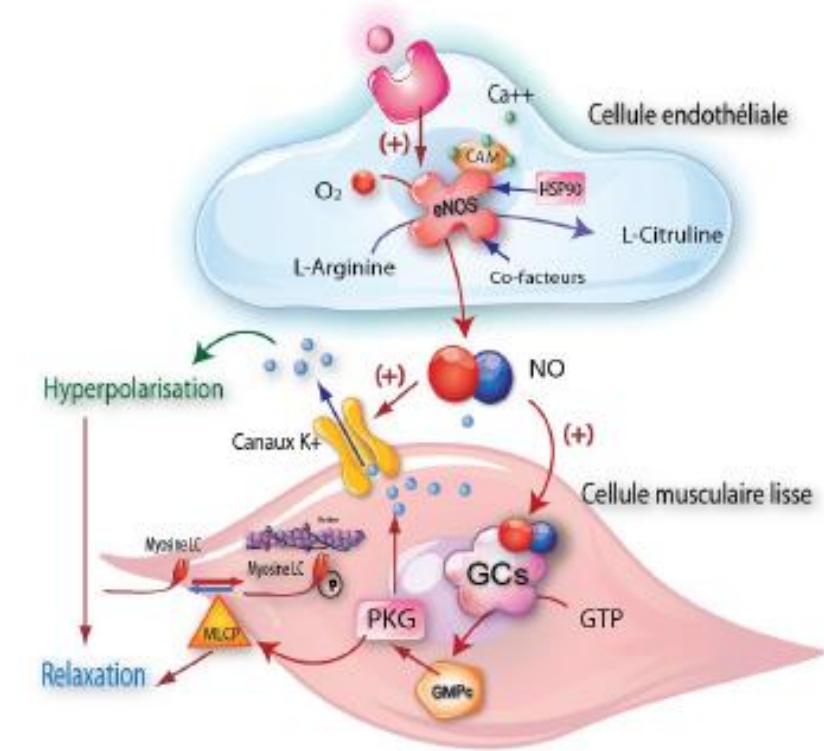


Figure 2. Effets du NO sur la cellule musculaire lisse
L'acide aminé L-Arginine est converti par la NOSe en NO et en L-Citruline. Le NO diffuse de la cellule endothéliale vers la cellule musculaire lisse adjacente où il active un effecteur enzymatique, la guanylate cyclase soluble (GCs). La GCs convertit le GTP en un second messager cyclique, le GMPc, qui active la protéine kinase G (PKG). Cette dernière diminue l'interaction actine-myosine en activant la protéine phosphatase de la chaîne légère de la myosine kinase (MLCP) et en favorisant l'ouverture des canaux potassiques (K^{+}).

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.1 Trois principales modalités de communications intercellulaires

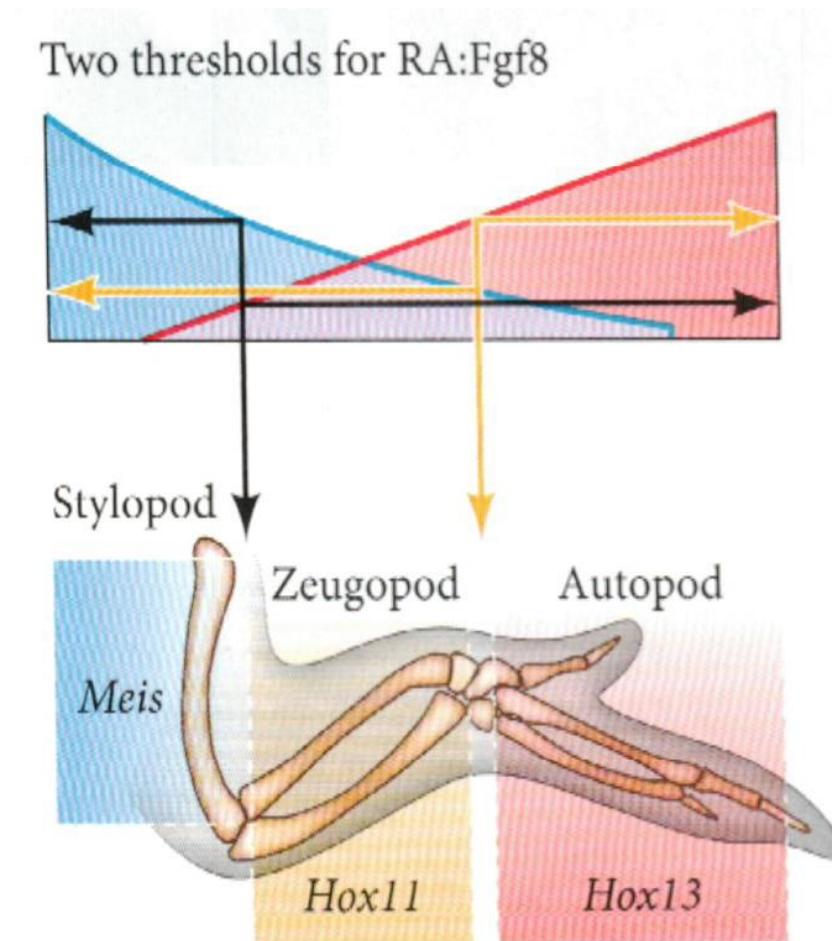
Message paracrine : messager chimique diffusant à courte distance

Nombreux exemples

Exemple 1 : SV-H FGF et induction du membre

Exemple 2 : acétylcholine et diffusion dans une synapse chimique (voir 2.5)

Exemple 3 : monoxyde d'azote (NO) produit par l'endothélium (intima) des artéries et agissant sur la média de la même artéiole



Bilan : comparaison des 3 modes de communication

	Communication nerveuse	Communication hormonale = endocrine	Communication paracrine
Type de communication	« privée) : directe de cellule à cellule	« publique » : distribution à toutes les cellules	Semi-publique : distribution à toutes les cellules seulement sur une courte distance
Exemple du programme	Boucle baroréflexe	Adrénaline Hormones stéroïdes (hormones sexuelles)	NO, Neuromédiateurs (Ach et NA), Molécules de contrôle du développement : fgf8, shh, wnt...
Message	Potentiel d'action	Messager chimique	
Codage	Fréquence des potentiels d'action	Concentration de l'hormone	Concentration du messager
Durée de la réponse	Quelques ms	Quelques secondes à plusieurs heures	Quelques secondes
Transmission à la cellule cible	Synapses chimiques ou synapses électriques	Récepteurs (protéines) dans la membrane ou dans le cytoplasme	

Bilan :
comparaison des 3 modes de communication :

- Communication **nerveuse**
- Communication **hormonale**
- Communication **paracrine**

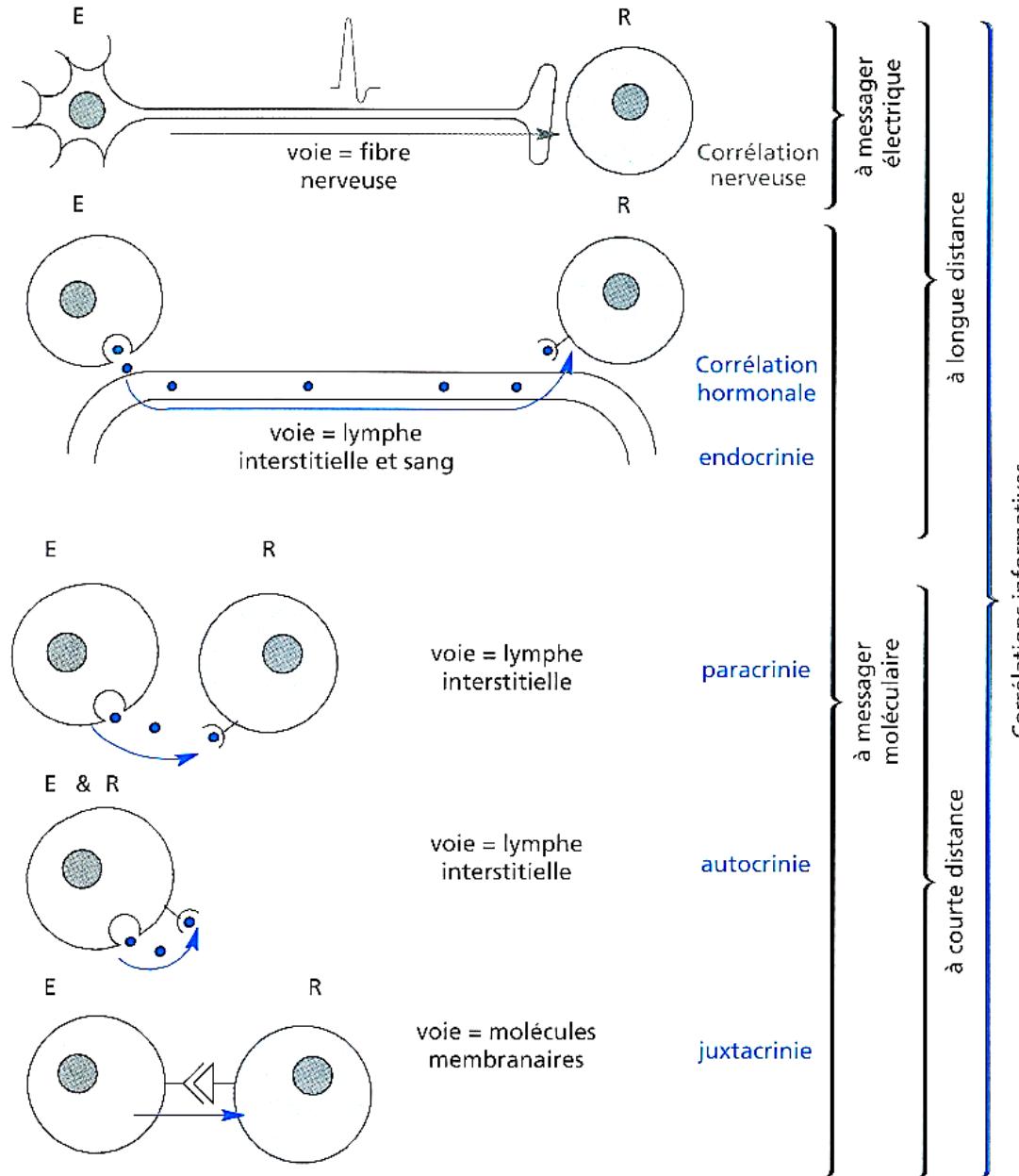


Figure 10.3 Divers types de corrélations en fonction de l'éloignement de l'émetteur et du récepteur.
 E : émetteur de messages ; R : récepteur de messages.

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager

Exemple, deux types de récepteurs à l'acétylcholine

Récepteur à l'acétylcholine	Molécule agoniste	Molécule antagoniste
Muscarinique	Muscarine	Atropine
Nicotinique	Nicotine	Hexaméthonium

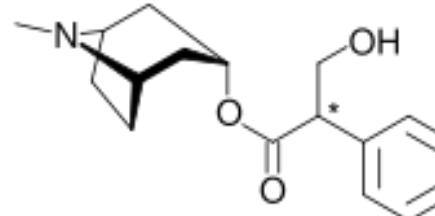
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager

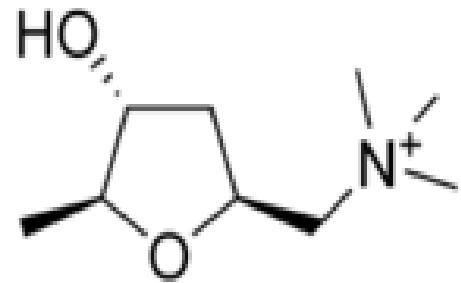
Atropine

Alcaloïde présent dans la belladone, le datura, le jusquiame (Solanacées)

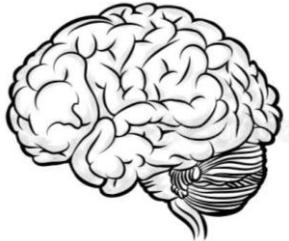


Muscarine

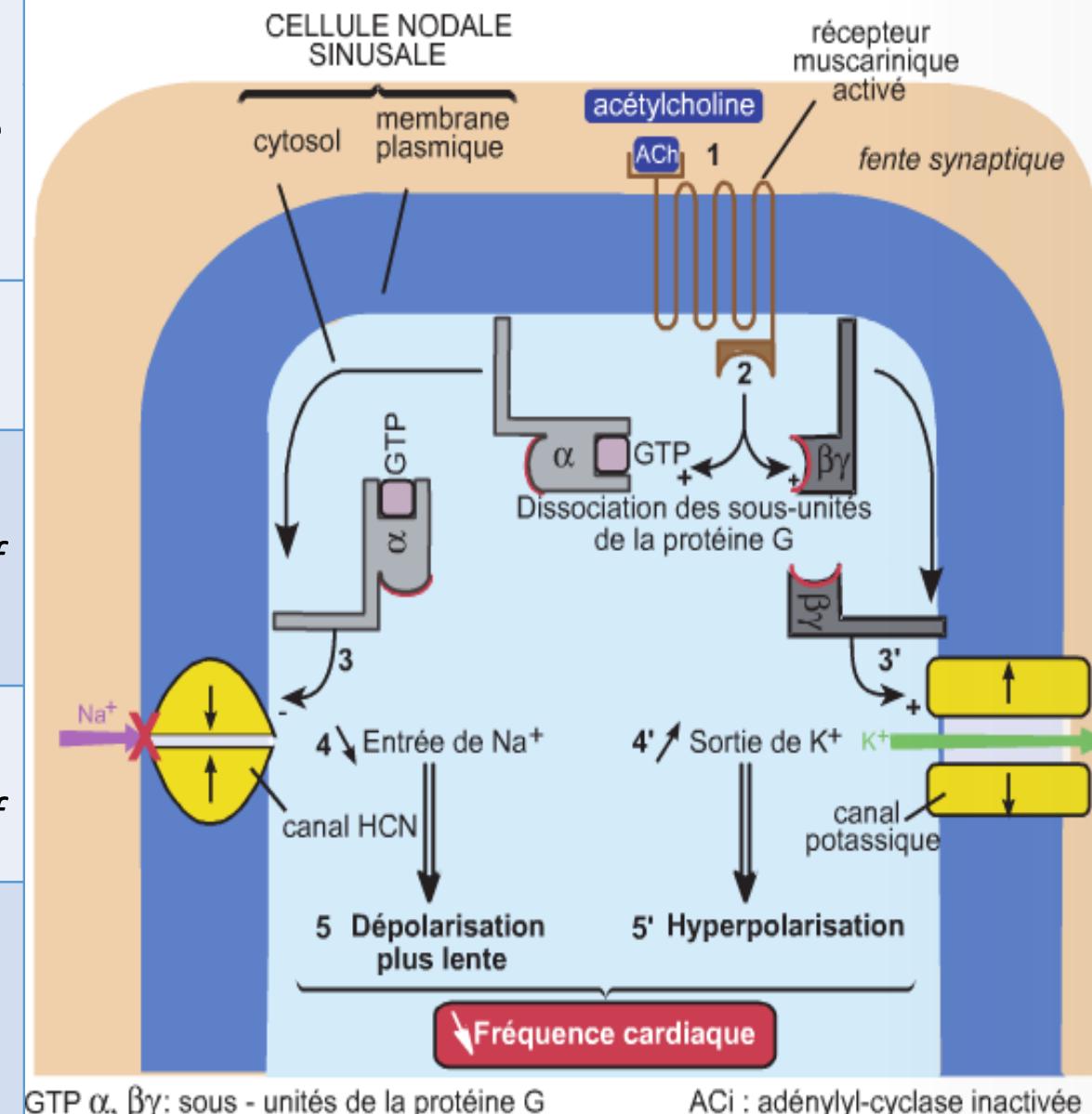
Extrait du champignon amanite tue mouche



Rappels :



	Cellule nodale	cardiomyocyte
Récepteur(s)	β1 et Muscariniques	β1
Effets de l'adrénaline (hormone de la médullosurrénale)	Sur β1 effet chronotrope positif	Sur β1 effet inotrope positif
Effets de la noradrénaline	Sur β1 effet chronotrope positif	Sur β1 effet inotrope positif
Effets de l'acétylcholine	Sur récepteurs muscariniques (métabotropiques) effet <i>chronotrope négatif</i>	



GTP α , $\beta\gamma$: sous - unités de la protéine G

ACi : adénylyl-cyclase inactivée

FIGURE 3.12 Effet chronotrope négatif de l'acétylcholine sur une cellule du NSA via les récepteurs muscariniques mAChR.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager

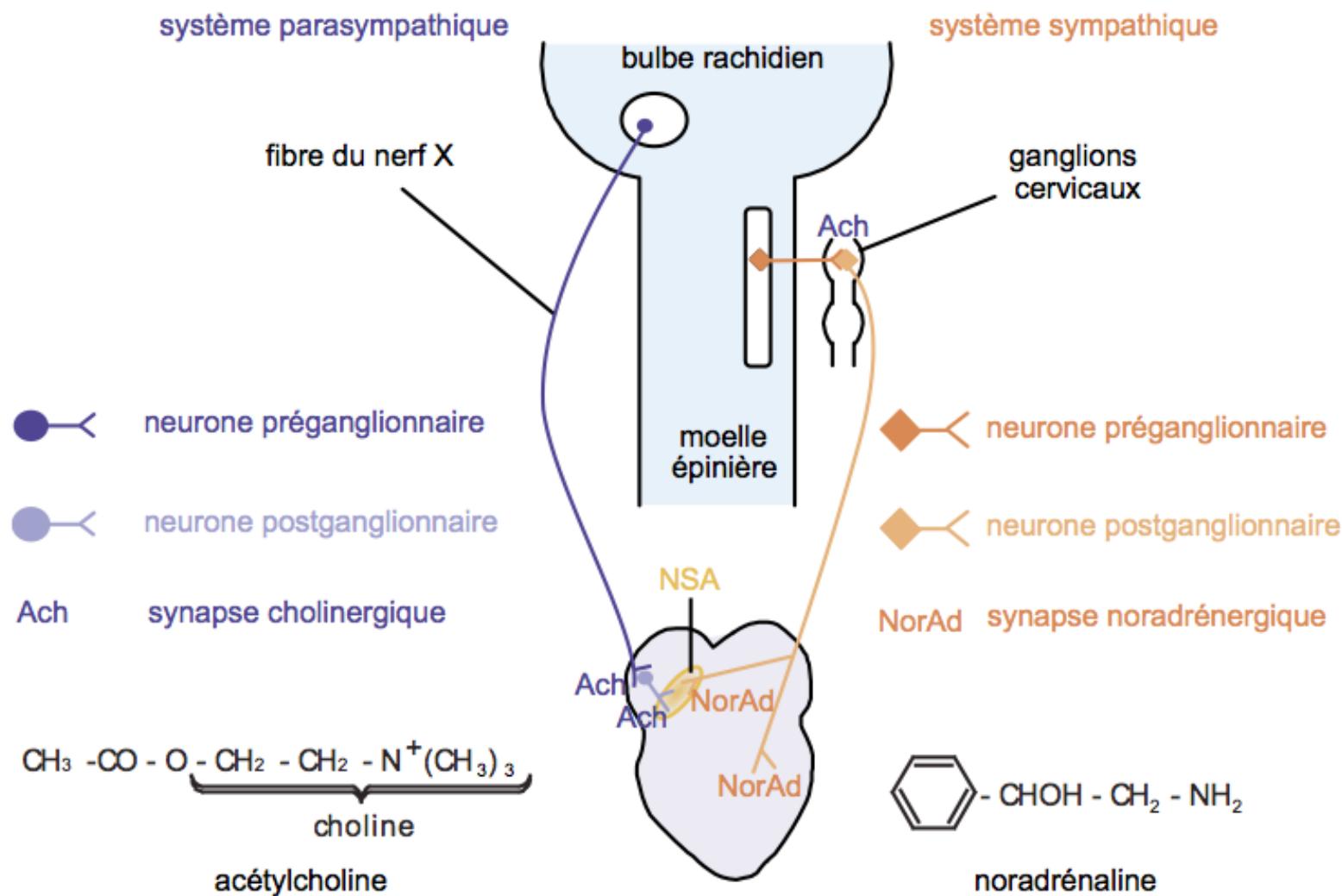


FIGURE 3.8 Disposition schématique de l'innervation cardiaque.

L'innervation cardiaque est paire. Le parasympathique n'est ici représenté que dans sa partie droite, le sympathique que dans sa partie gauche.

Récepteurs muscariniques à l'acétylcholine : une autre protéine G : Gi

Association à une sous unité $G\alpha$ inhibitrice : diminution de la quantité d'AMPc : d'où l'action modératrice du système parasympathique,

G_0 via les sous-unités $\beta\gamma$ peuvent moduler des canaux potassium GIRK
(I_{Kach} sur la figure)

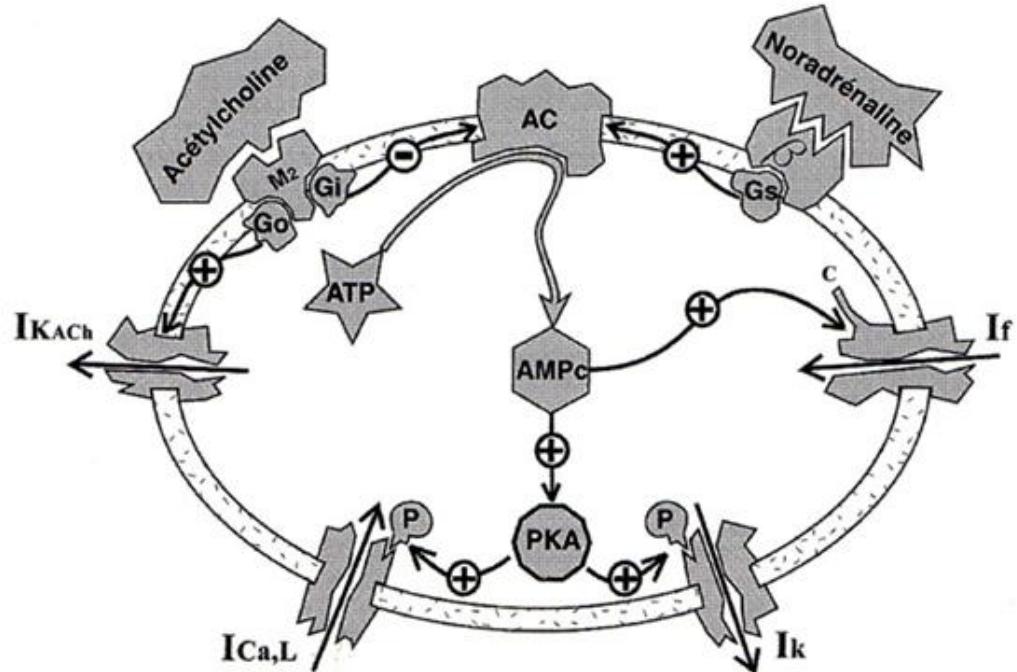


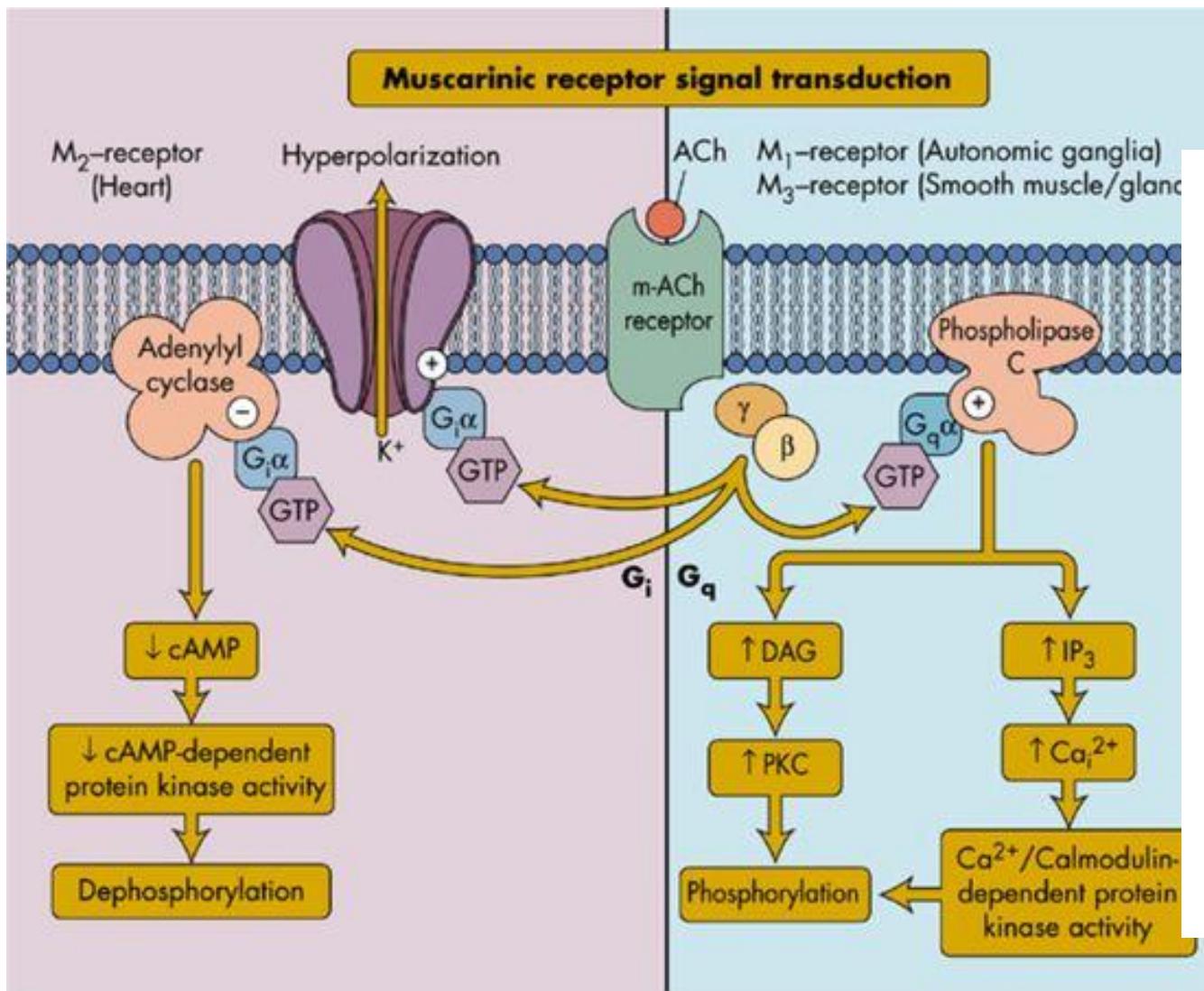
FIG. 3-3. – ILLUSTRATION SCHÉMATIQUE DU MODE D'ACTION DES NEUROTRANSMETTEURS SUR LES PRINCIPAUX CANAUX IONIQUES D'UNE CELLULE DU NŒUD SINO-AURICULAIRE.

AC, adénylate cyclase ; AMPc, adénosine monophosphate cyclique ; ATP, adénosine triphosphate ; β , récepteurs β_1 - et β_2 -adrénergiques ; C, partie carboxyterminale cytoplasmique de la protéine du canal-f contenant le site de fixation de l'AMPc ; G_i, G_s et G₀, protéines G couplées aux récepteurs des neurotransmetteurs ; M₂, récepteurs muscariniques cholinergiques ; P, sites de phosphorylation ; PKA, protéine kinase A.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager



- 5 isoformes différentes (M1 - M5)
 - **M1 - "neural"** (dans le SNC) et dans le système nerveux entérique et les ganglions
 - **M2 - "cardiaque"** dans les oreillettes, nœuds AV et SA ; également trouvé dans les muscles lisses
 - certains dans le cerveau comme présynaptiques
 - **M3 - glande exocrine "glandulaire"** ; des muscles lisses; cellules endothéliales; Cellules pariétales

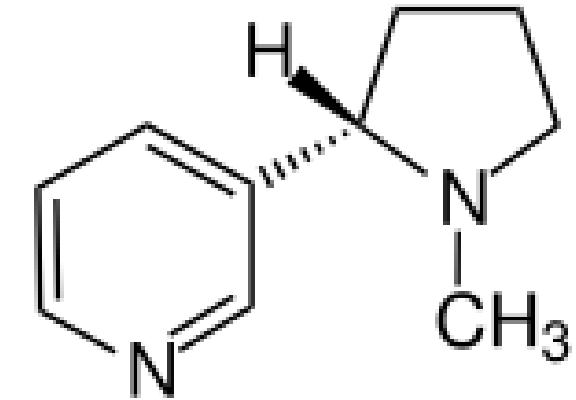
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager

Notion d'agoniste et d'antagoniste

Nicotine : alcaloïde extrait du Tabac (*Nicotiana tabacum*, Solanacées)

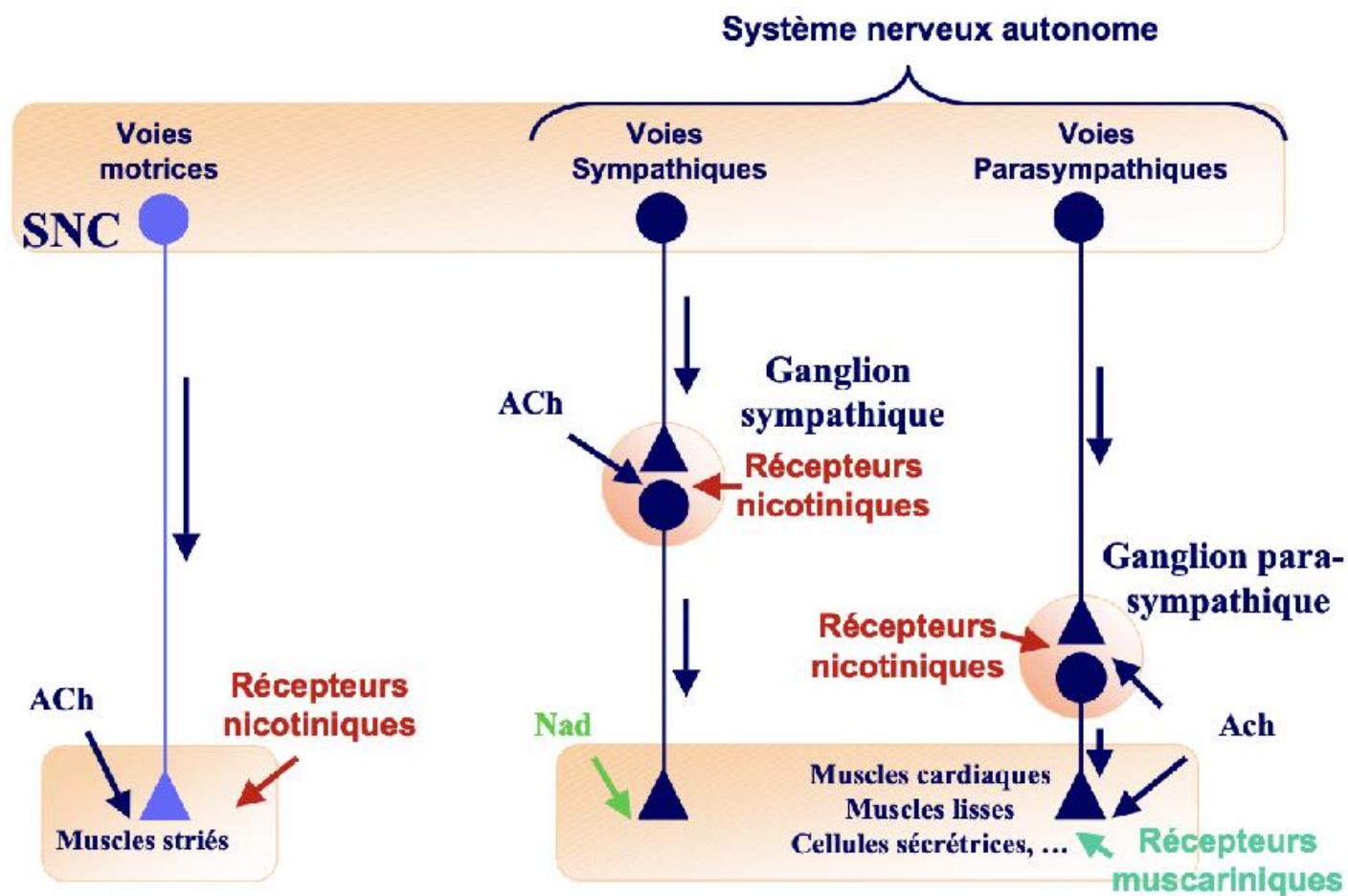


SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager

Récepteurs cholinergiques



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager

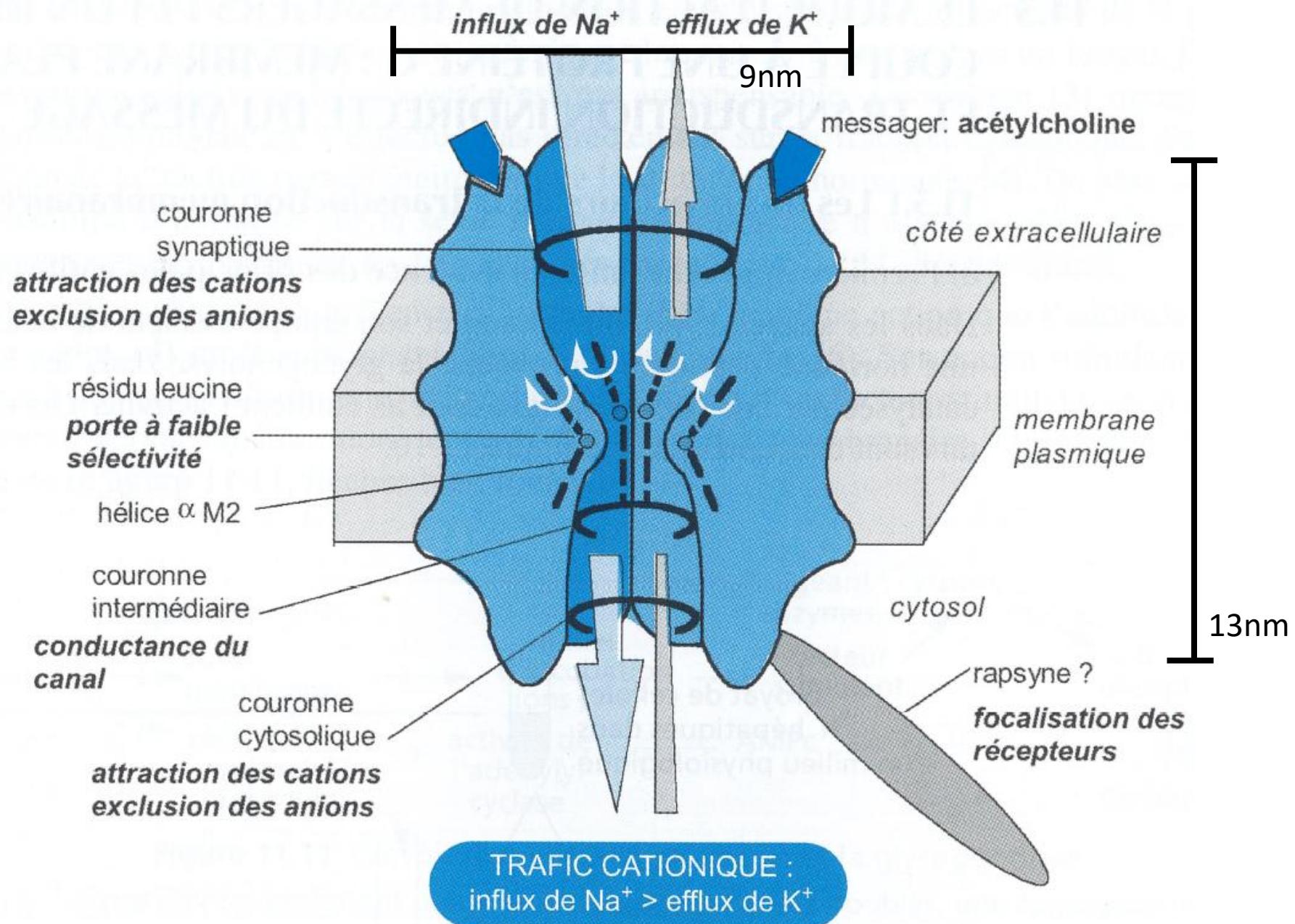


Figure 11.9 Modèle fonctionnel simplifié de l'organisation du nAChR.
La position indiquée pour la rapsyne reste hypothétique.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager

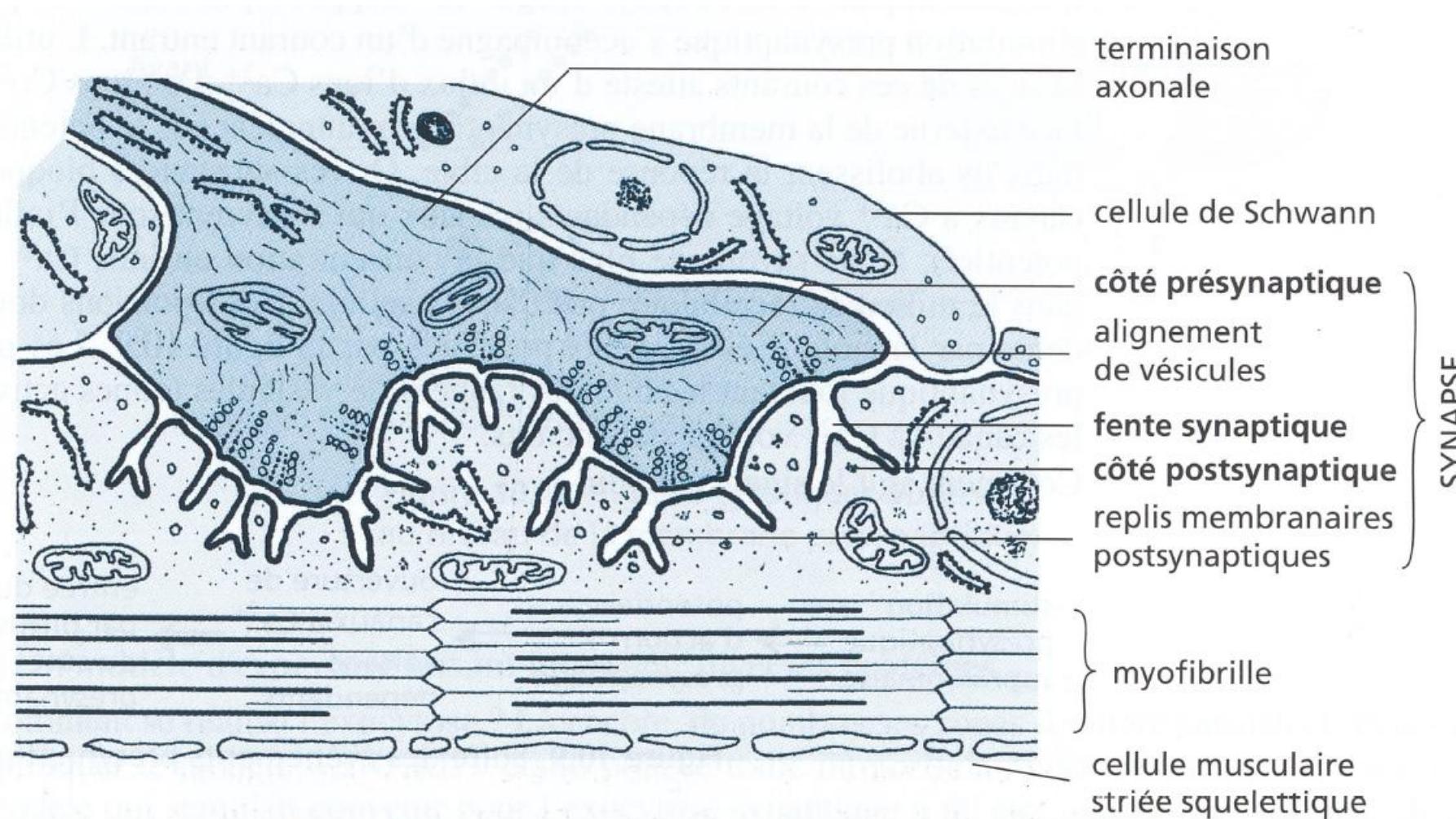


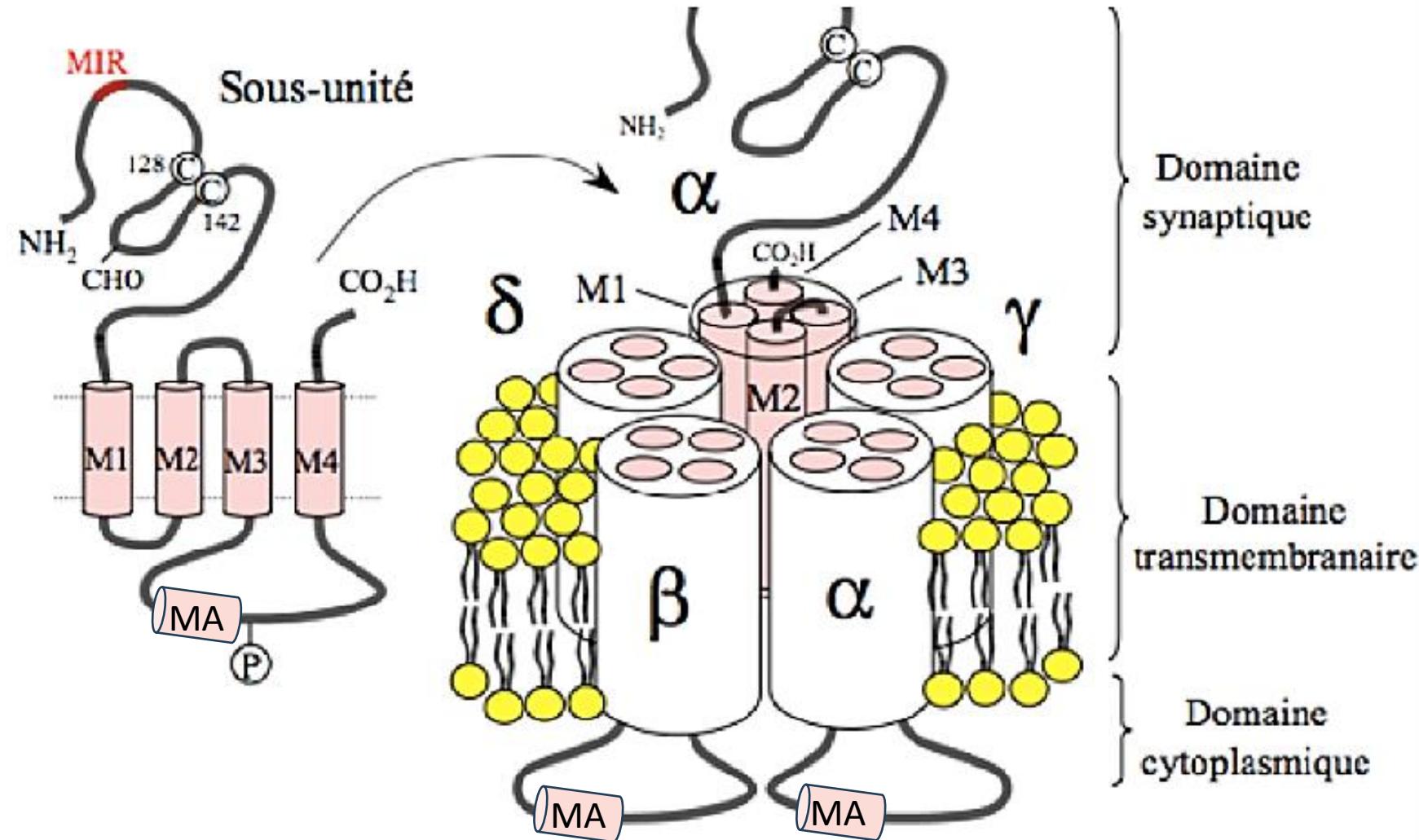
Figure 10.8 Organisation d'une synapse neuromusculaire.

En gras, les trois composants de toute synapse chimique.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager

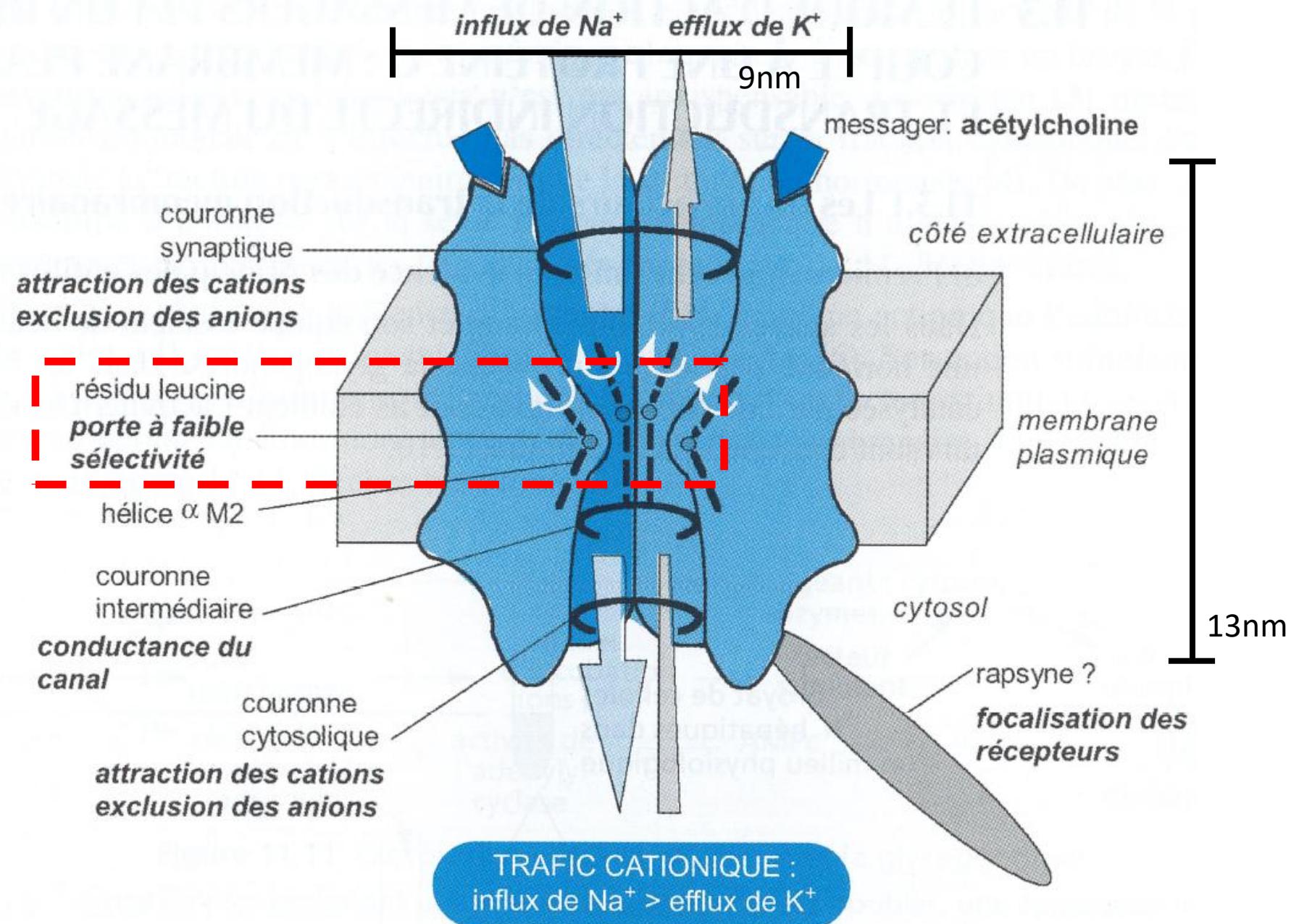


Figure 11.9 Modèle fonctionnel simplifié de l'organisation du nAChR.
La position indiquée pour la rapsyne reste hypothétique.

Bilan

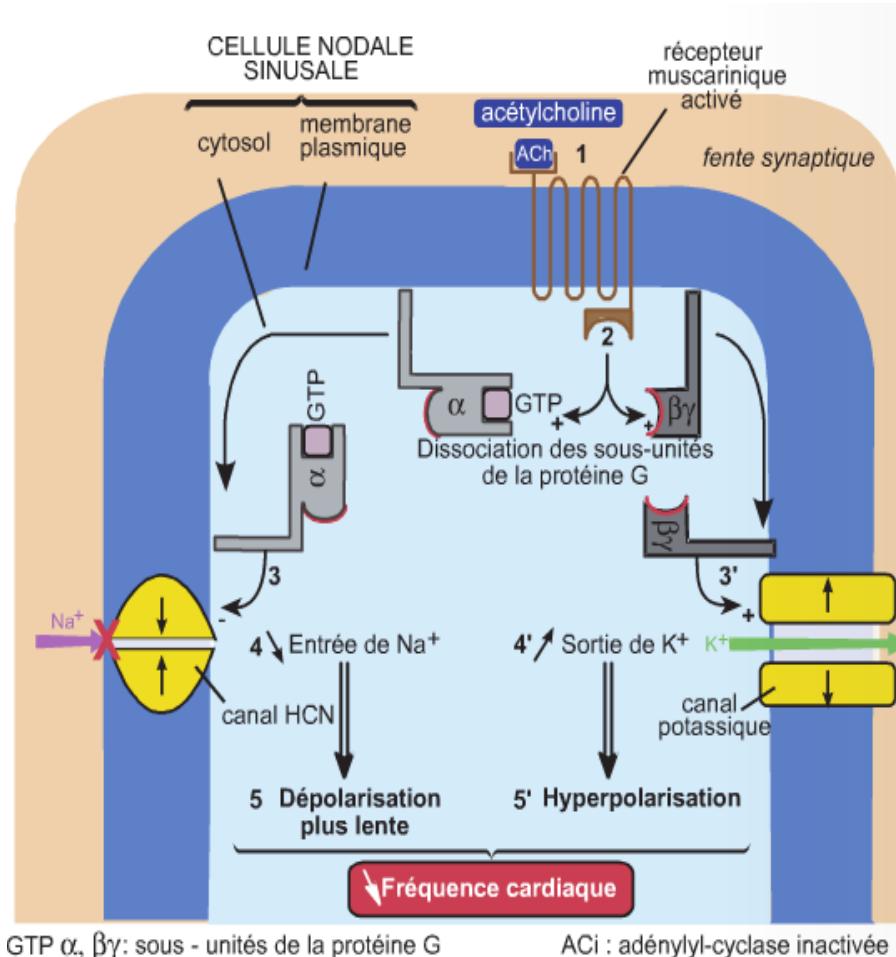
Effets de l'acétylcholine

Cellule nodale

Récepteurs muscariniques métabotropiques
effet *chronotrope négatif*

Muscle squelettique

Récepteur nicotinique ionotropique
Contraction musculaire



GTP α , $\beta\gamma$: sous - unités de la protéine G

ACI : adénylyl-cyclase inactivée

FIGURE 3.12 Effet chronotrope négatif de l'acétylcholine sur une cellule du NSA via les récepteurs muscariniques mAChR.

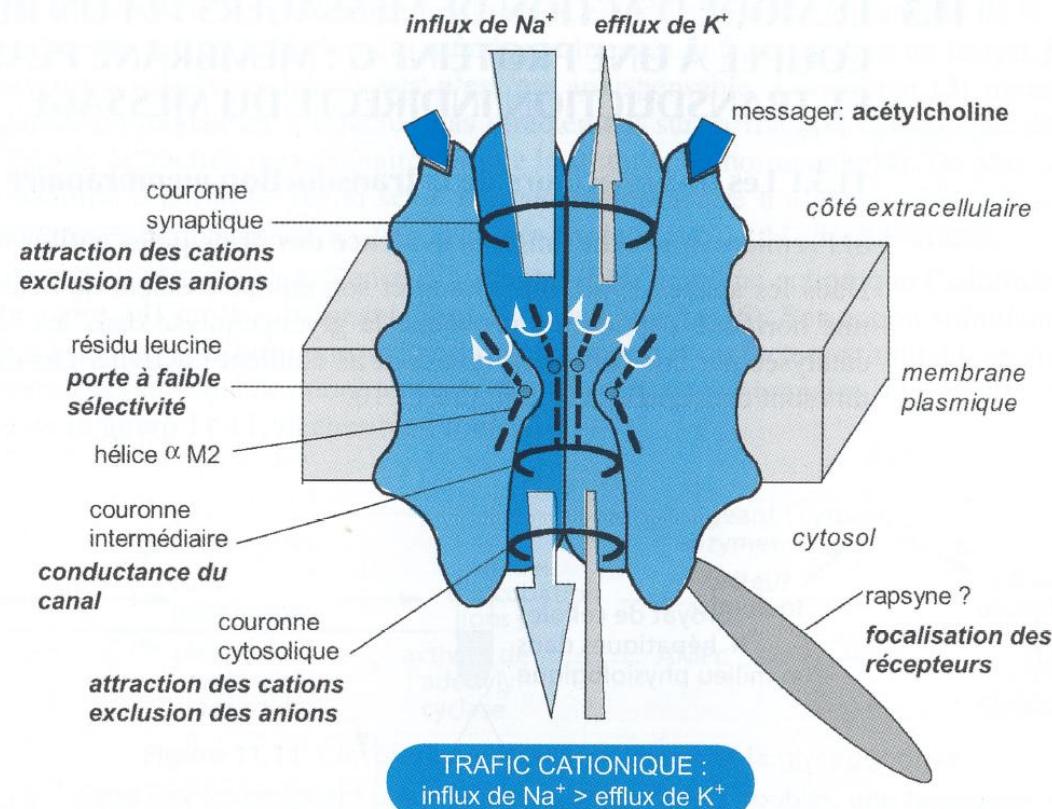


Figure 11.9 Modèle fonctionnel simplifié de l'organisation du nAChR.
La position indiquée pour la rapsyne reste hypothétique.

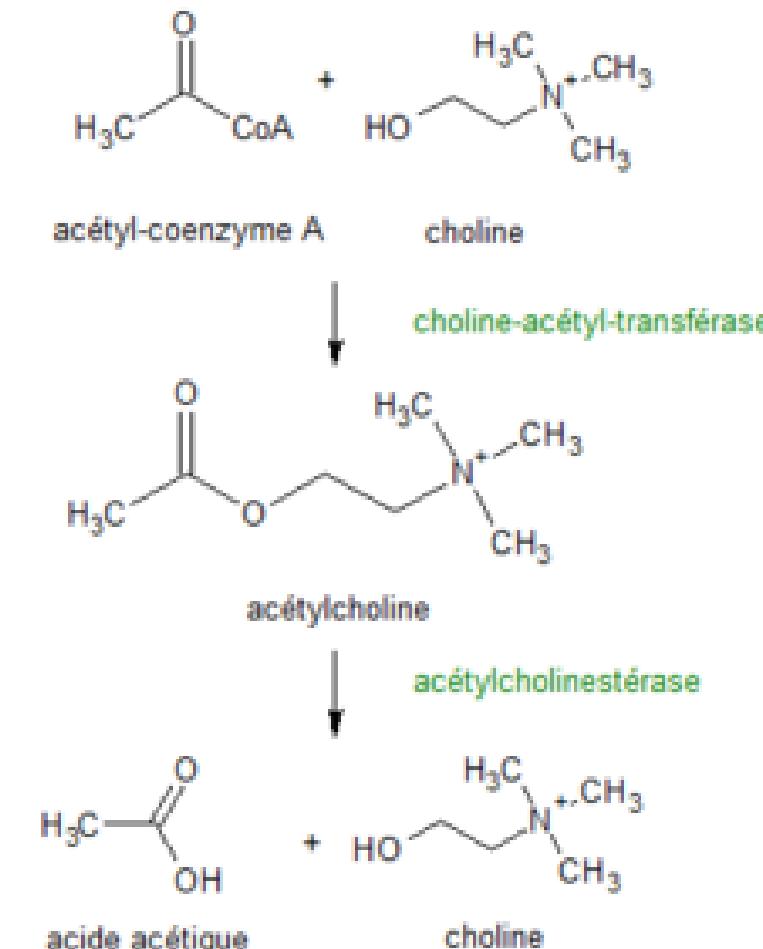
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager

Remarque : synthèse acétylcholine

Neuromédiateur = acétylcholine.



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

a. Plusieurs récepteurs possibles à un même messager

Autre exemple, deux familles de récepteurs à la noradrénaline

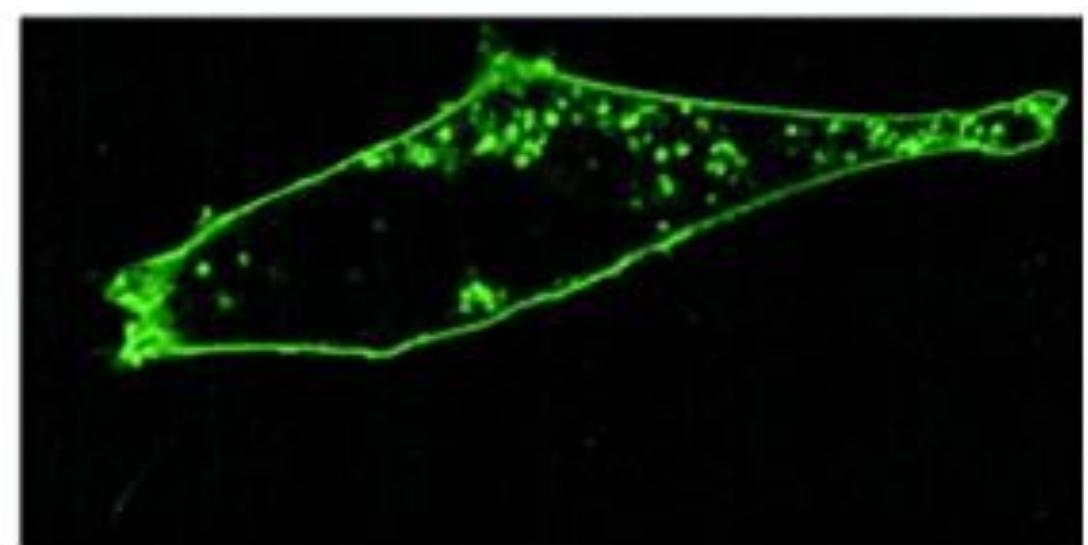
Récepteur à la noradrénaline	Molécule agoniste	Molécule antagoniste
α	Phényléphrine	Yohimbine
β	Isoprénaline	Propanolol

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires
2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur métabotropique.

Identification du récepteur : utilisation de la GFP

Une protéine extraite de la méduse *Aequorea victoria* qui peut faire de la fluorescence en vert. On associe le gène de la GFP au gène d'un récepteur, ce qui permet de localiser le récepteur. Ici : associé au récepteur de l'adrénaline



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

Récepteurs adrénergiques = récepteurs membranaires couplés à une protéine G

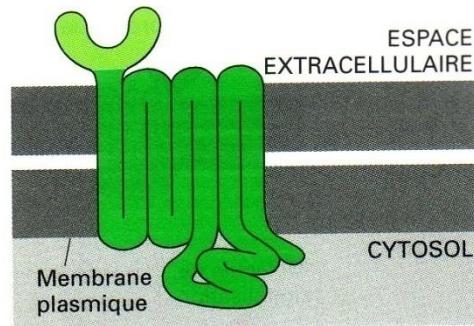


Figure 15-26 Un récepteur couplé aux protéines G. Les récepteurs qui se fixent sur les ligands protéiques possèdent un grand domaine extracellulaire formé par la partie de la chaîne polypeptidique montrée en vert clair. Ce domaine associé à certains segments transmembranaires se fixe sur le ligand protéique. Les récepteurs des petits ligands comme l'adrénaline possèdent de petits domaines extracellulaires et le ligand se fixe en général en profondeur dans le plan de la membrane sur un site formé par les acides aminés issus de plusieurs segments transmembranaires.

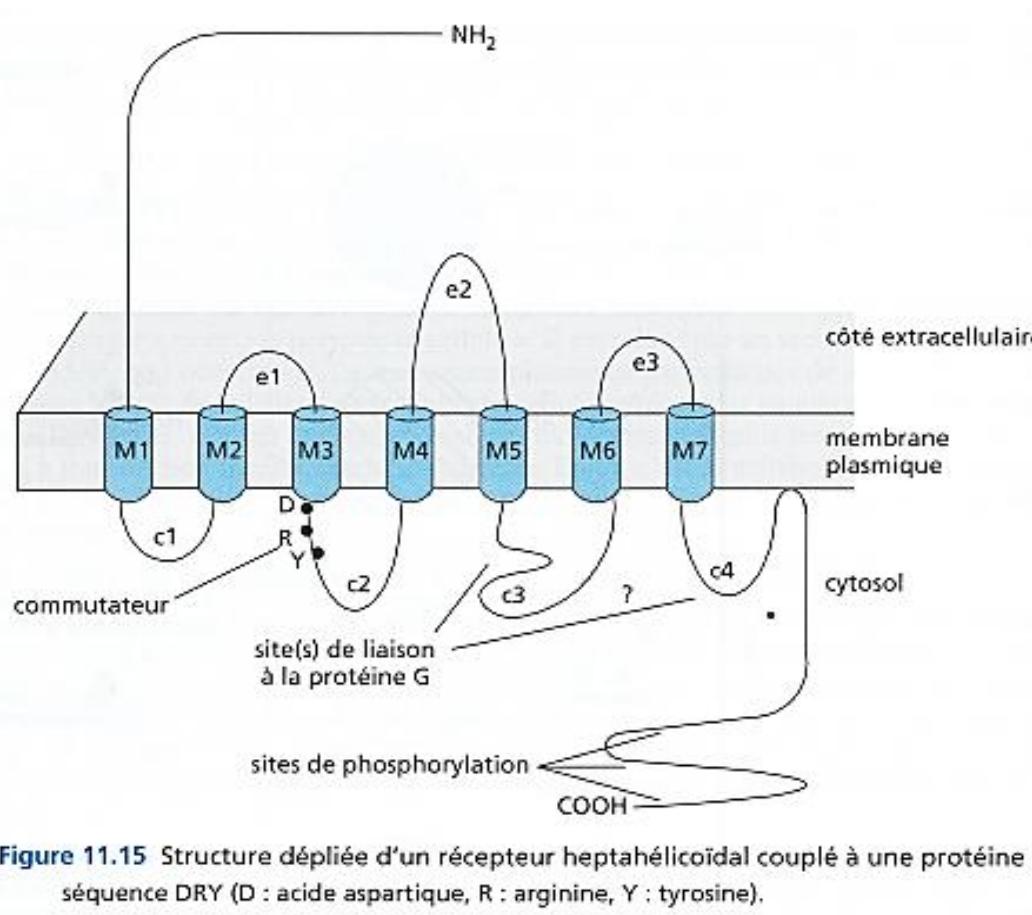
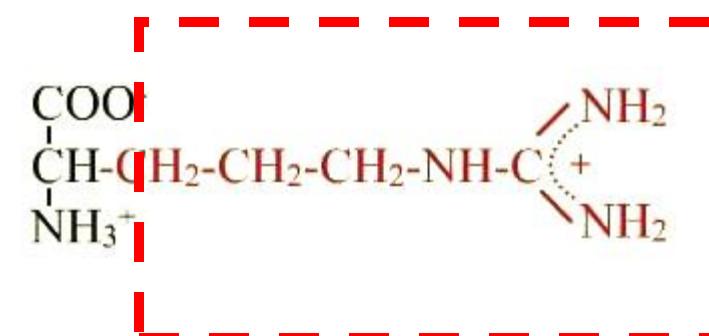


Figure 11.15 Structure dépliée d'un récepteur heptahélicoïdal couplé à une protéine G. séquence DRY (D : acide aspartique, R : arginine, Y : tyrosine).

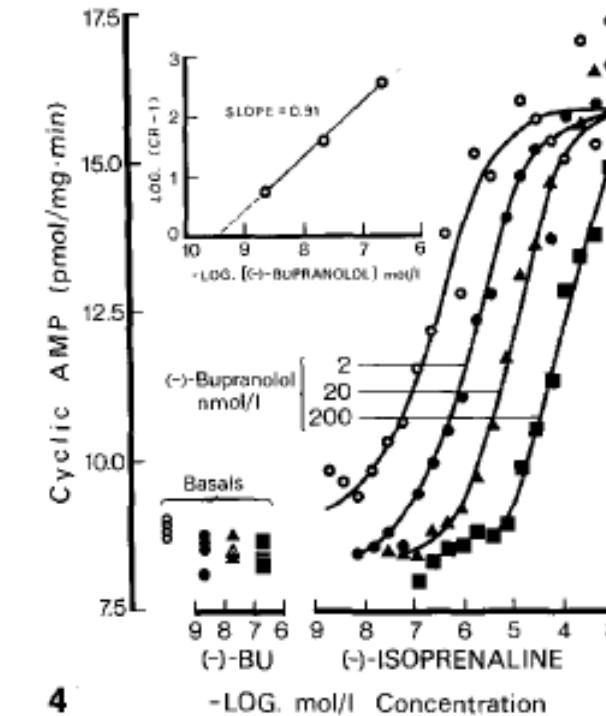
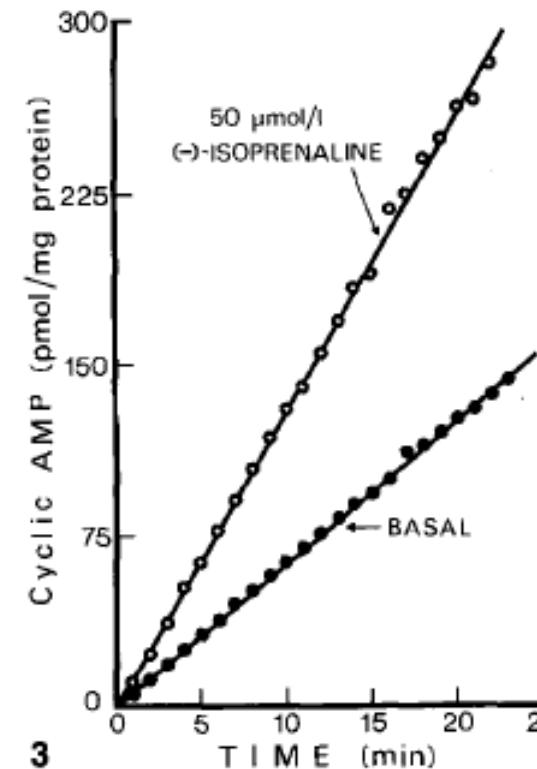


2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

L'AMPc : un messager intracellulaire

Accumulation d'AMPc dans le temps dans des cellules cardiaques in vitro avec ou sans ajout d'un agoniste de la noradrénaline (isoprénaline)



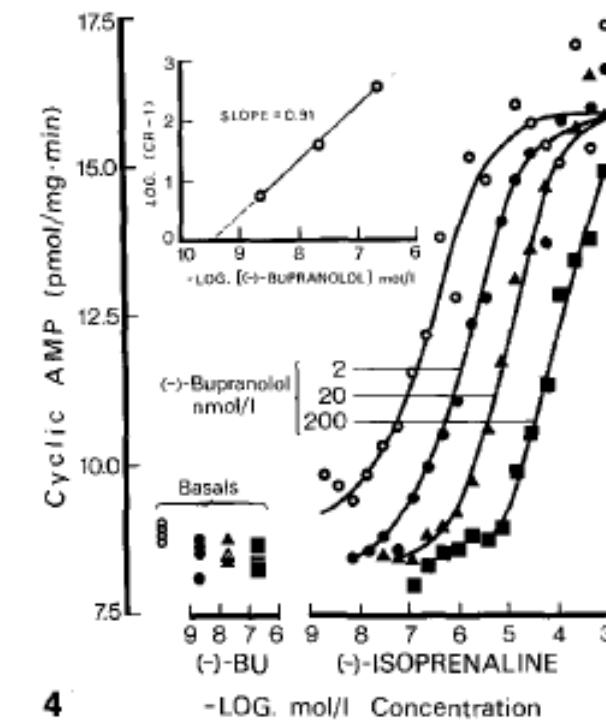
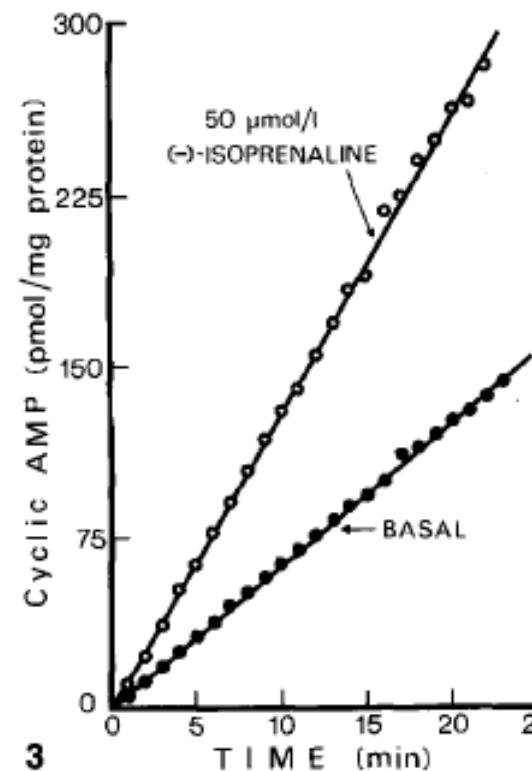
Action du
bupranolol ??

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

L'AMPc : un messager intracellulaire

Accumulation d'AMPc dans le temps dans des cellules cardiaques in vitro avec ou sans ajout d'un agoniste de la noradrénaline (isoprénaline)



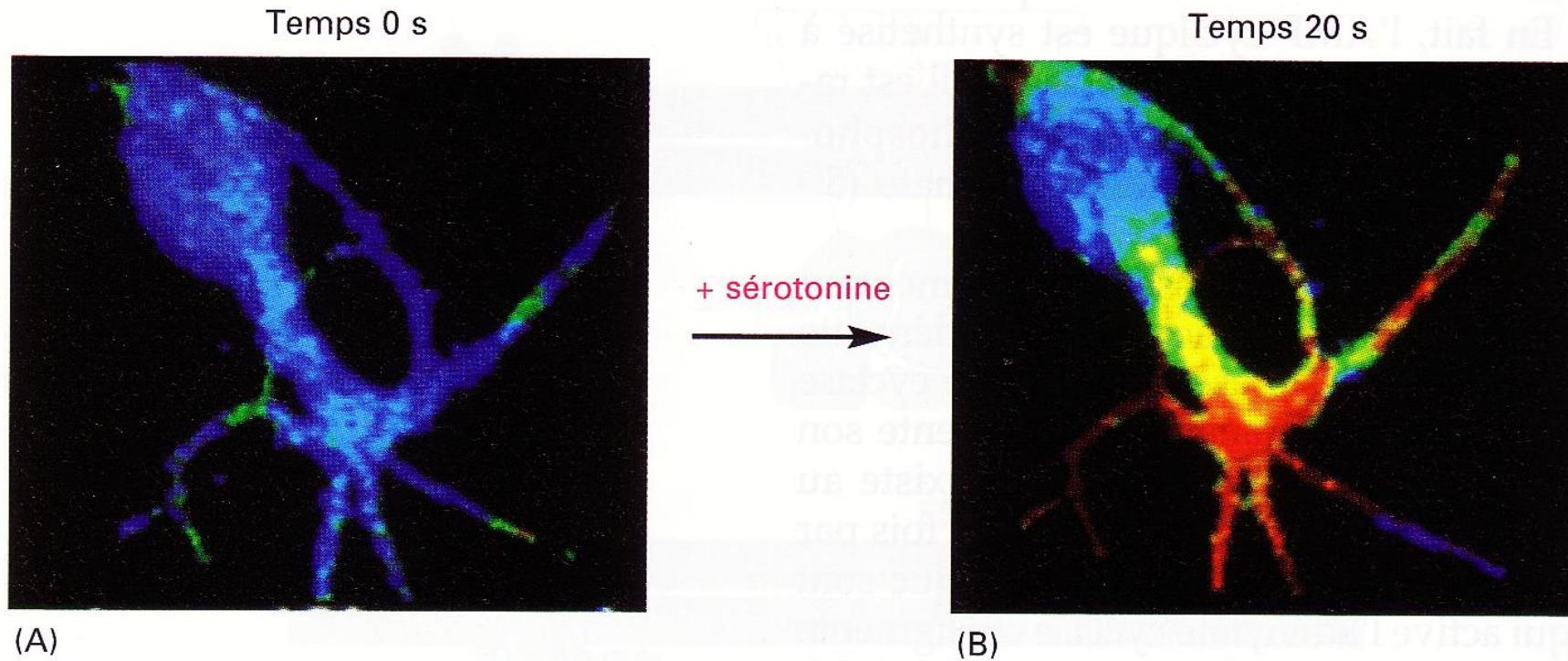
Antagoniste compétitif pour les récepteurs β

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

Visualisation de l'augmentation de la concentration d'AMPc suite à la liaison d'un neurotransmetteur (ici la sérotonine) L'intensité de la fluorescence est proportionnelle à la quantité d'AMPc : bleu : faible, rouge : forte.



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

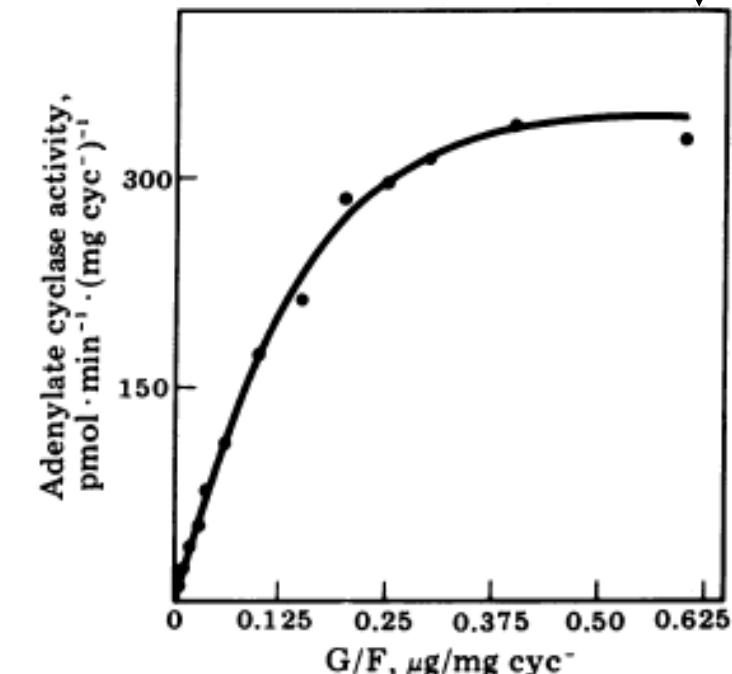
Une activation indirecte

Nécessité d'une protéine intermédiaire : les protéines G (car se liant au GTP)

Expérience : purification de protéine $G\alpha$ de rat et mesure de l'activité adénylate cyclase en fonction des quantités de protéines G ajoutées

Récepteur adrénnergique β	Oui	Non	Oui	Oui
Protéine Gs	Oui	Oui	Non	Oui
Adénylate cyclase	Oui	Oui	Oui	Non
Mesure : activité adénylate cyclase	Augmentation AMPc	Non	Non	Non

Construction in vitro de différents systèmes de membranes



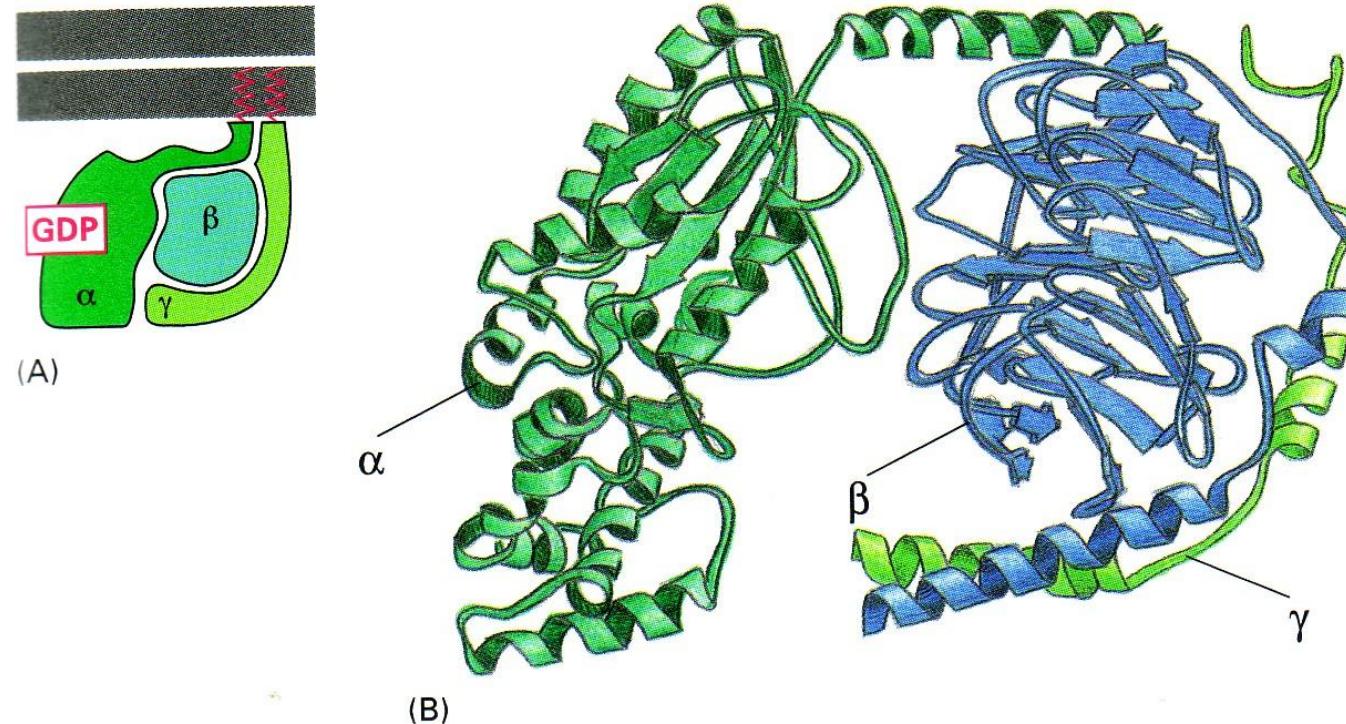
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

Protéine G (état inactif) : 3 sous-unités

Liaison covalente avec deux molécules lipidiques (en rouge) facilitant la liaison avec la membrane plasmique



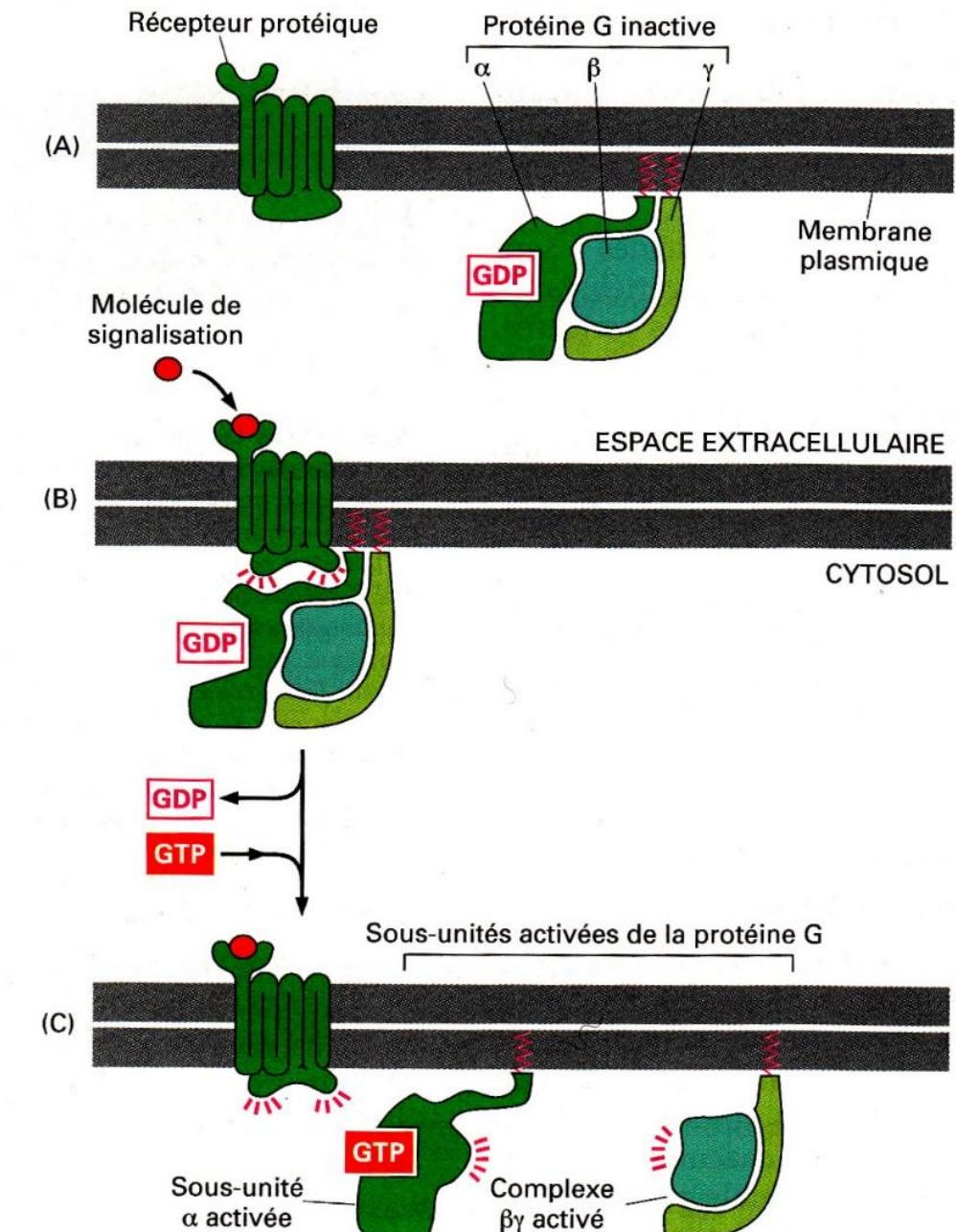
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

Interaction récepteur / protéine G
suite à l'activation du récepteur par le messager

Dissociation des 3 sous-unités



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

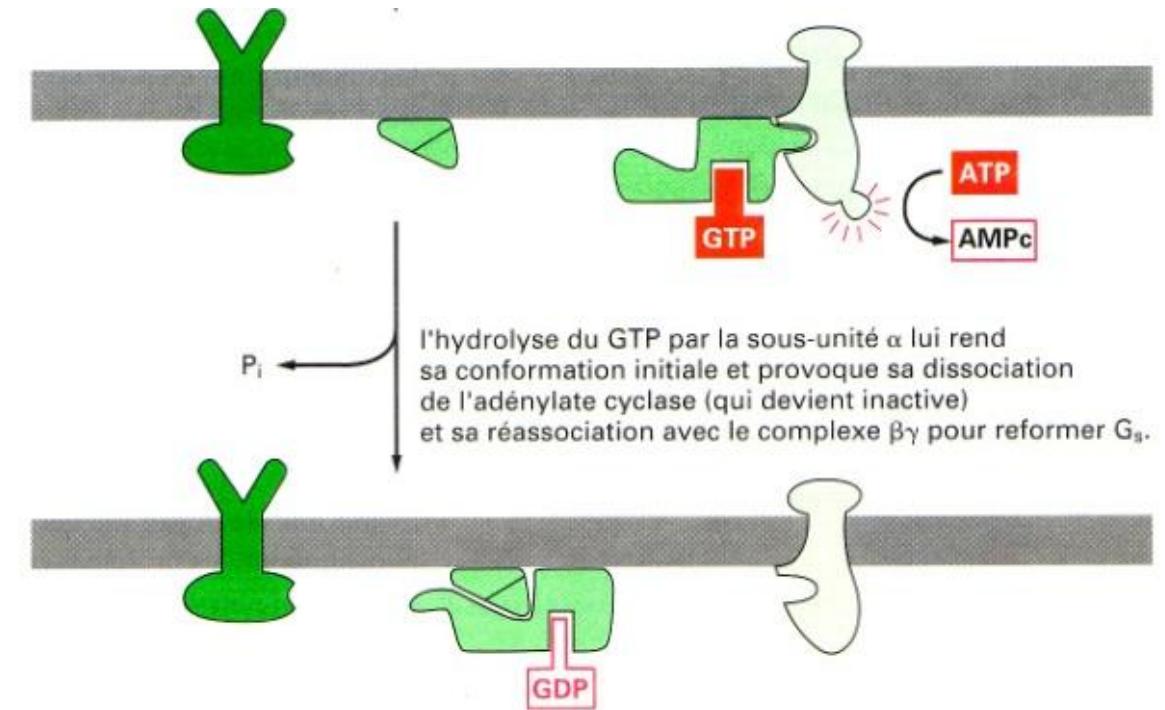
2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

Fin de l'activation

Lors de la réassocation

Des 3 sous-unités



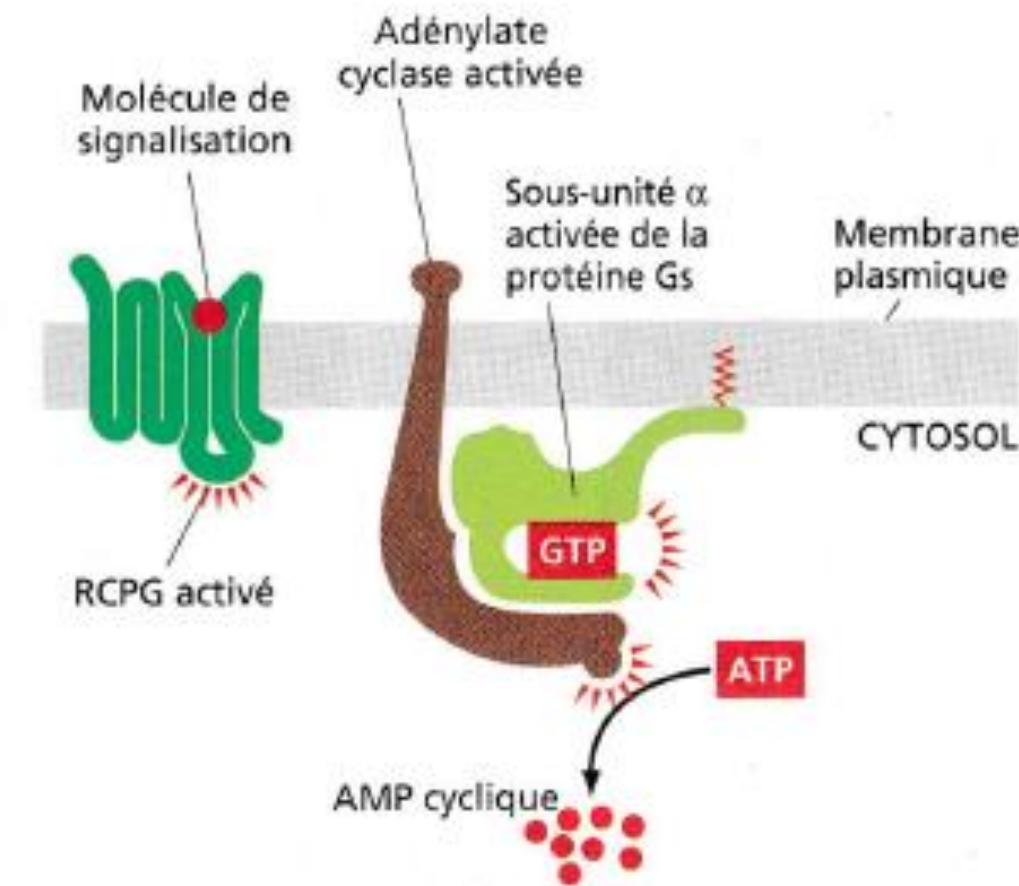
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

La sous unité α peut activer l'adénylate-cyclase

La sous unité α avec GTP
peut activer l'adénylate-cyclase

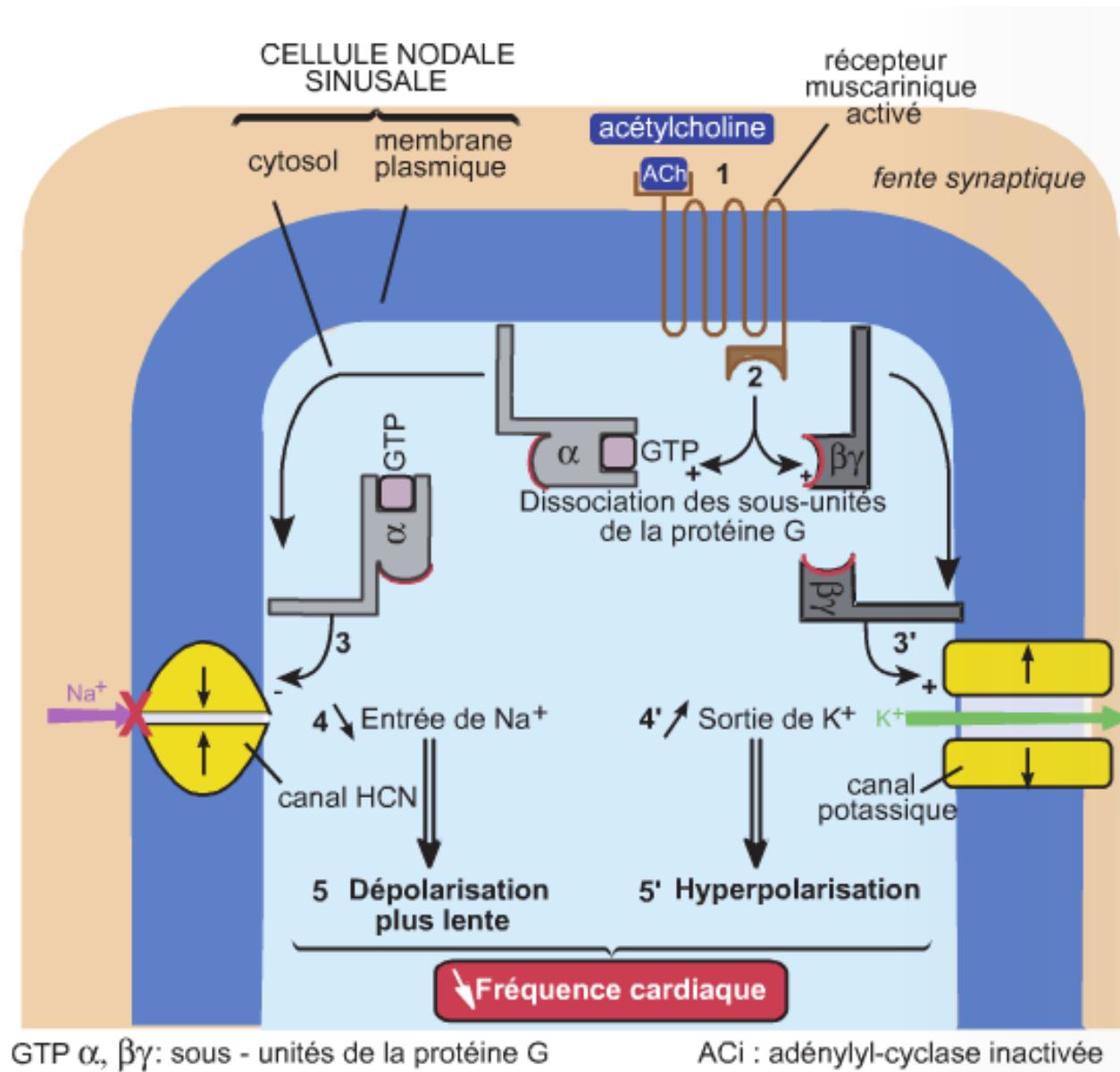


SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur métabotropique.

Rappel :



GTP α , $\beta\gamma$: sous - unités de la protéine G

ACi : adénylyl-cyclase inactivée

FIGURE 3.12 Effet chronotrope négatif de l'acétylcholine sur une cellule du NSA via les récepteurs muscariniques mAChR.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

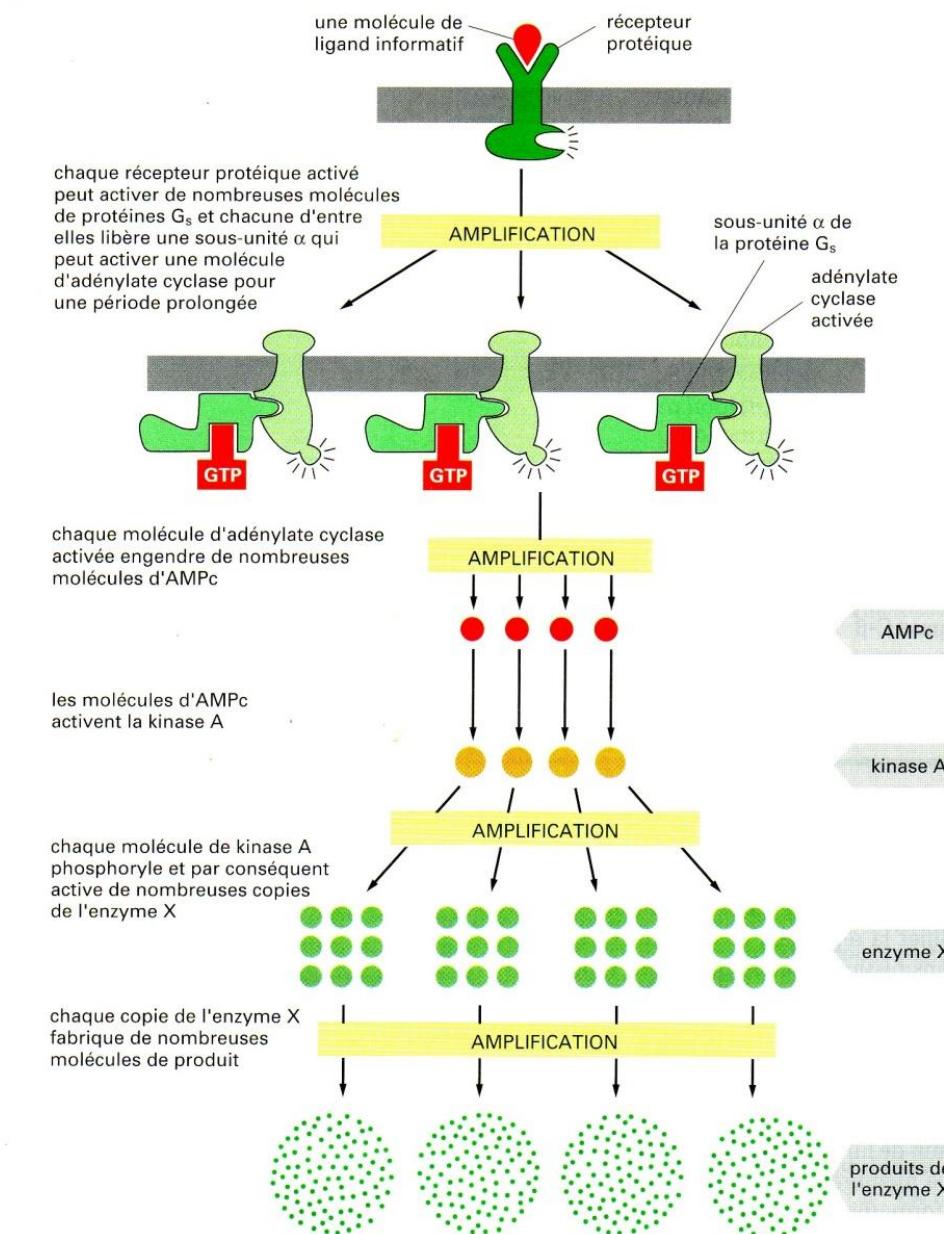
2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire :

l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur métabotropique.

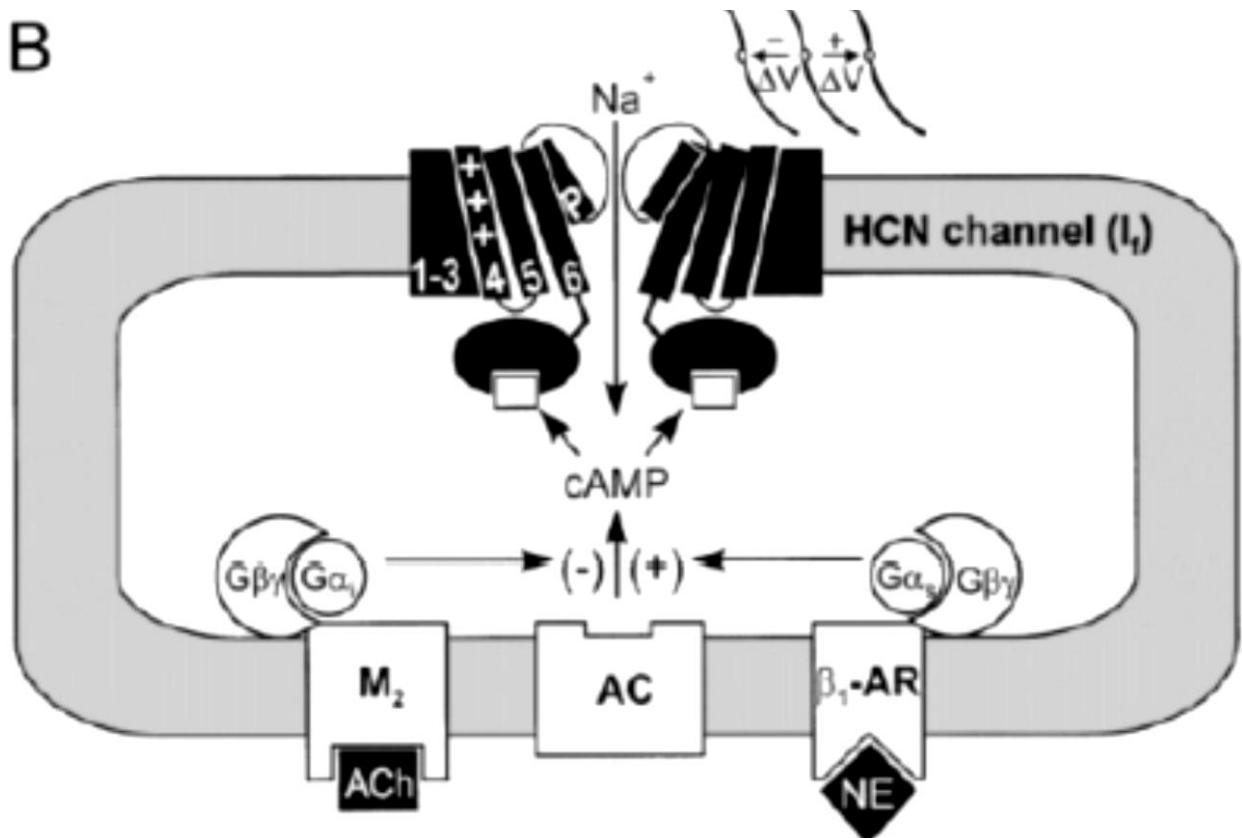
Intérêt :

Amplification de la réponse

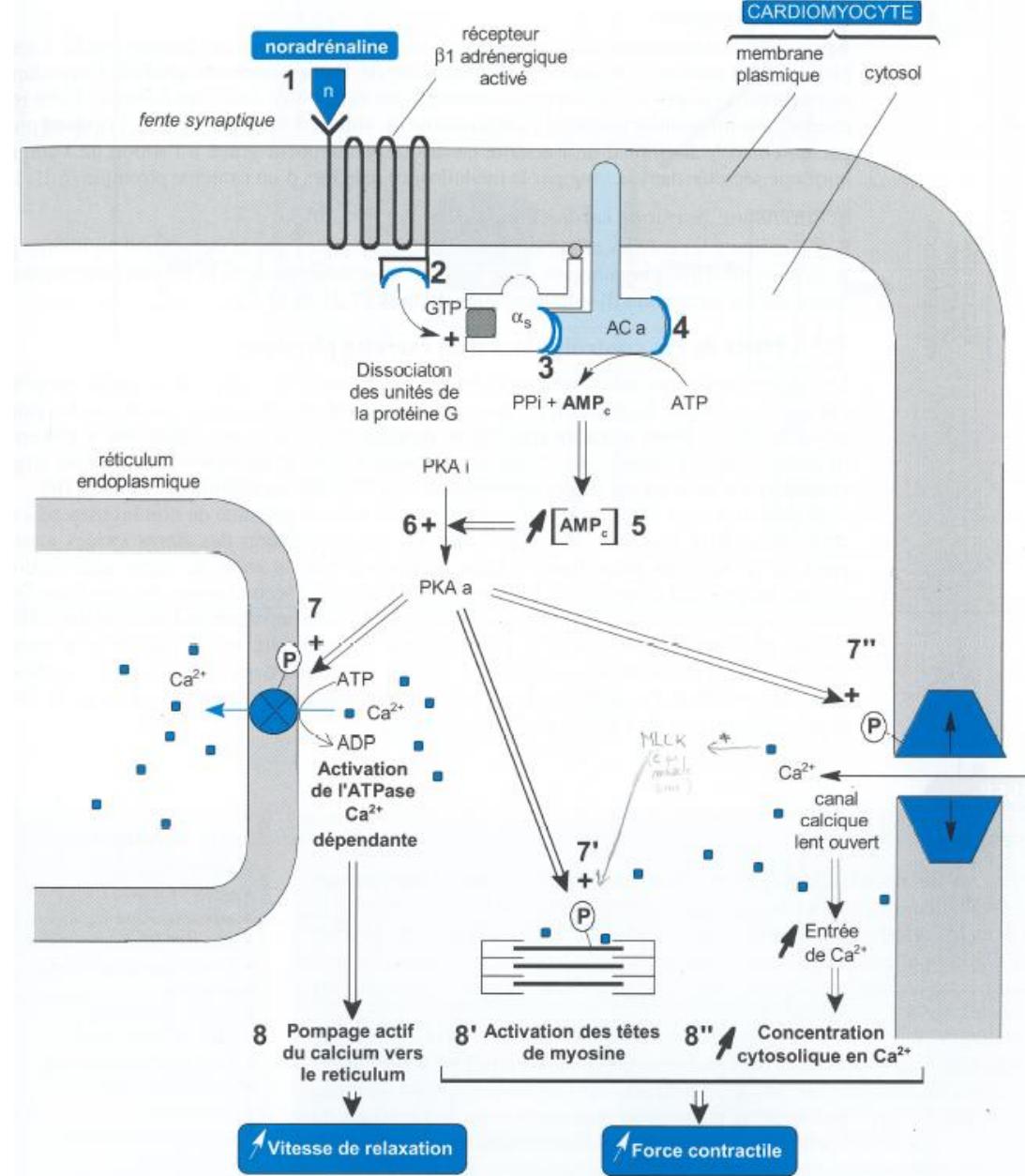


Rappels

B



Complément 15 : l'AMPc agit sur une partie du canal HCN. Dans Biel et al. 2002.



GTP α_s : sous-unité α de la protéine G_s
 PKA i : protéine kinase A inactivée
 ACa : adénylyl-cyclase activée
 PKA a : protéine kinase A activée

Figure 17.22 Effet inotope positif de la noradrénaline sur un cardiomyocyte via les récepteurs β₁-adrénergiques.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

Bilan : plusieurs types de protéines G

Protéine **Gs** : stimule l'adénylate-cyclase (exemple récepteur β_1 à la noradrénaline dans le cœur, β_2 des vaisseaux des muscles squelettiques)

Protéine **Gi** : inhibe l'adénylate-cyclase (exemple récepteur muscarinique à l'acétylcholine)

Protéine **G_o** : via les sous-unités $\beta\gamma$ active les canaux potassium GIRK

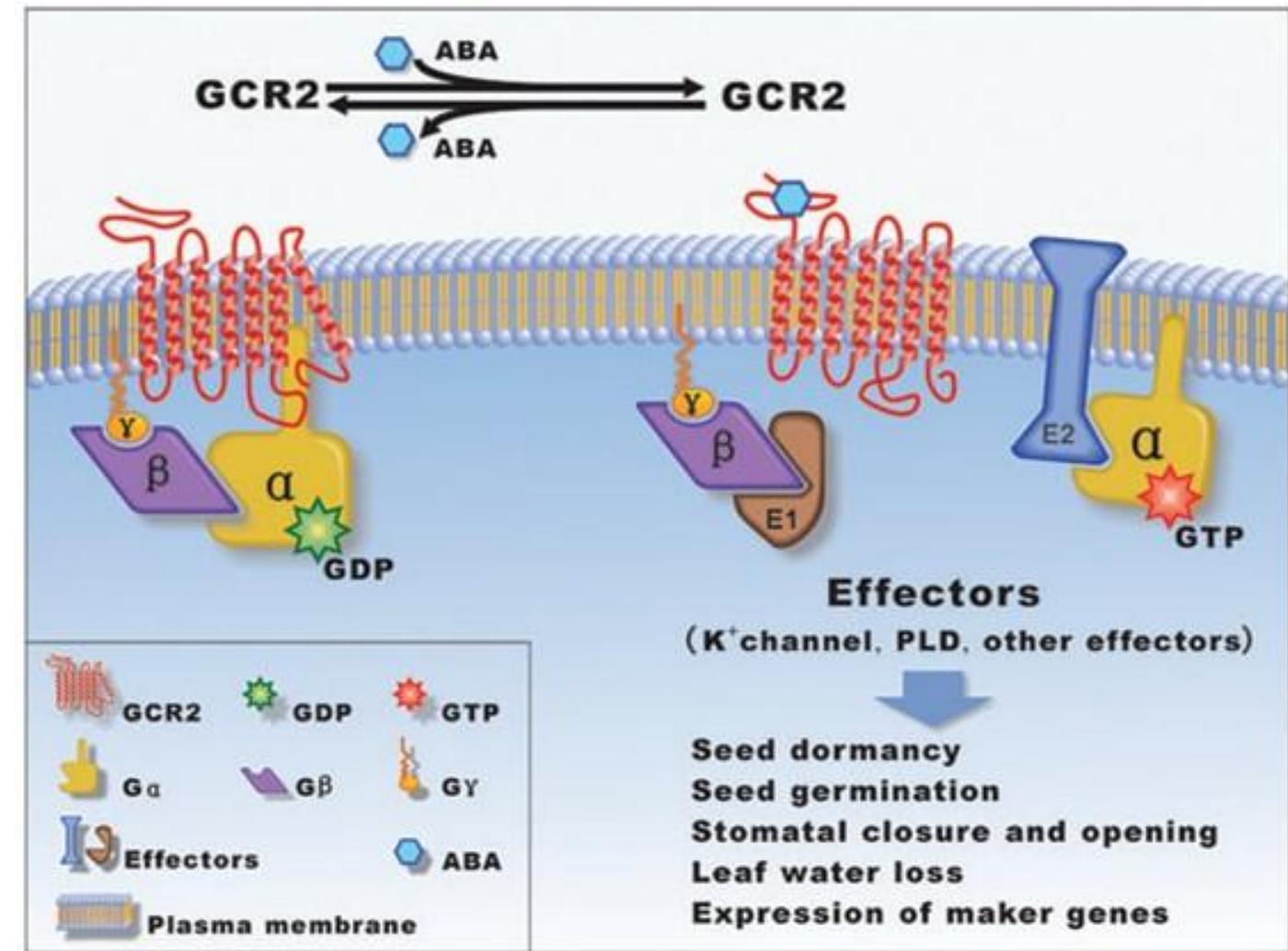
Protéine **Gq** : active la phospholipase c (exemple récepteur α_1 des vaisseaux des organes viscéraux)

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

b. Transduction à partir d'un récepteur membranaire : l'exemple du récepteur β à la noradrénaline = récepteur **métabotropique**.

Remarque : récepteur à ABA chez les végétaux : aussi un récepteur lié aux protéines G



c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes

Hormones stéroïdes : des dérivés du cholestérol

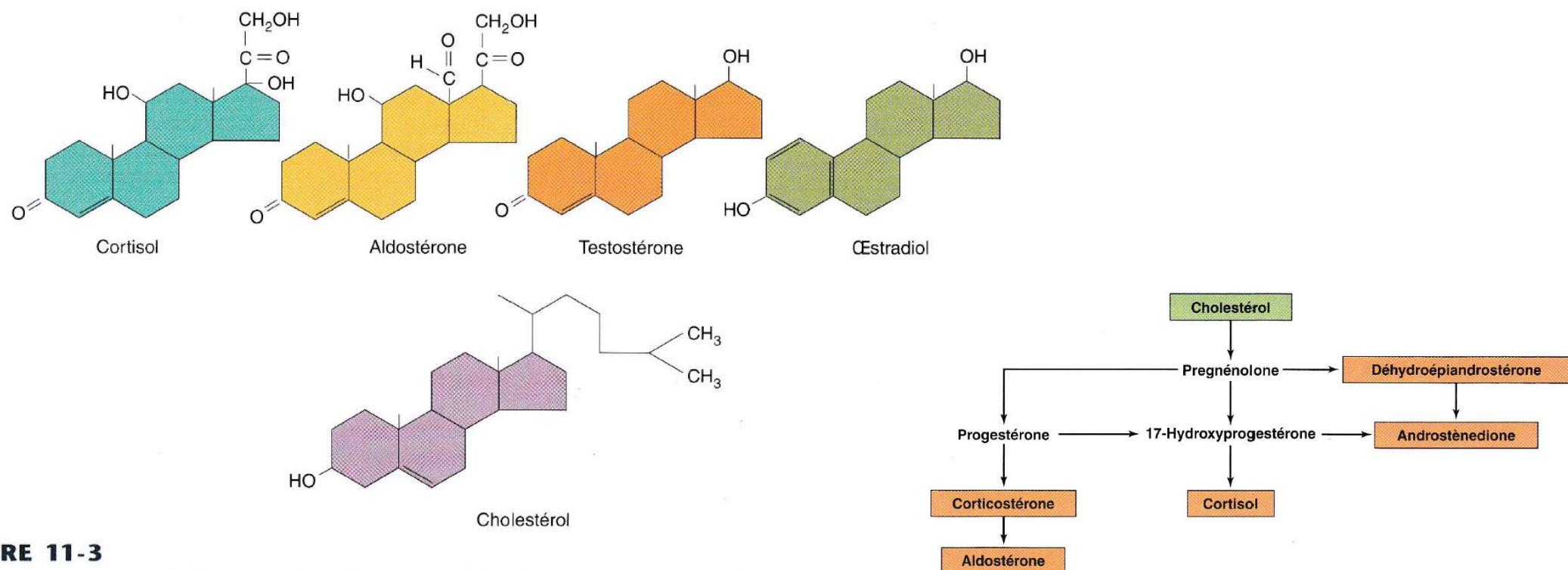


FIGURE 11-3

Structures des hormones stéroïdiennes représentatives et leur relation structurelle avec le cholestérol.

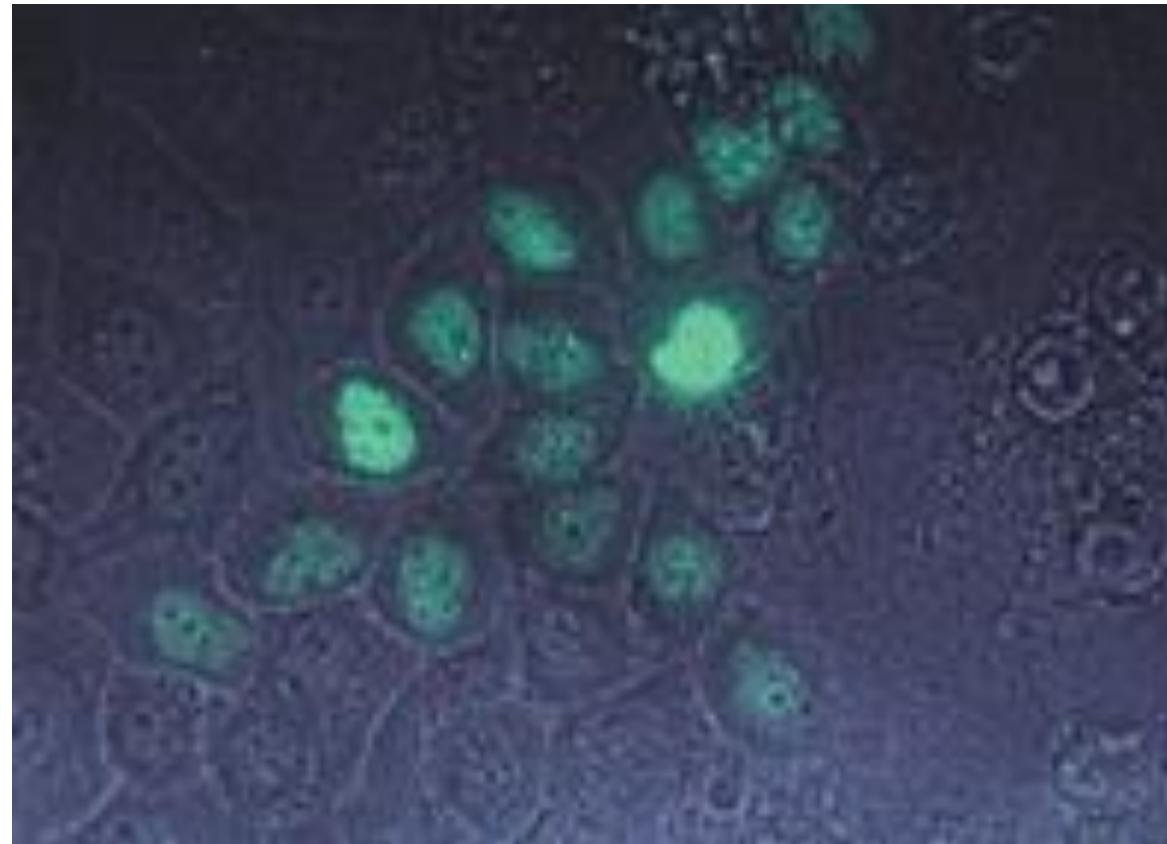
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes

Recherche du récepteur aux œstrogènes (ER)

Localisation intracellulaire et intranucléaire



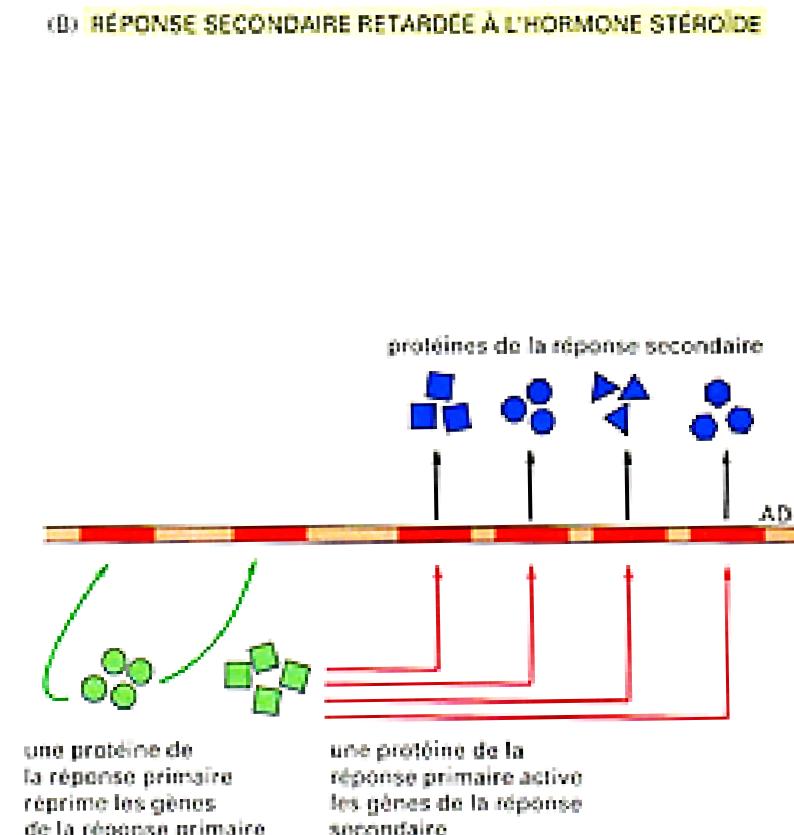
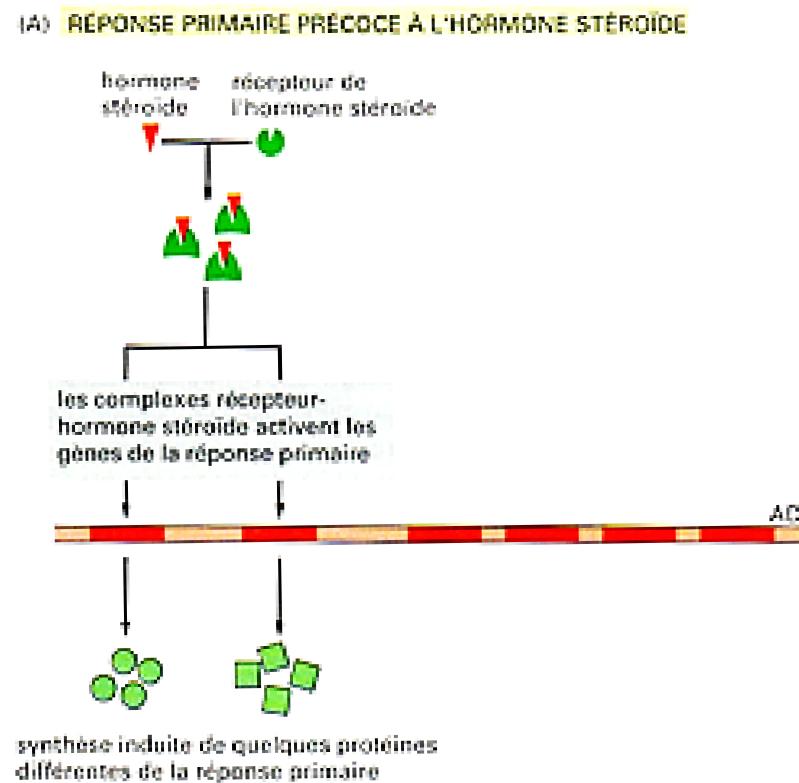
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes

Différentes phases de réponses

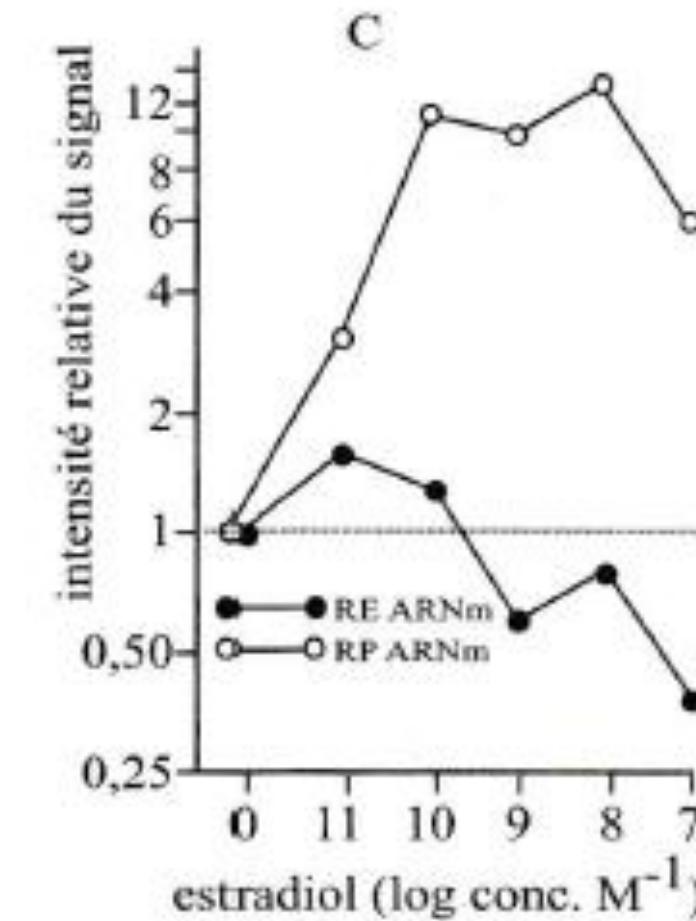
Réponse primaire puis secondaire



Modification de la transcription liée à l'activation du récepteur

Stéroïdes et modification de la transcription :

Incubation avec des quantités croissantes d'oestradiol et mesure de la quantité d'ARNm du récepteur au œstrogènes (RE) ou à la progestérone (RP)



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes

Modifications de la transcription suite à l'action des stéroïdes

Récepteurs intracytoplasmiques

Le complexe hormone récepteur agit comme un facteur de transcription dans le noyau

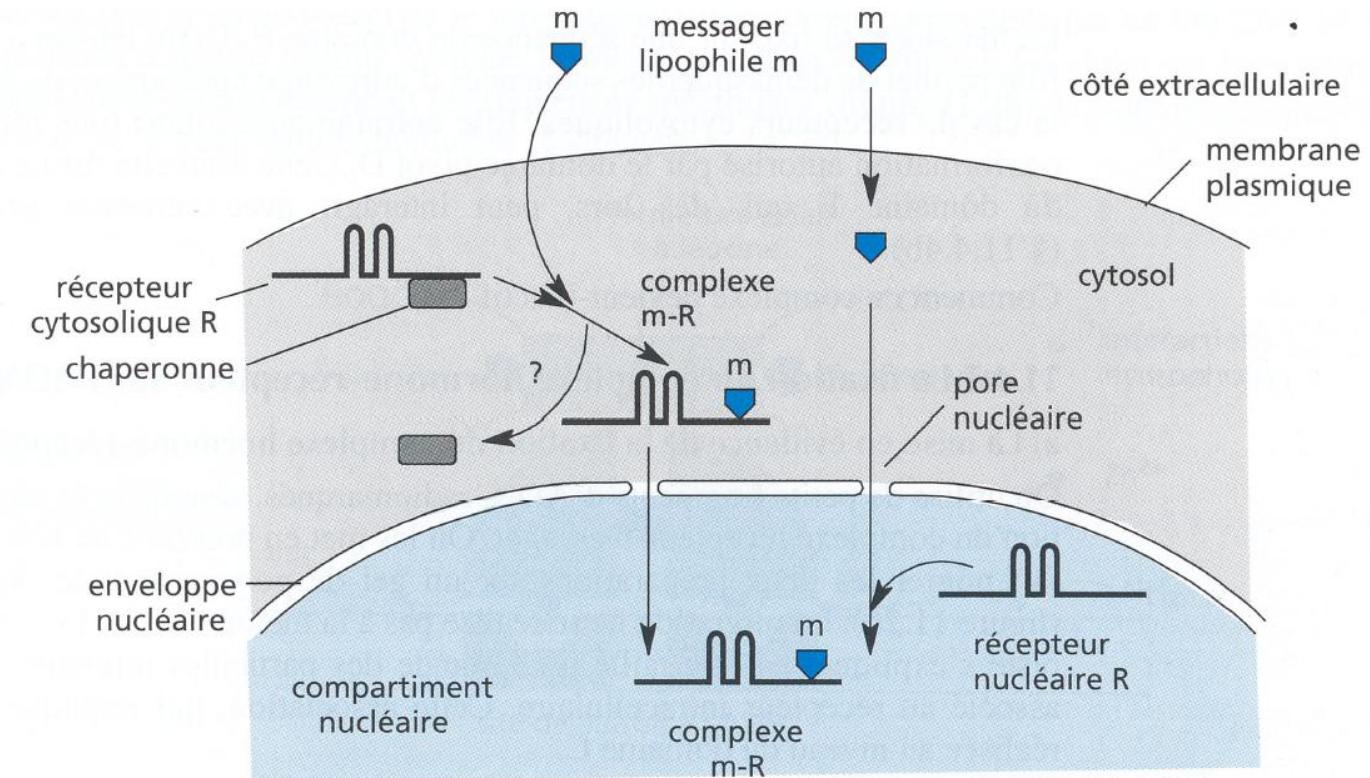


Figure 11.24 Dynamique de la localisation intracellulaire des récepteurs intranucléaires.

Remarques :

- Le rôle des chaperonnes n'est pas clairement élucidé. Elles pourraient ne pas se détacher et avoir également un rôle dans le noyau.
- Certains récepteurs nucléaires sont, en absence de ligand, déjà fixés à l'ADN où ils répriment la transcription.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes

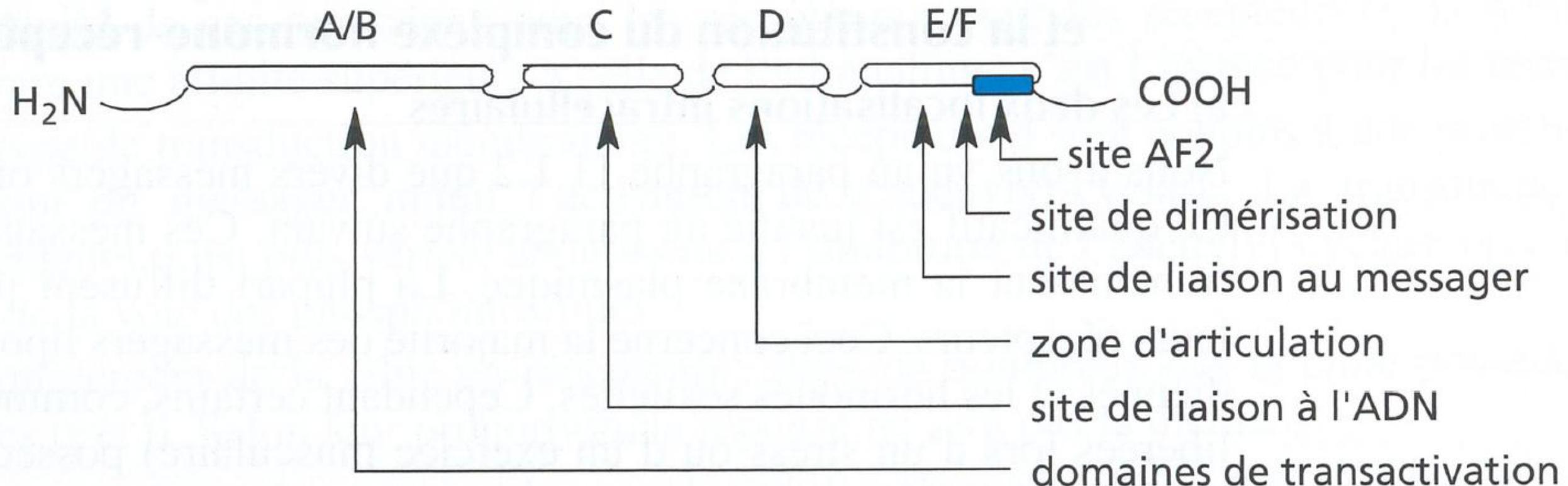
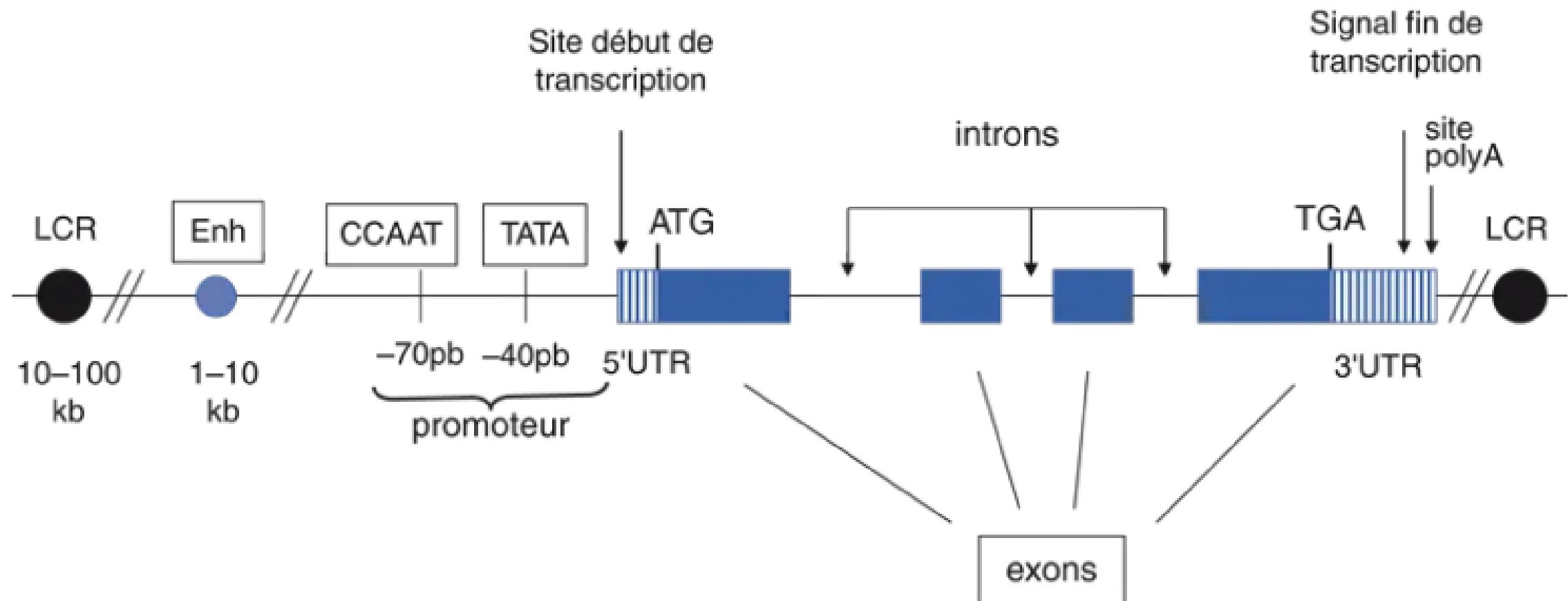


Figure 11.25 Les grands domaines des récepteurs intracellulaires.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes



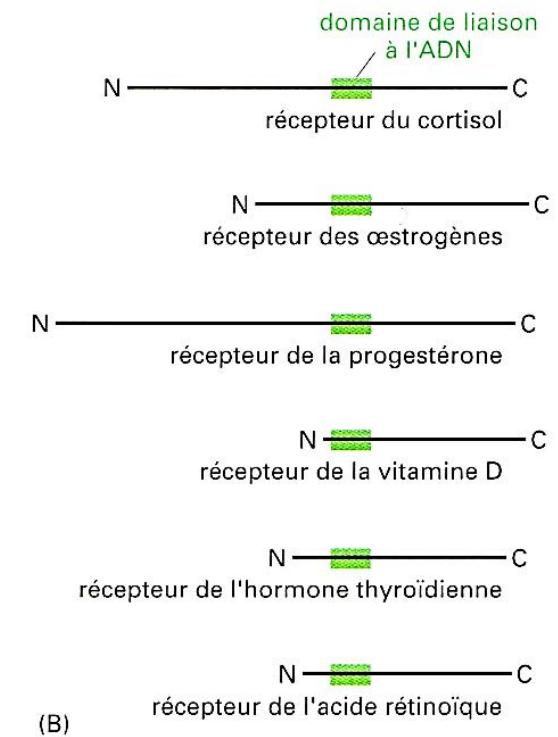
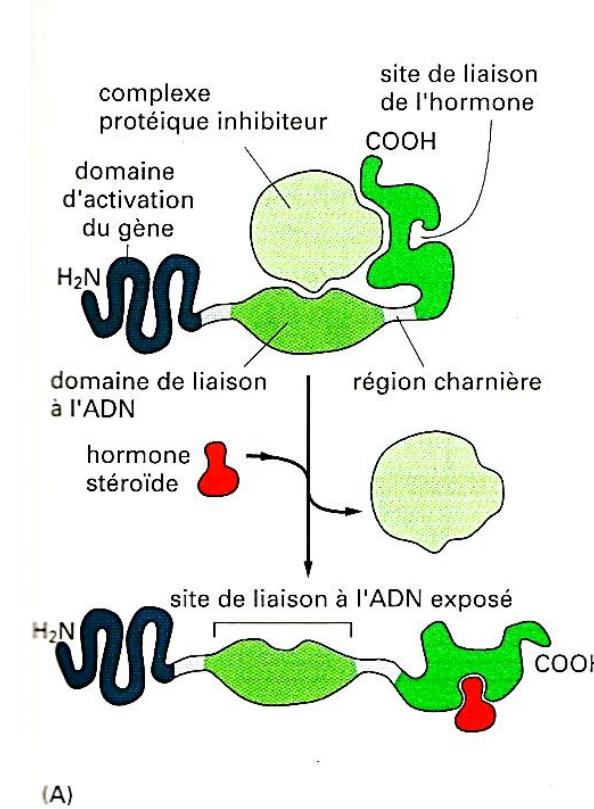
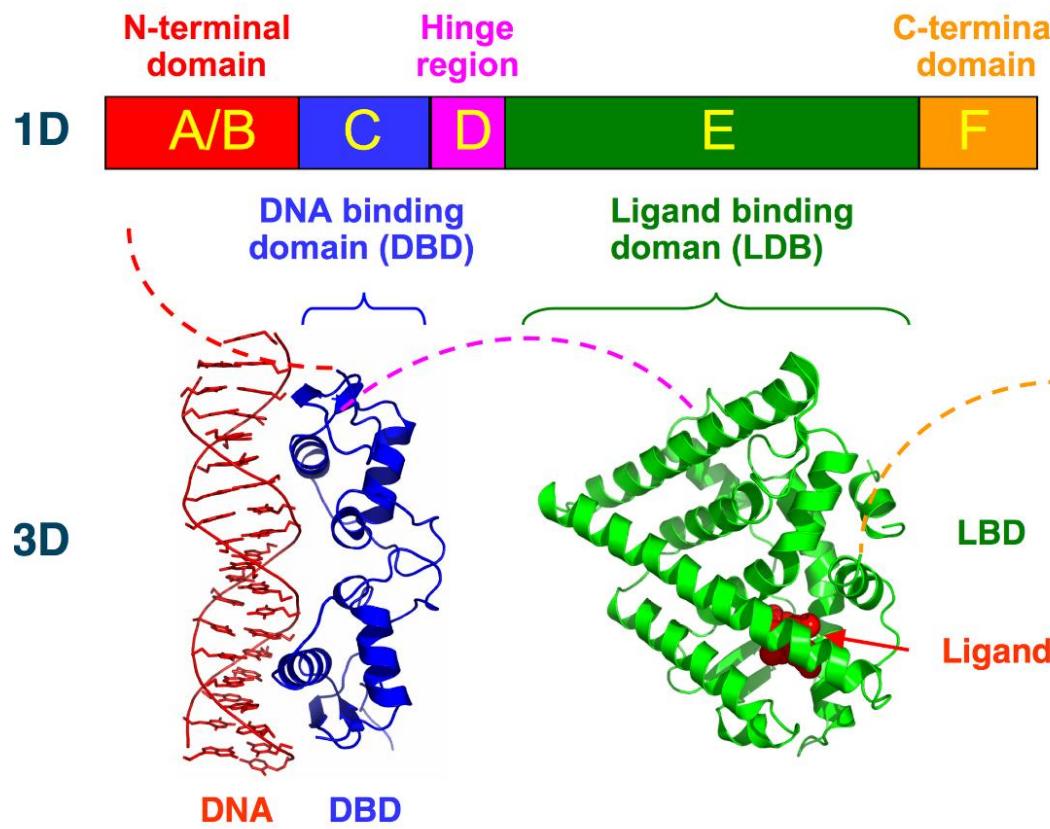
Organisation d'un gène procaryote pour rappel

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

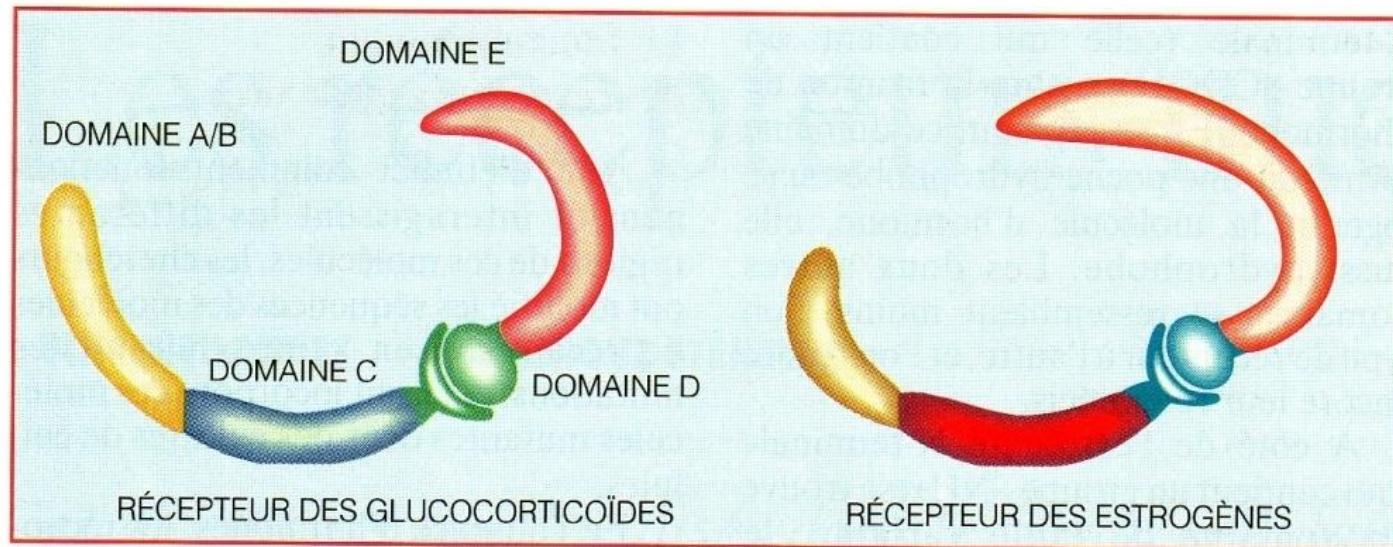
c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes

Structural Organization of Nuclear Receptors



Structure des récepteurs

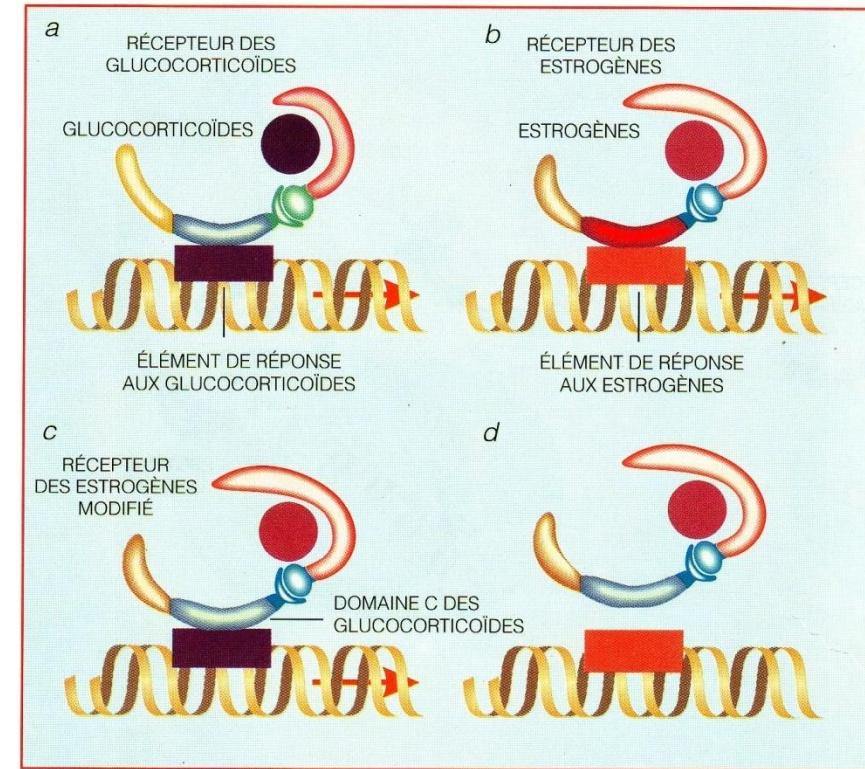
Des protéines comparables pour les différentes hormones stéroïdes



2. LA STRUCTURE DES RÉCEPTEURS NUCLÉAIRES est conservée d'un type de récepteur à l'autre. Le récepteur des glucocorticoïdes (*à gauche*) et celui des estrogènes (*à droite*) sont subdivisés en quatre domaines : le domaine *E* assure la fixation de l'hormone ; le domaine *D* sert de charnière, lorsque les récepteurs doivent adopter leur configuration efficace ; le domaine *C* est très conservé, puisque les deux séquences sont identiques à 90 pour cent ; le domaine *A/B* assure l'activation des gènes cibles.

Réalisation de protéines chimères

Permet de savoir les fonctions des différentes parties



5. LES RÉCEPTEURS CHIMÈRES permettent d'étudier le mode d'action des molécules normales. On a ainsi montré que, lorsque les récepteurs des glucocorticoïdes se fixent sur leur élément de réponse (a), les gènes cibles sont activés ; de même pour les récepteurs des estrogènes (b). En revanche, un récepteur hybride, constitué d'une région de fixation des estrogènes (en rose) et d'une région de reconnaissance des éléments de réponse aux glucocorticoïdes (en bleu), se lie aux éléments de réponse aux glucocorticoïdes, tout en fixant les estrogènes. Le même récepteur chimère ne se fixe plus sur les éléments de réponse aux estrogènes (d). Le domaine de fixation de l'hormone et le domaine de reconnaissance des éléments de réponse sont essentiels pour le bon fonctionnement des récepteurs nucléaires.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes

Fixation du complexe ligand-récepteur sur le HRE

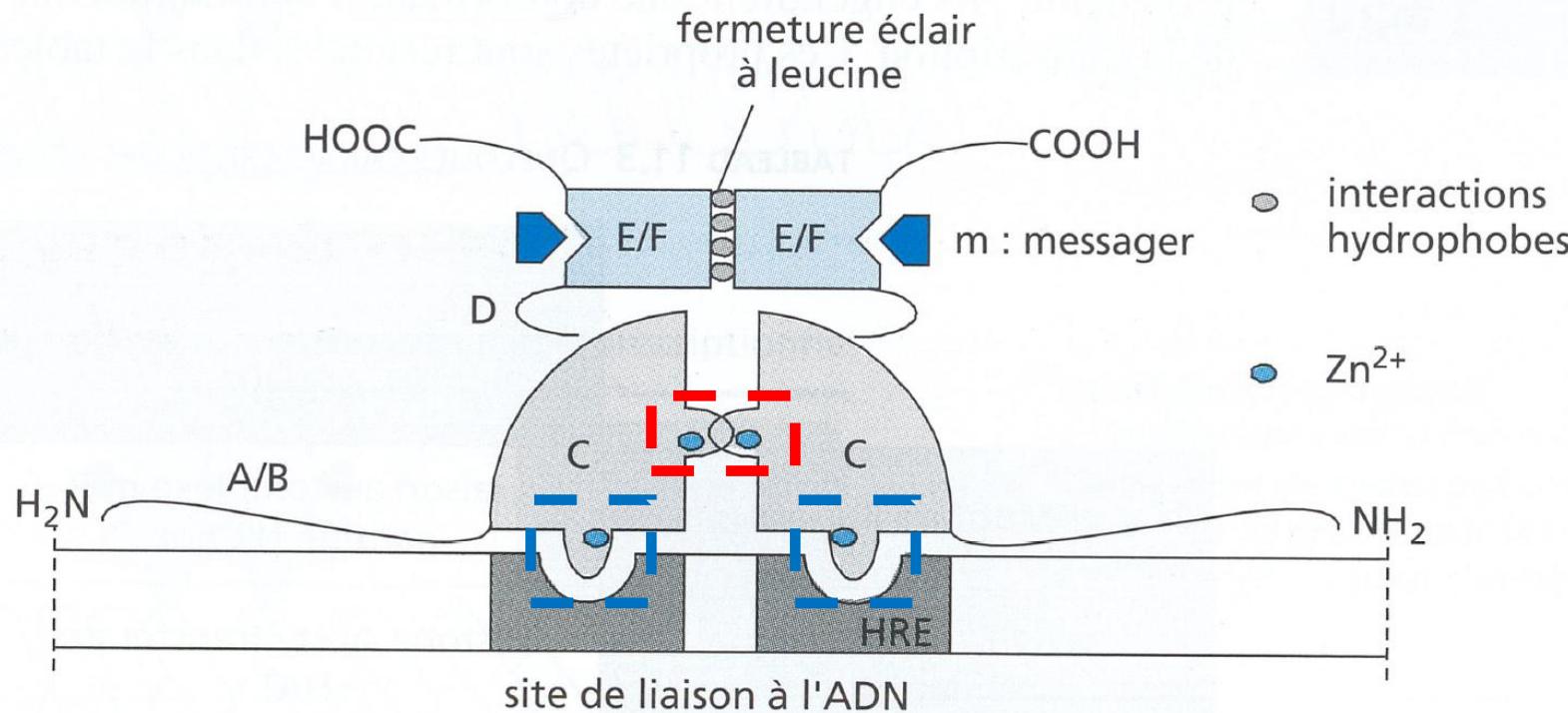
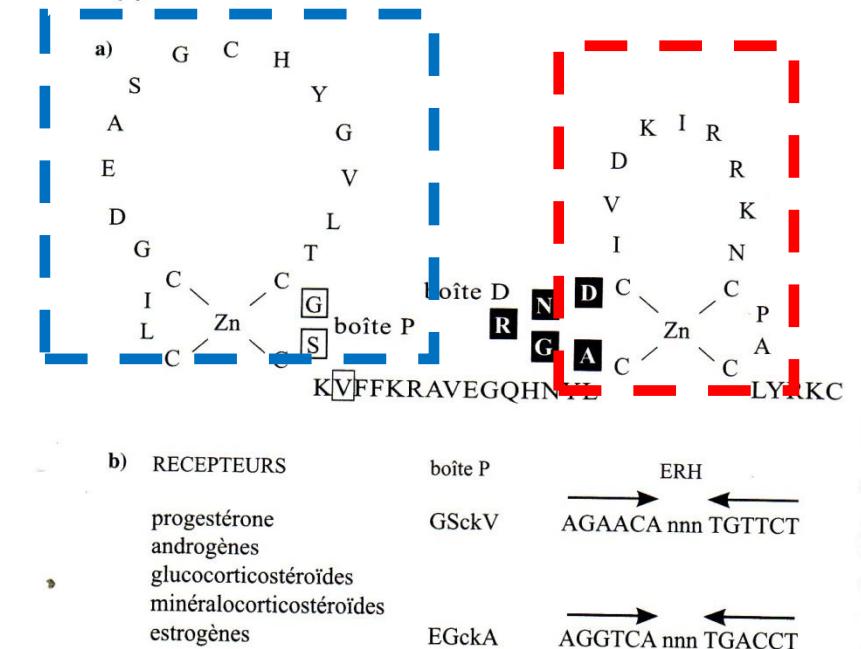


Figure 11.28 Liaison récepteur-ADN, schématisation d'un dimère fonctionnel.

Figure 08-08. Domaine de liaison à l'ADN (a) et éléments de réponse à l'hormone (b).

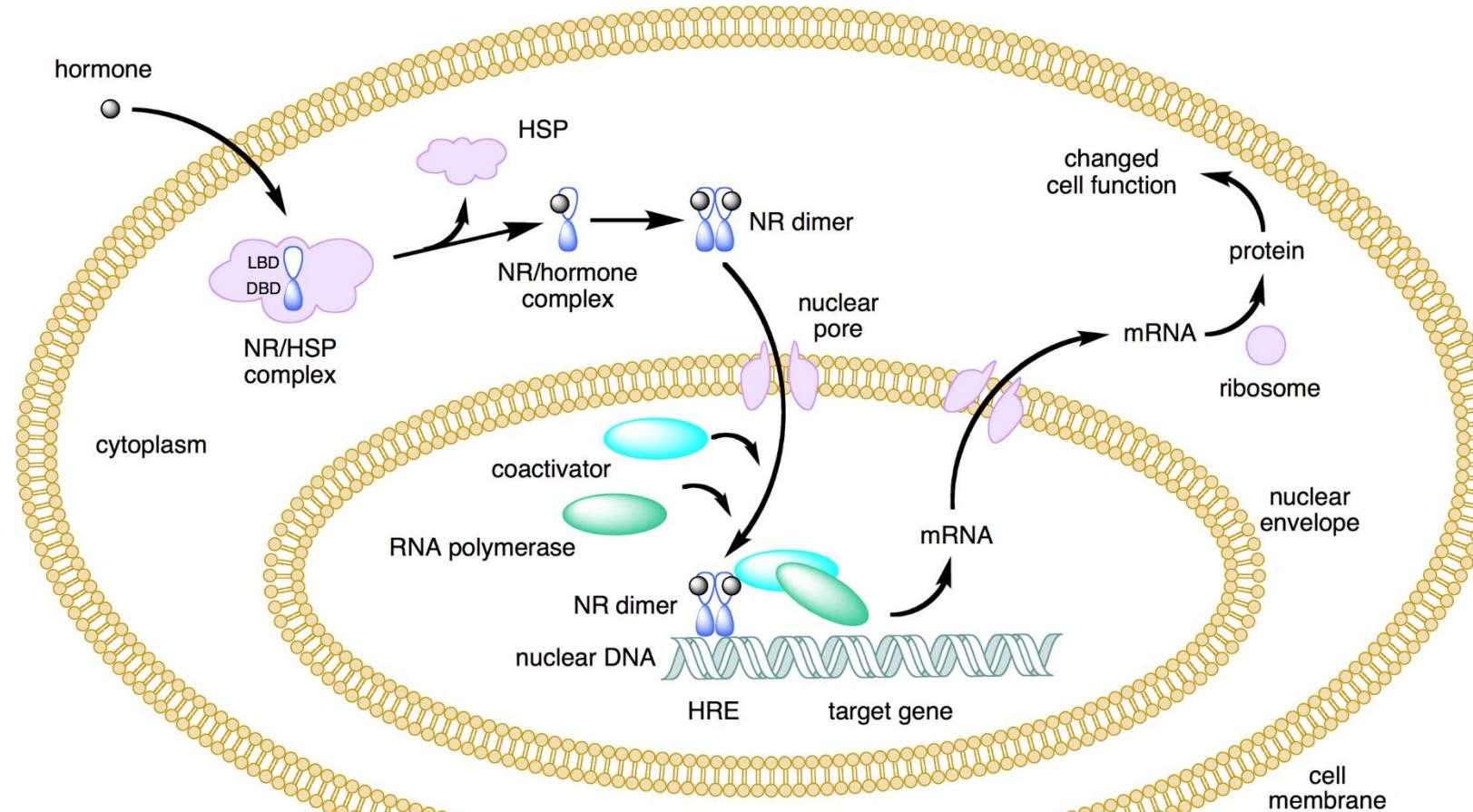


La boîte P est impliquée dans la reconnaissance de l'ERH. La boîte D est impliquée dans la dimension du récepteur.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

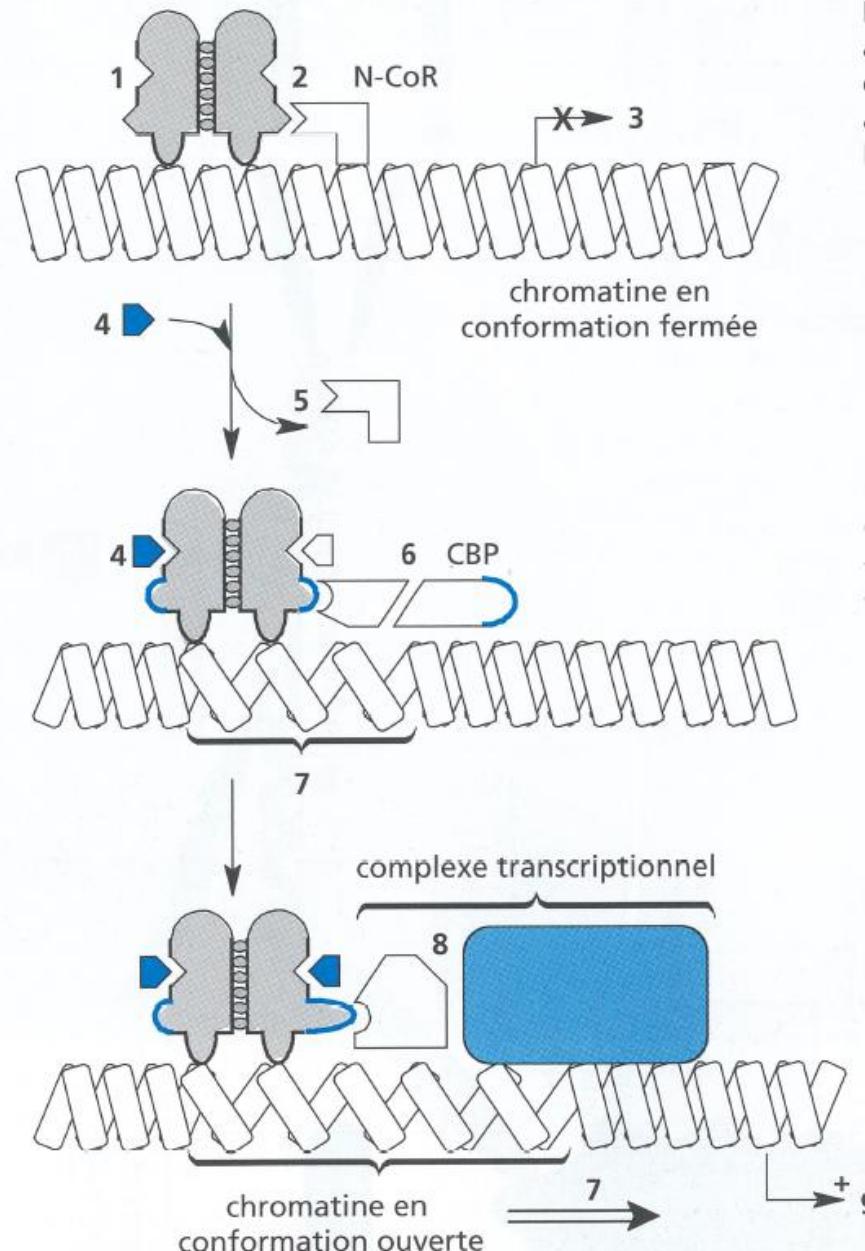
c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes



Le messager n'est pas lié au récepteur (1). Ce dernier est associé constitutivement à un corépresseur N-CoR (2). Il y a répression (3).

La liaison messager récepteur (4) entraîne :

- le départ de N-CoR (5)
- la liaison par un autre facteur (6) d'une protéine à activité acétylase CBP.

L'acétylation provoque « l'ouverture » de la chromatine (7) ; les facteurs de transcription se fixent sur le promoteur (8) et la transcription peut s'initier (9).

Figure 11.29 Modèle faisant intervenir des corégulateurs et une activité enzymatique (HAT et HDAC) catalysant les changements de conformation de la chromatine.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.2. Diversité des voies de transduction du messager chimique

c. Transduction à partir d'un récepteur intracellulaire : l'exemple des hormones stéroïdes

BILAN

Deux modes très différents

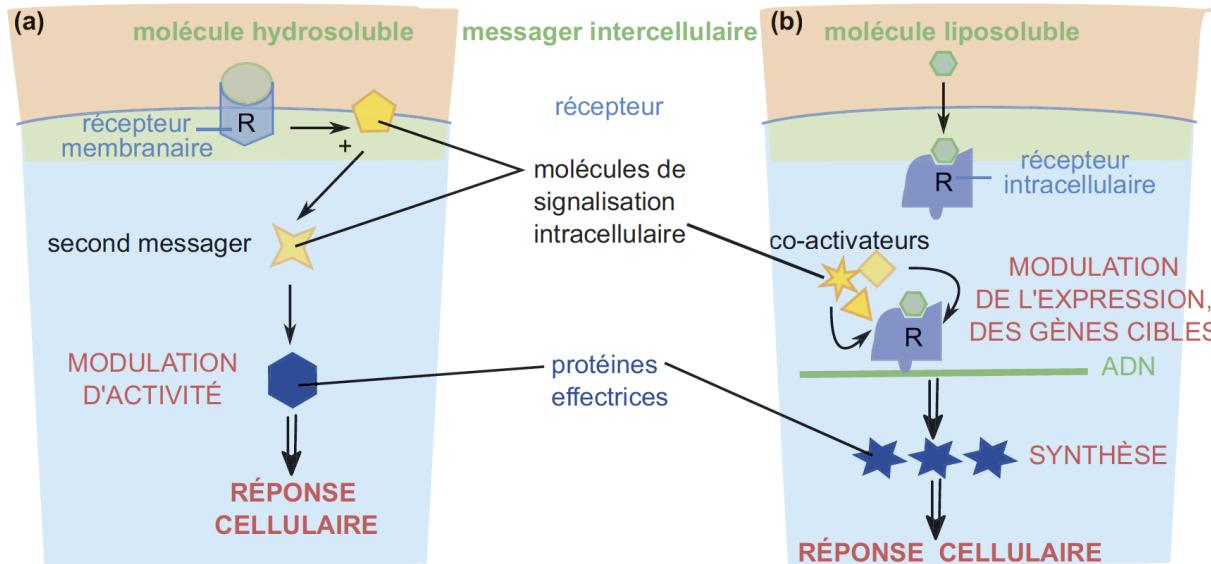


Figure 11.4 Les effets de l'activation des récepteurs membranaire (a) et intracellulaire (b).

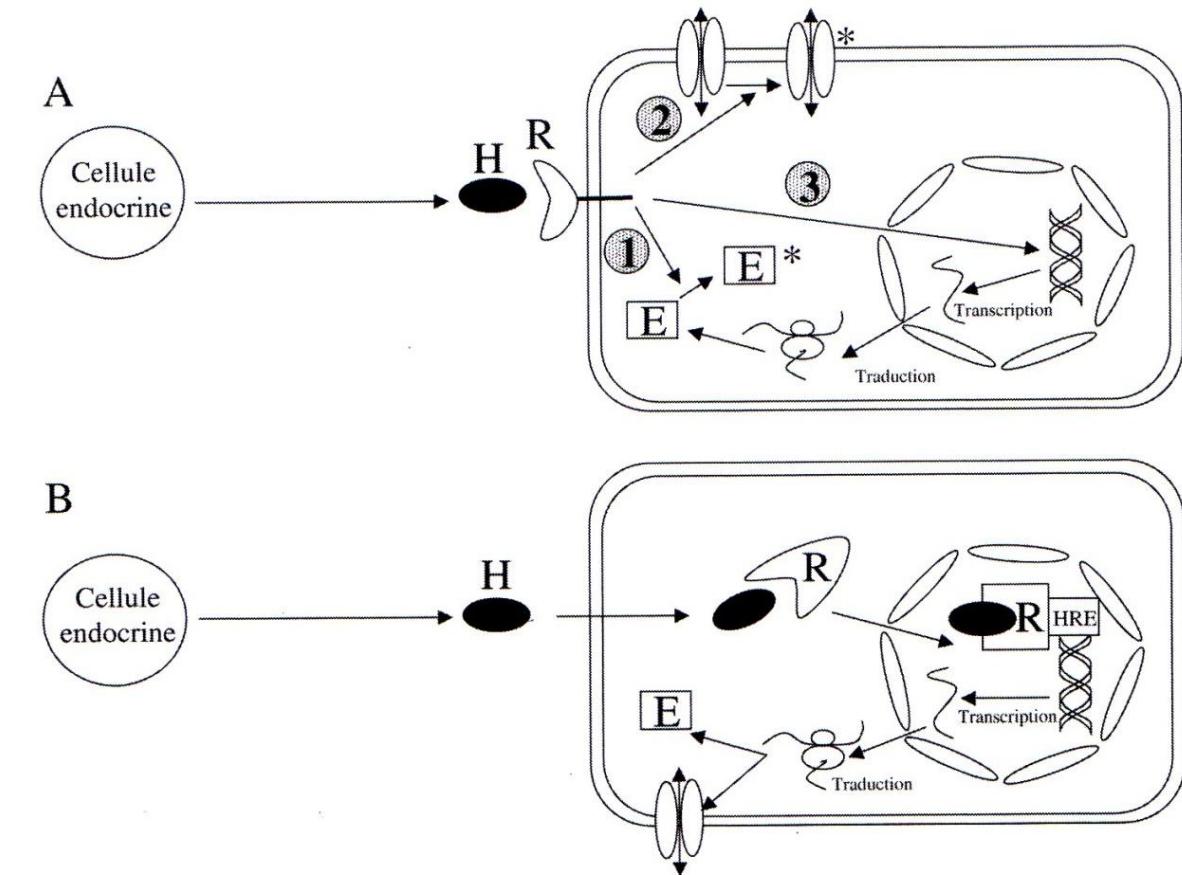


Figure 10.2. Modes de fonctionnement des hormones.

A : la fixation d'une hormone (**H**) sur un récepteur membranaire provoque l'activation (symbolisée par un astérisque) d'enzymes (**1**), de transporteurs (**2**), et une augmentation du nombre d'enzymes par activation de la transcription et de la traduction (**3**). B : hormone (**H**) se fixant à un récepteur cytoplasmique (**R**) aboutissant à une augmentation du nombre d'enzymes et de transporteurs par activation de la transcription.

2.3. La communication hormonale

a. La cellule endocrine : une cellule sécrétrice d'hormone

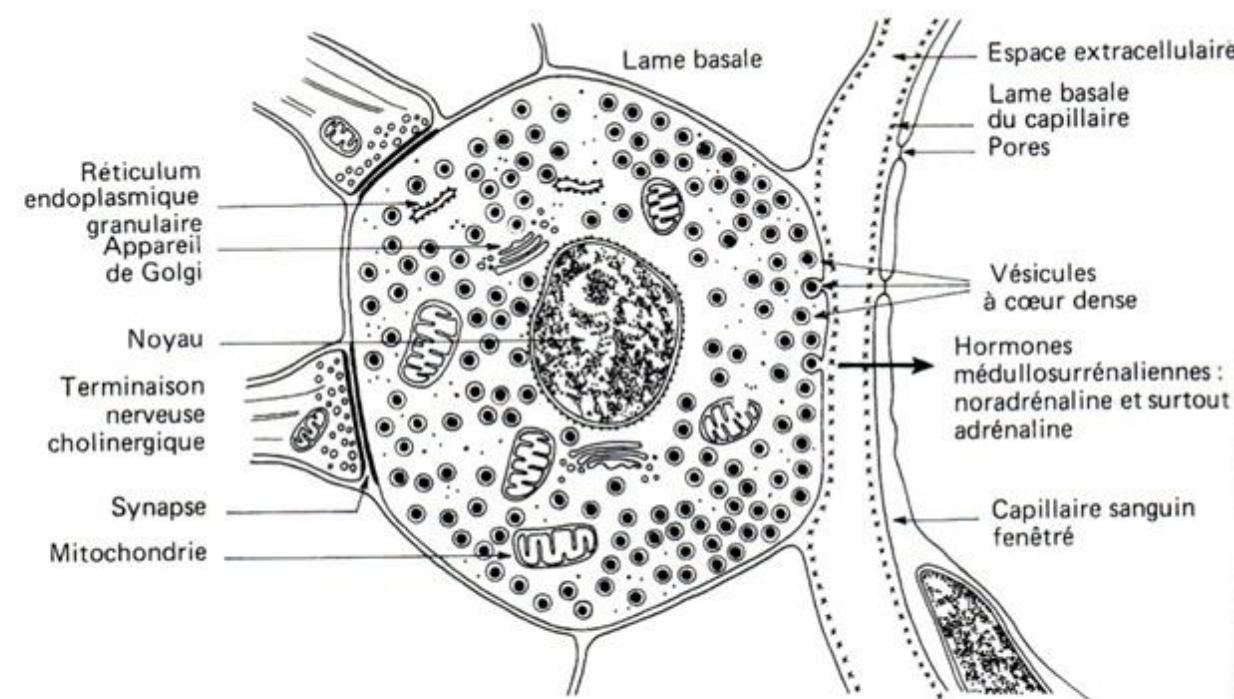


Fig. 9-10. Schéma de l'aspect ultrastructural d'une cellule chromaffine de la médullo-surrénale.

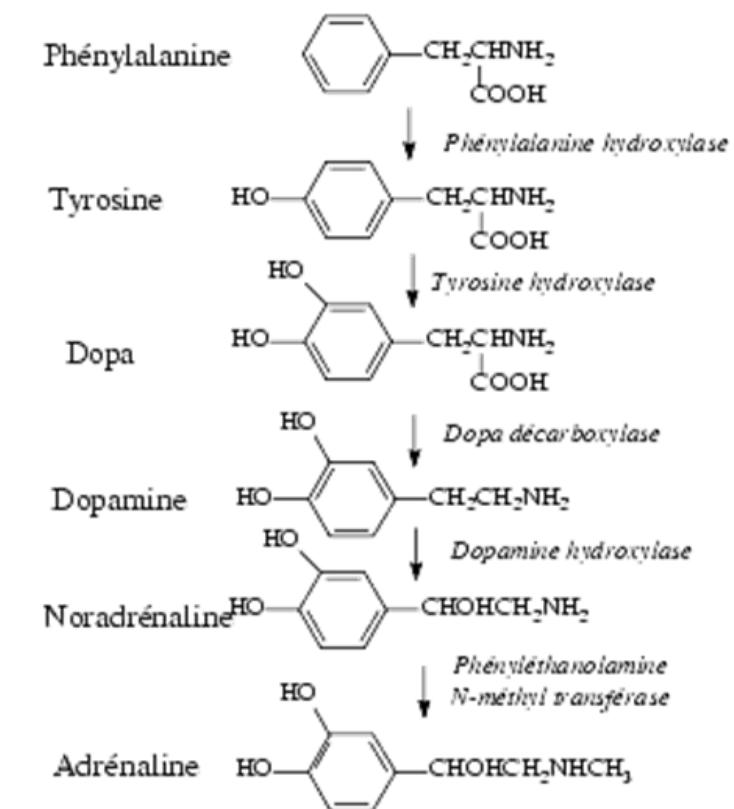
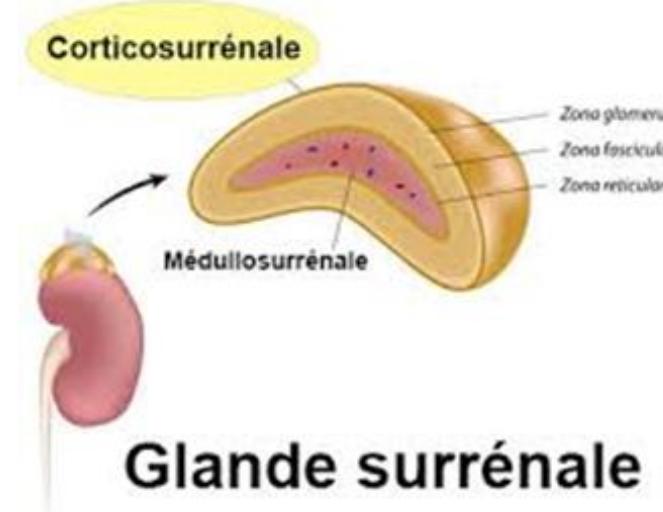
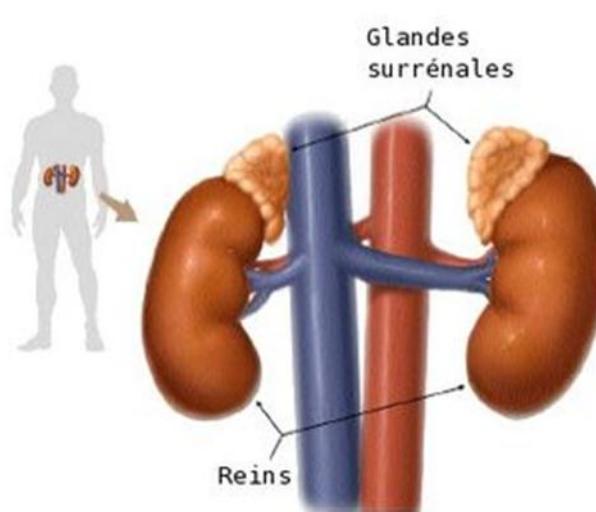
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.3. La communication hormonale

a. La cellule endocrine : une cellule sécrétrice d'hormone

Exemple de la production d'une hormone hydrosoluble

Exemple de l'adrénaline produite par la médullo-surrénale

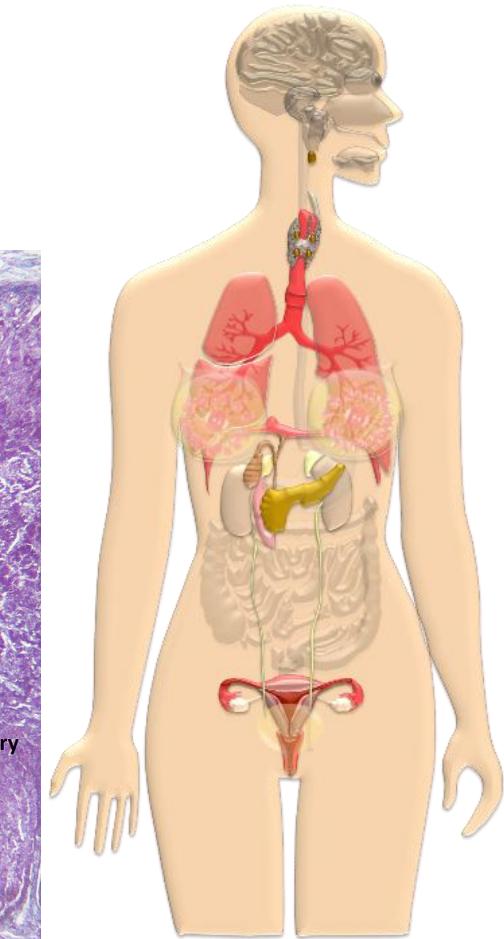
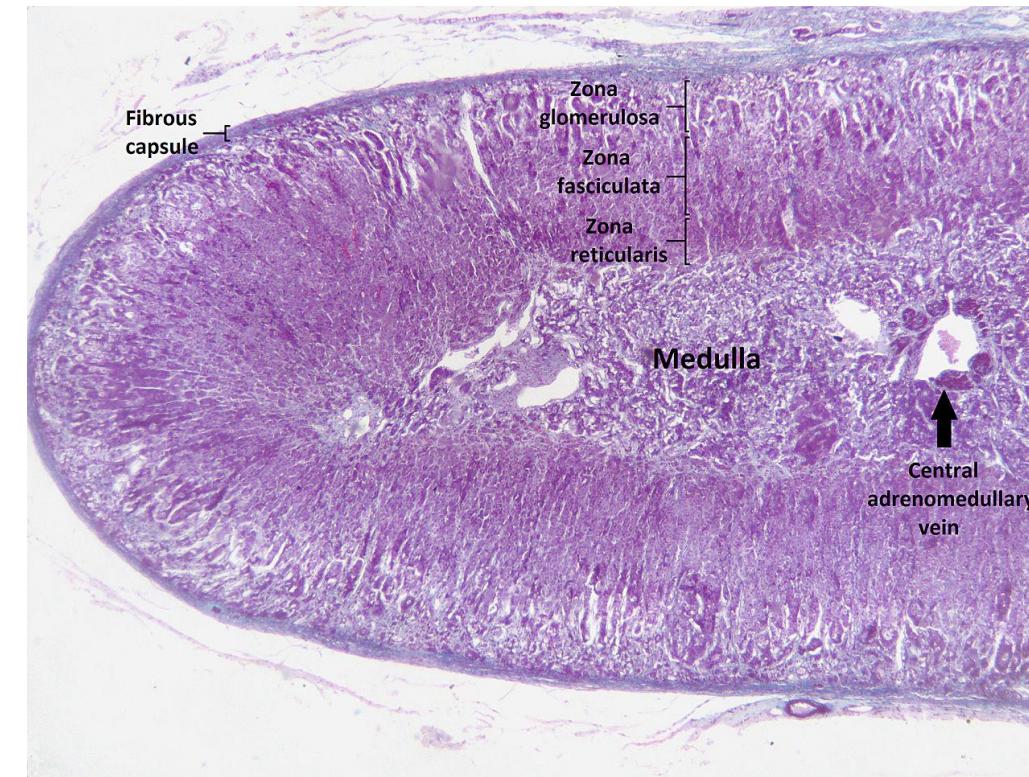
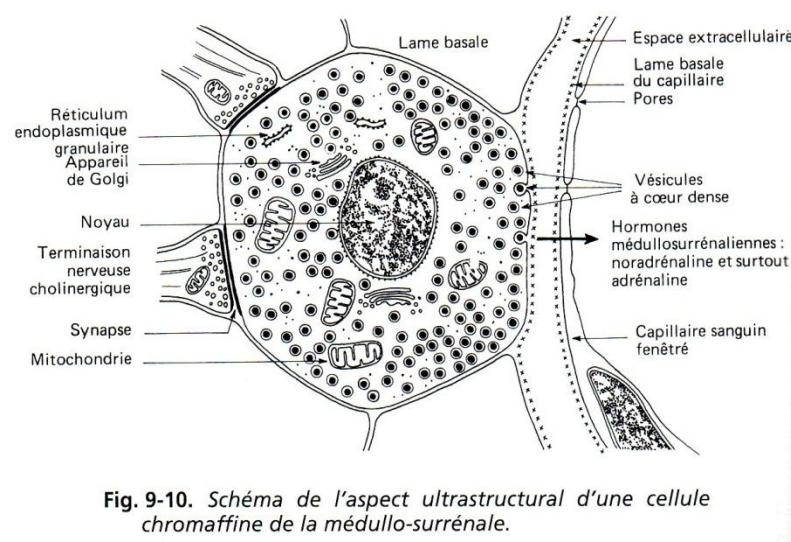


SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.3. La communication hormonale

a. La cellule endocrine : une cellule sécrétrice d'hormone

Cellule productrice d'Adrénaline



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.3. La communication hormonale

a. La cellule endocrine : une cellule sécrétrice d'hormone

Rappel SV-I-1 : production d'adrénaline pendant l'exercice

Adrénaline : hormone de « stress »

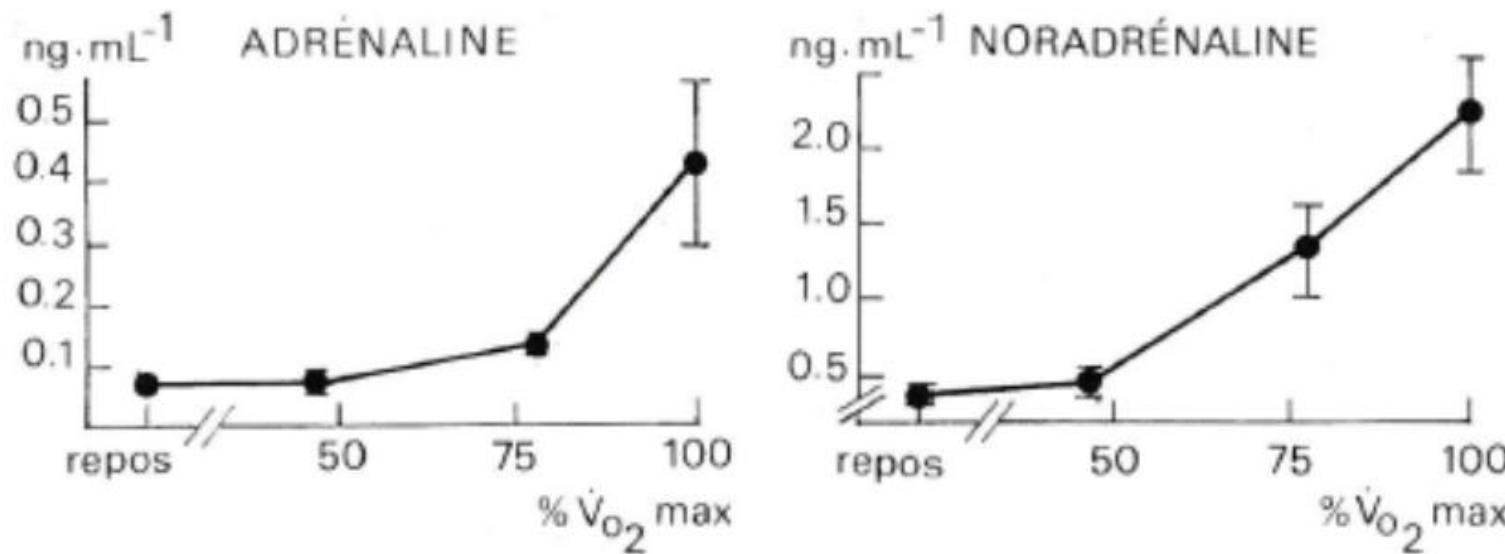


Fig. 76. Concentrations plasmatiques moyennes des catécholamines. Moyennes et écarts-types pour 8 sujets au repos et lors d'exercices d'intensité croissante (modifié d'après Galbo et coll., *J. appl. Physiol.*, 1975, 58, 70-76).

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

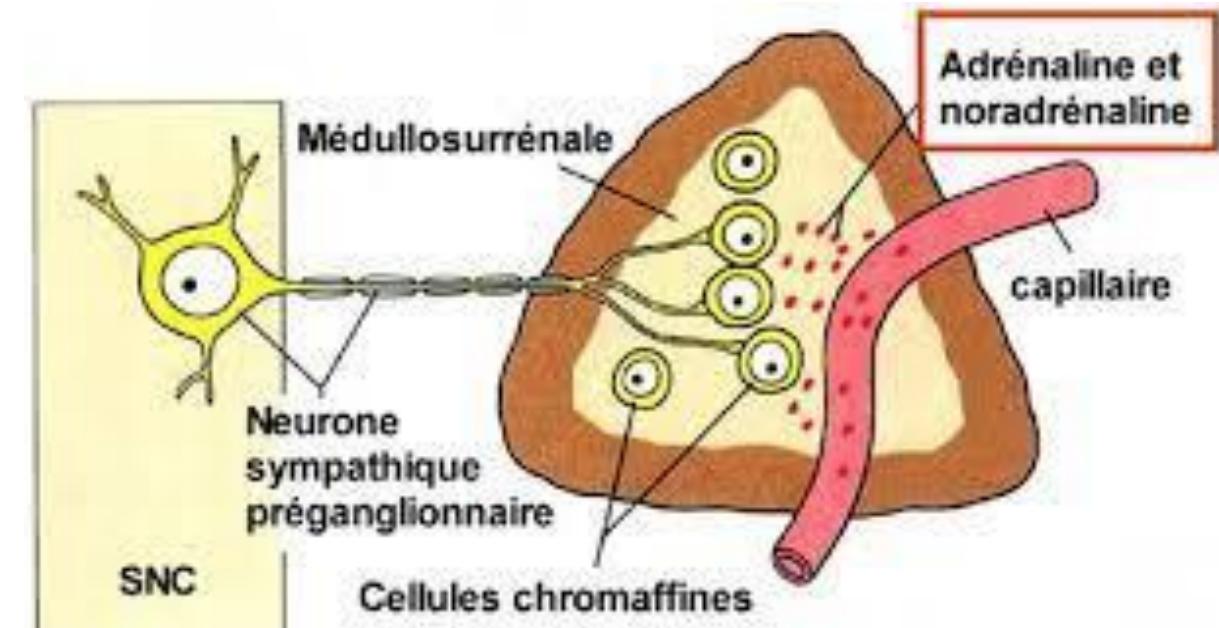
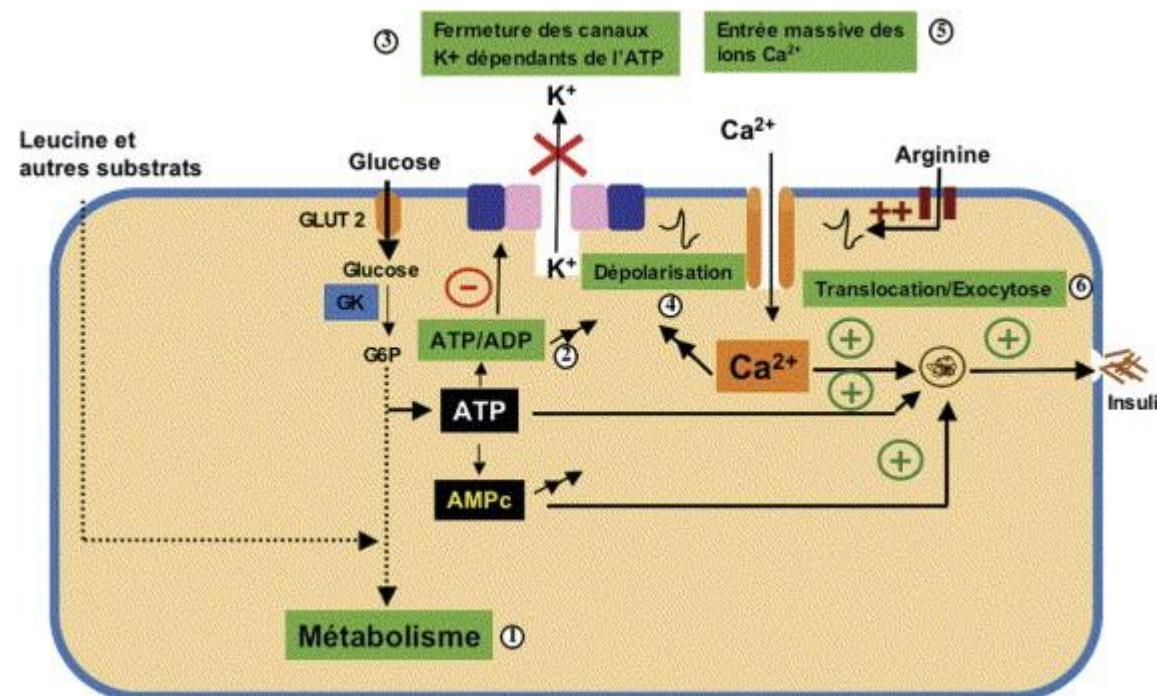
2.3. La communication hormonale

a. La cellule endocrine : une cellule sécrétrice d'hormone

Liaison communication nerveuse / communication hormonale

dans le cas de la médullosurrénale :

Insuline (pancréas) : liaison directe avec la concentration en glucose



2.3. La communication hormonale

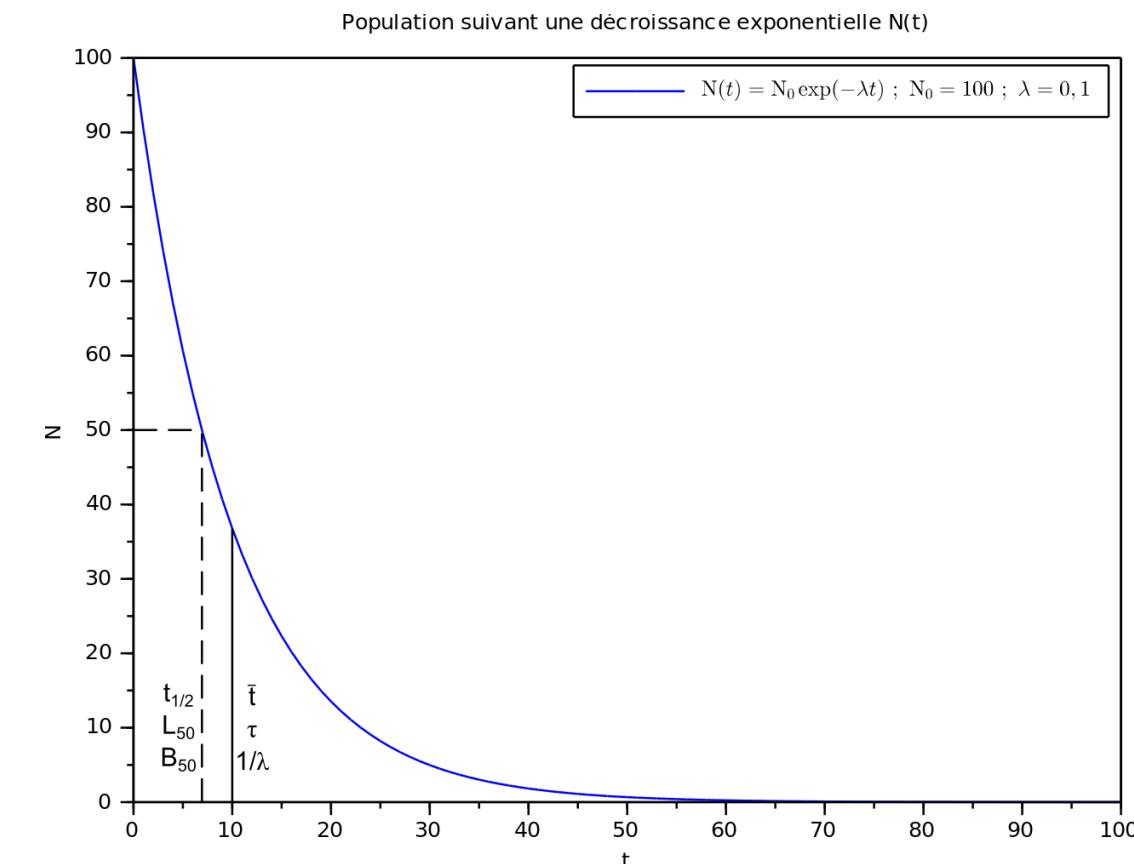
b. Importance de la convection sanguine

Dilution dans le compartiment plasmique : des concentrations très faibles

Importance de la demi-vie :

Adrénaline : environ 2,5 minutes

Testostérone : 7,8 jours



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

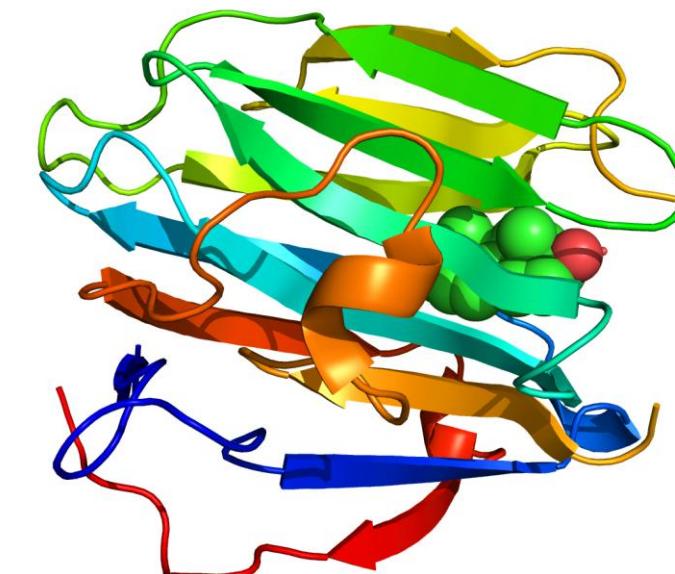
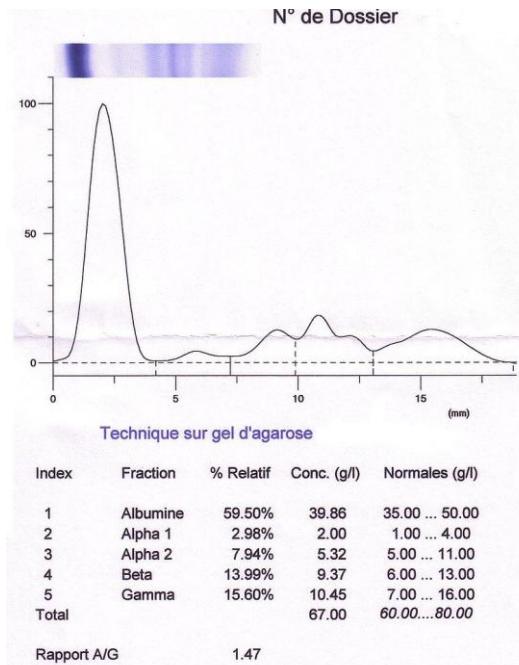
2.3. La communication hormonale

b. Importance de la convection sanguine

Hormones stéroïdes : transport lié à des protéines = transporteurs plasmatiques

Non spécifique : globuline plasmatique

Spécifique : exemple de la Sex Hormon Binding Globulin (SHBG) : spécifique à la testostérone et aux œstrogènes



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.3. La communication hormonale

c. Dégradation des messagers : voir 2.5

Deux exemples à connaître :

Acétylcholine estérase

Rôle du foie et des reins

2.4. La transmission synaptique

Organisation d'une synapse

Vésicules renfermant les neurotransmetteurs



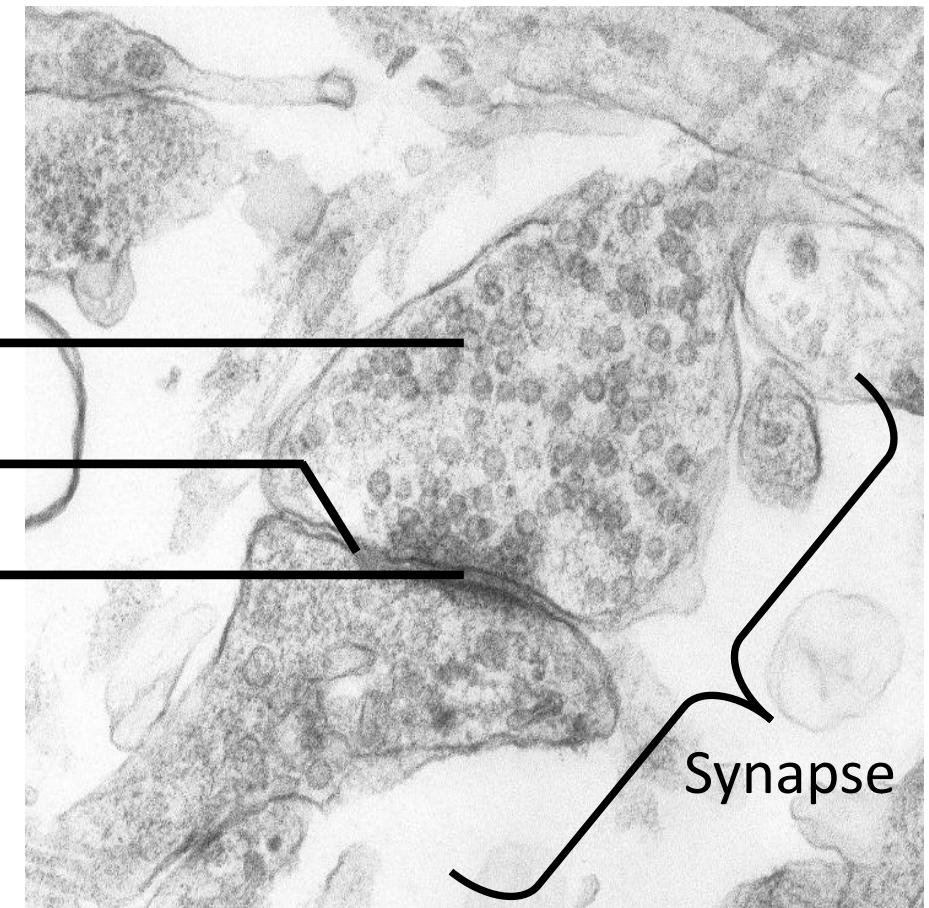
Membrane post synaptique épaisse



Fente synaptique



Synapse



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.4. La transmission synaptique

Le cas de la synapse neuromusculaire ou plaque motrice

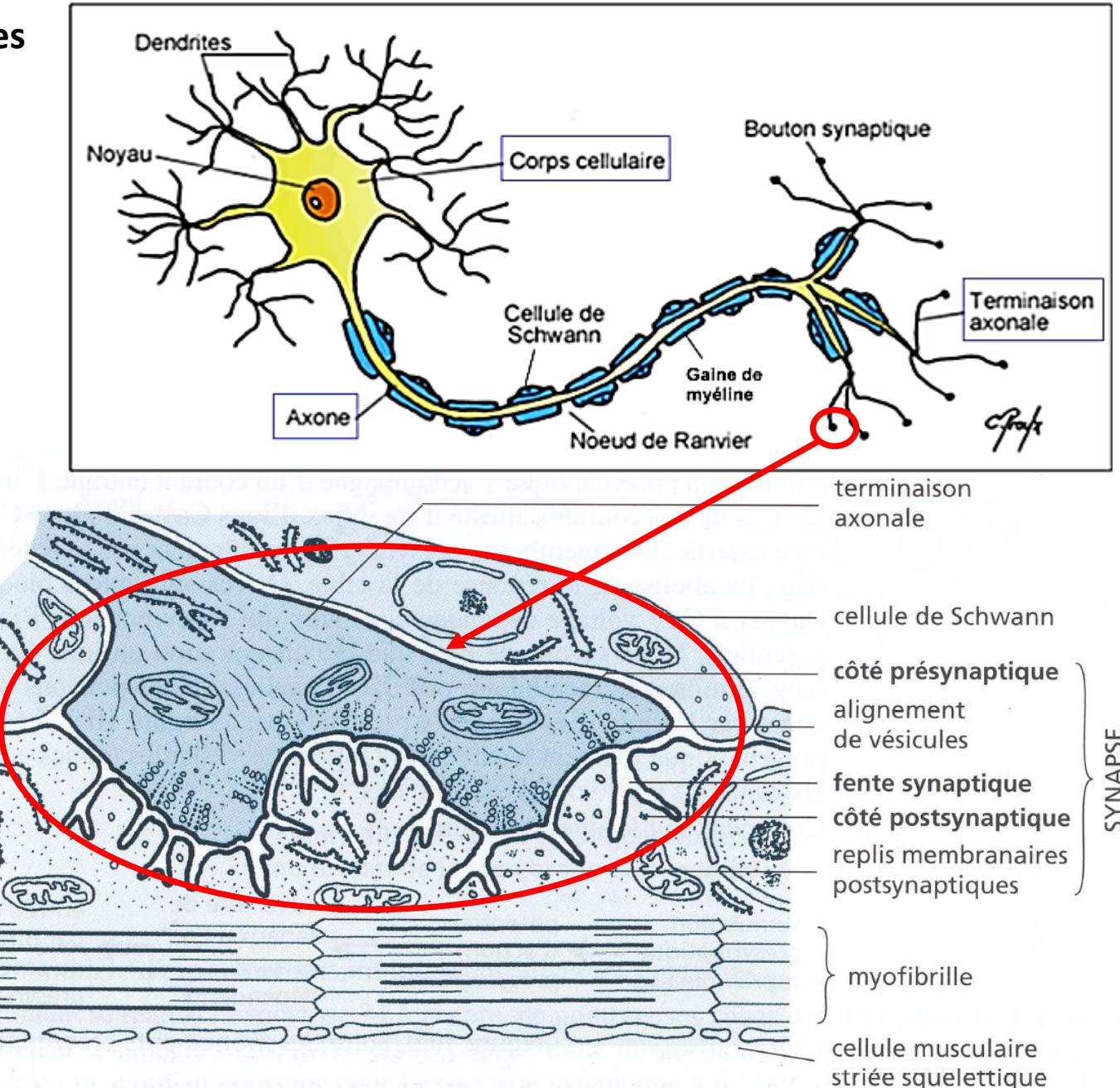
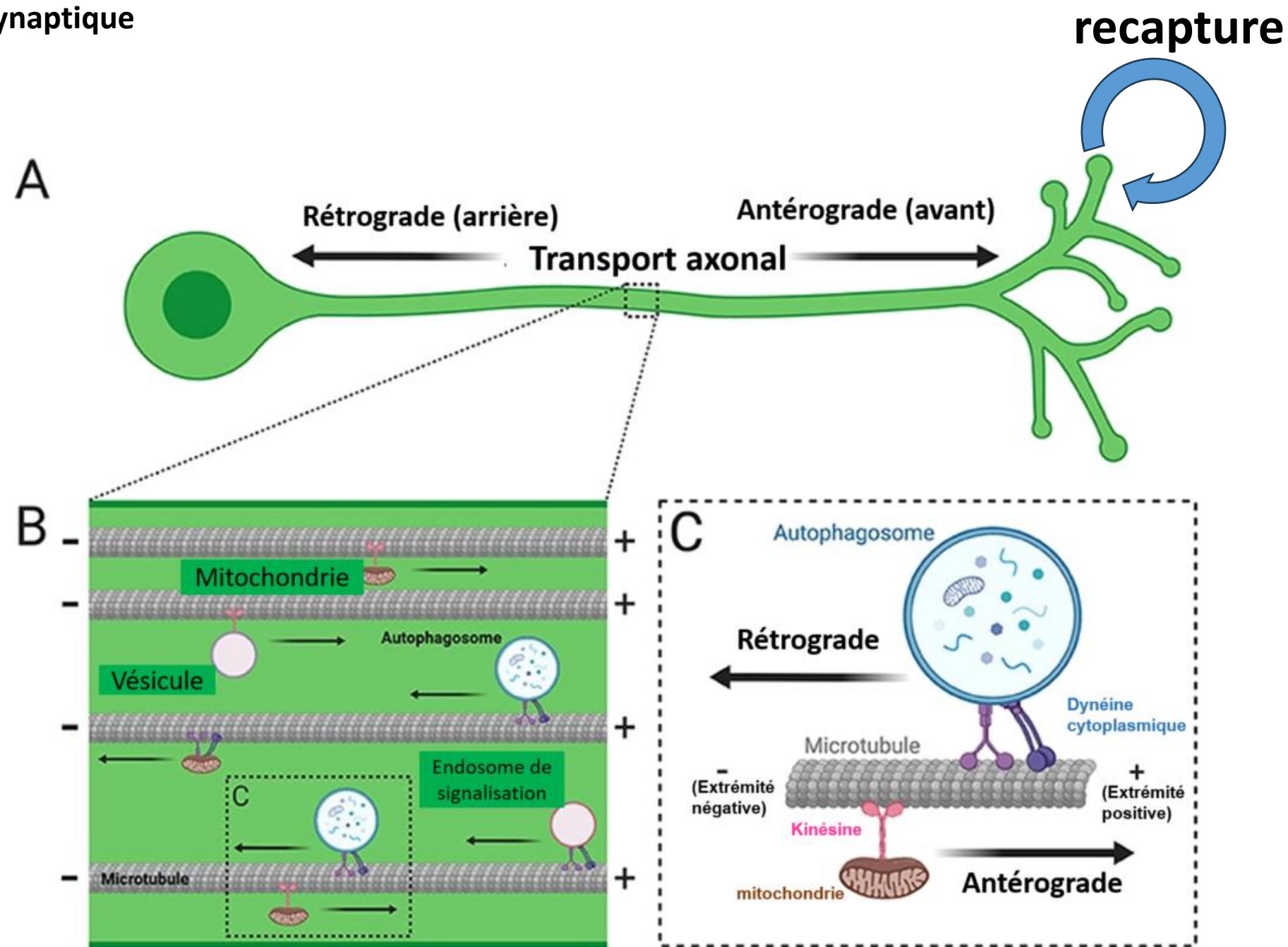


Figure 10.8 Organisation d'une synapse neuromusculaire.

En gras, les trois composants de toute synapse chimique.

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

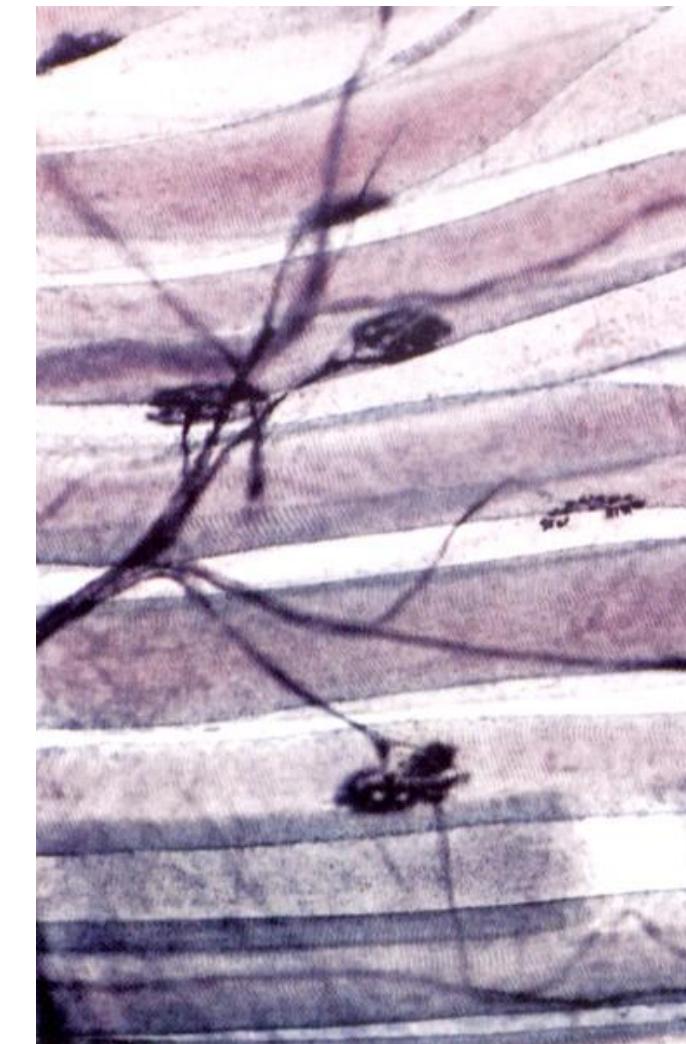
2.4. La transmission synaptique



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.4. La transmission synaptique

Synapse neuro-musculaire : lien
SV-H-3 Muscles

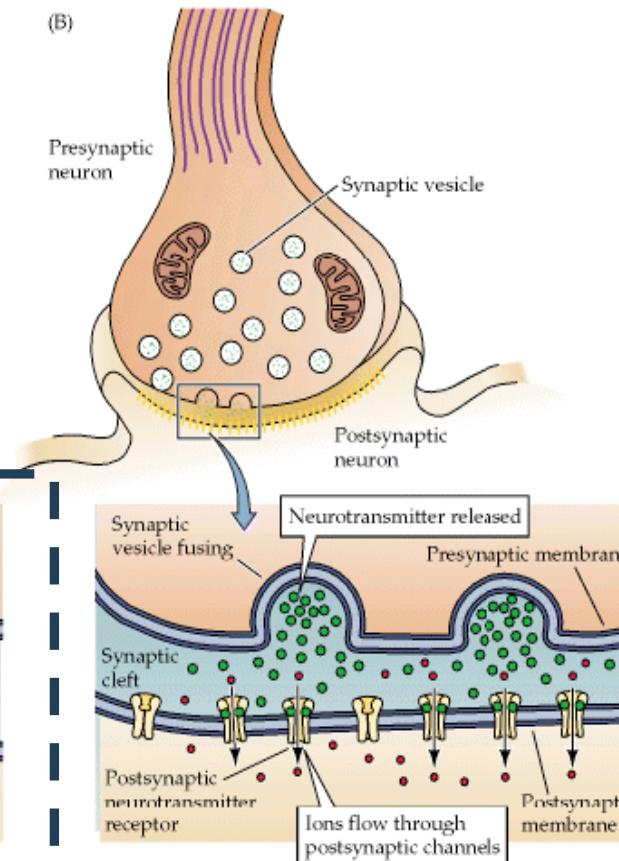


2.4. La transmission synaptique

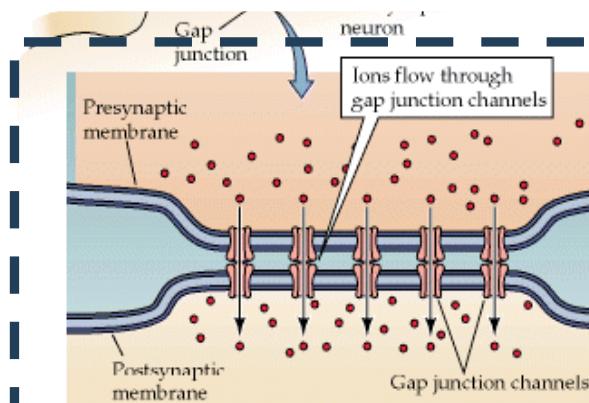
Synapses chimiques, synapses électriques.

Deux types de synapses :

Synapse chimique



Synapse électrique

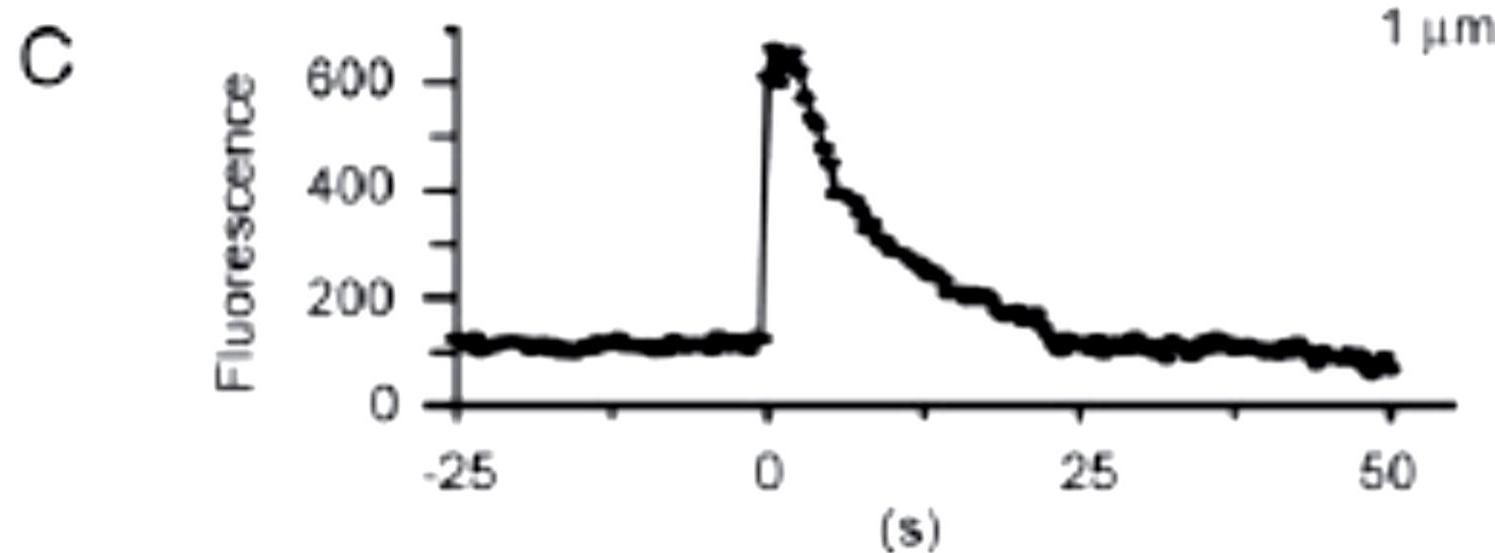


Exemple des
cardiomyocytes

2.4. La transmission synaptique

Exocytose calcium dépendante

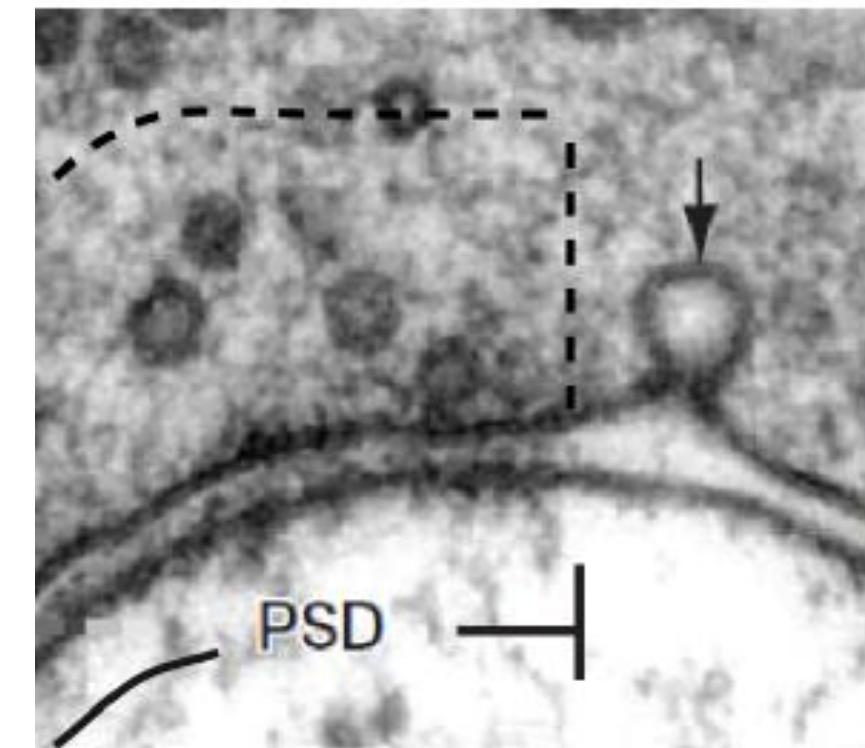
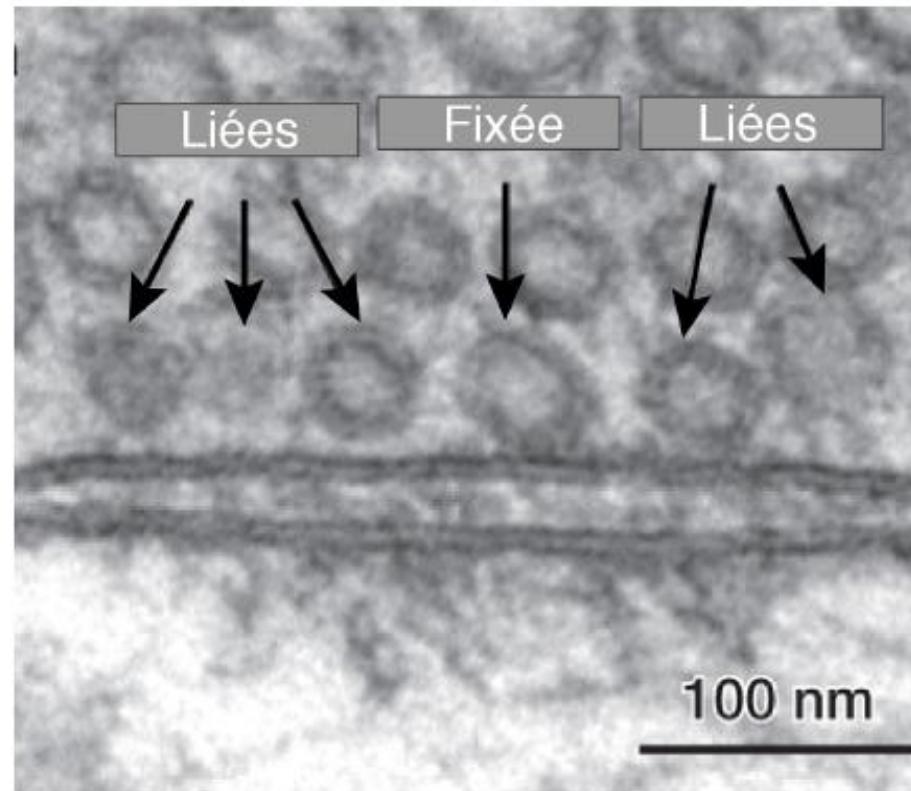
Utilisation d'**Aequorine** : augmentation fluorescence (bleue) lors de l'arrivée d'un potentiel d'action



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.4. La transmission synaptique

Arrivée d'un potentiel d'action → influx de calcium → libération d'une quantité fixe d'acétylcholine



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.4. La transmission synaptique

Un modèle d'exocytose

Le calcium permet l'exocytose (rappel sup) :

NOMBREUSES PROTÉINES :

NOTAMMENT SNAP / SNARE

Synaptotagmine sensible au Ca^{2+}

Mais aussi :

Energie (hydrolyse ATP)

Cytosquelette

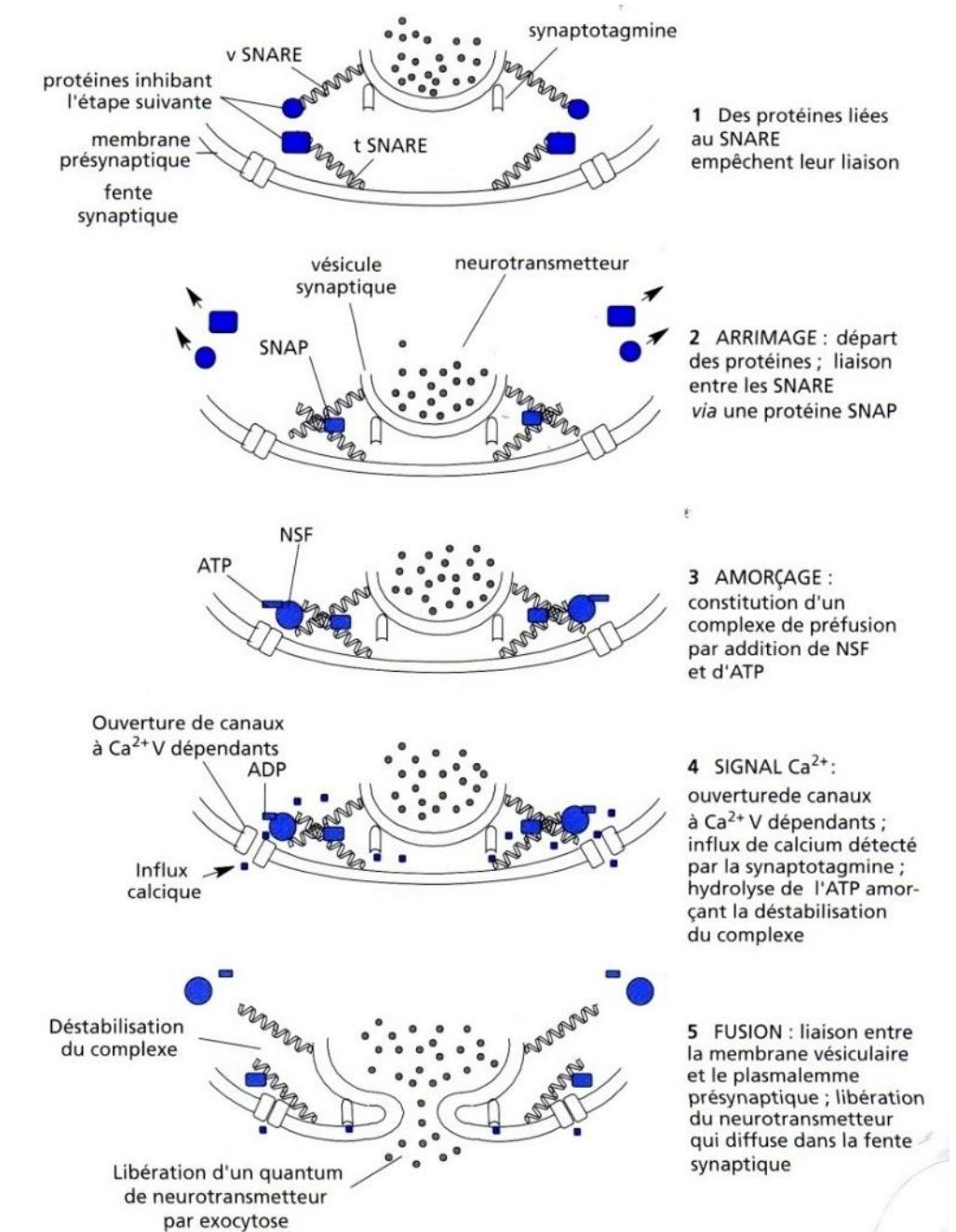


Figure 10.11 Étapes conduisant du recrutement des vésicules à leur exocytose.

2.4. La transmission synaptique

Un potentiel = une libération d'acétylcholine
brève

Une synapse : environ 300 000 vésicules

Une vésicule contient environ 1000 molécules d'acétylcholine

Un potentiel arrivant à la synapse : environ 300 vésicules libérées (1 pour mille)

Fréquence maximale des potentiels d'action : 100 Hertz soit 100 potentiels d'action par seconde

1 molécule d'acétylcholine a une durée de vie $< 1/100 \text{ s} = 1 \text{ ms}$

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.4. La transmission synaptique

- BCPST PPSE p 285- 287

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.4. La transmission synaptique

Rappel de ce que l'on sait sur l'acétylcholine et son récepteur

Fente synaptique : 20 à 30 nm donc message paracrine

Fixation **de l'acétylcholine** sur un **récepteur nicotinique**

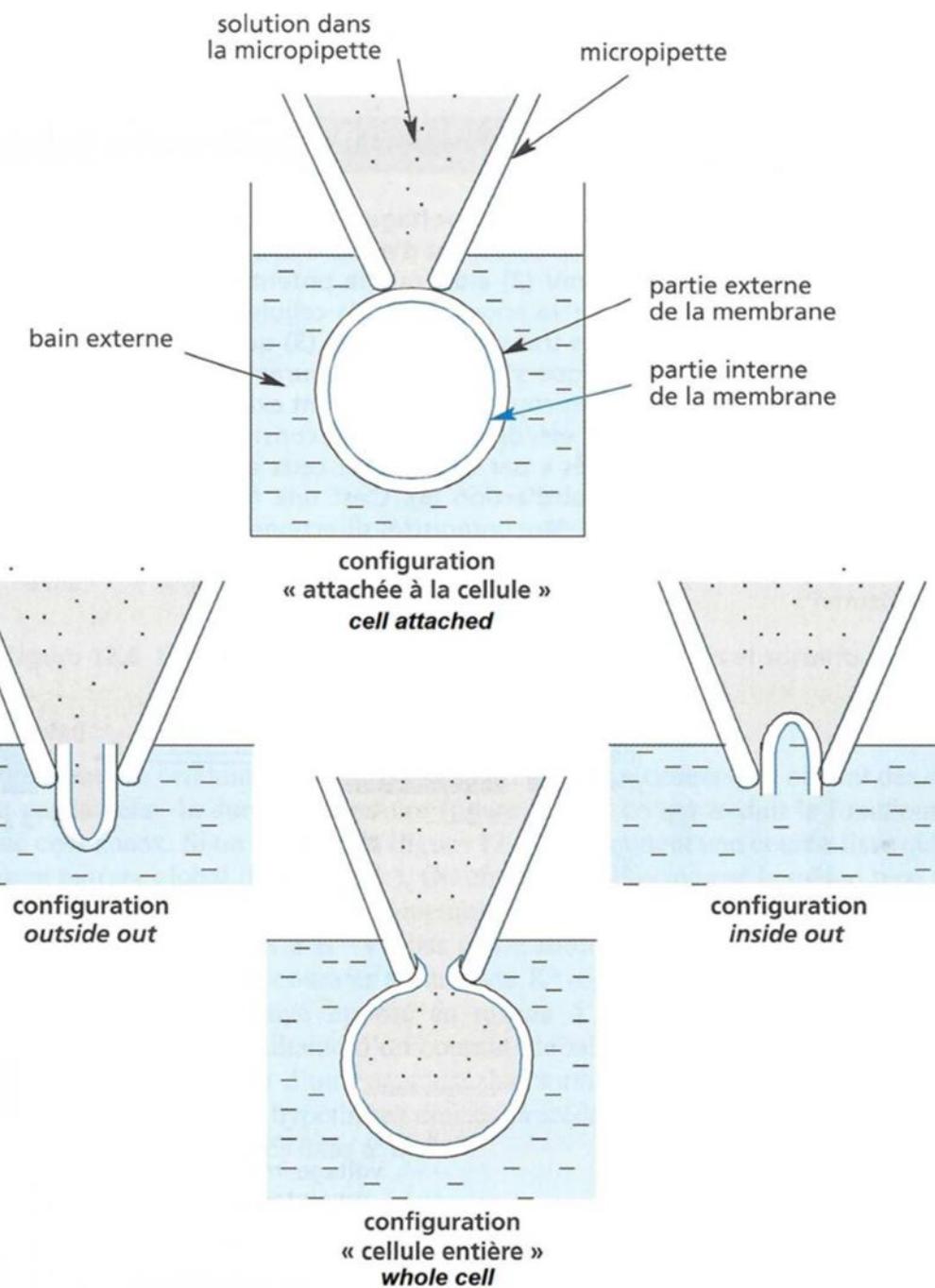
Nicotine = molécule qui active aussi le canal = molécule agoniste,

Analyse par technique biochimique classique : protéine transmembranaire formé de plusieurs sous-unités (2 sous unités α puis une β une δ une γ)

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.4. La transmission synaptique

- Rappel patch clamp

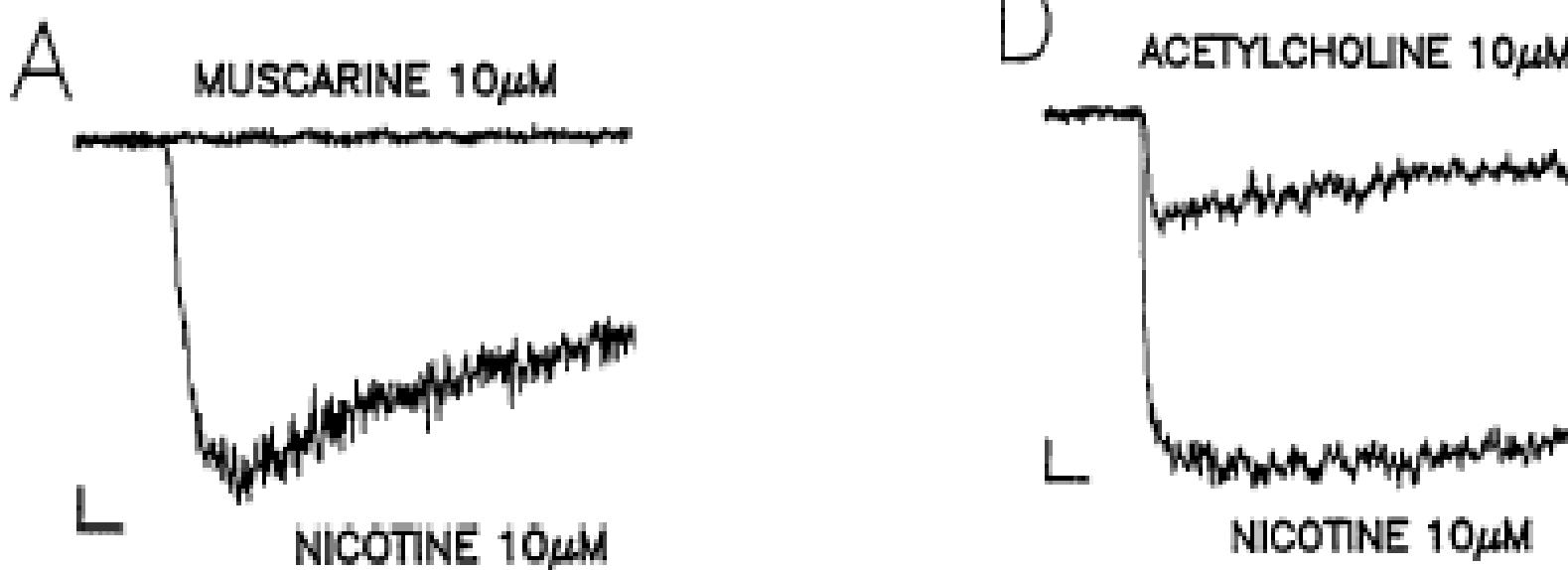


2.4. La transmission synaptique

Etude par patch clamp : un canal **ligand dépendant** ou chimio-dépendant

S'ouvre en présence d'acétylcholine ou de nicotine mais pas de muscarine : **spécificité** (complémentarité protéine / ligand)

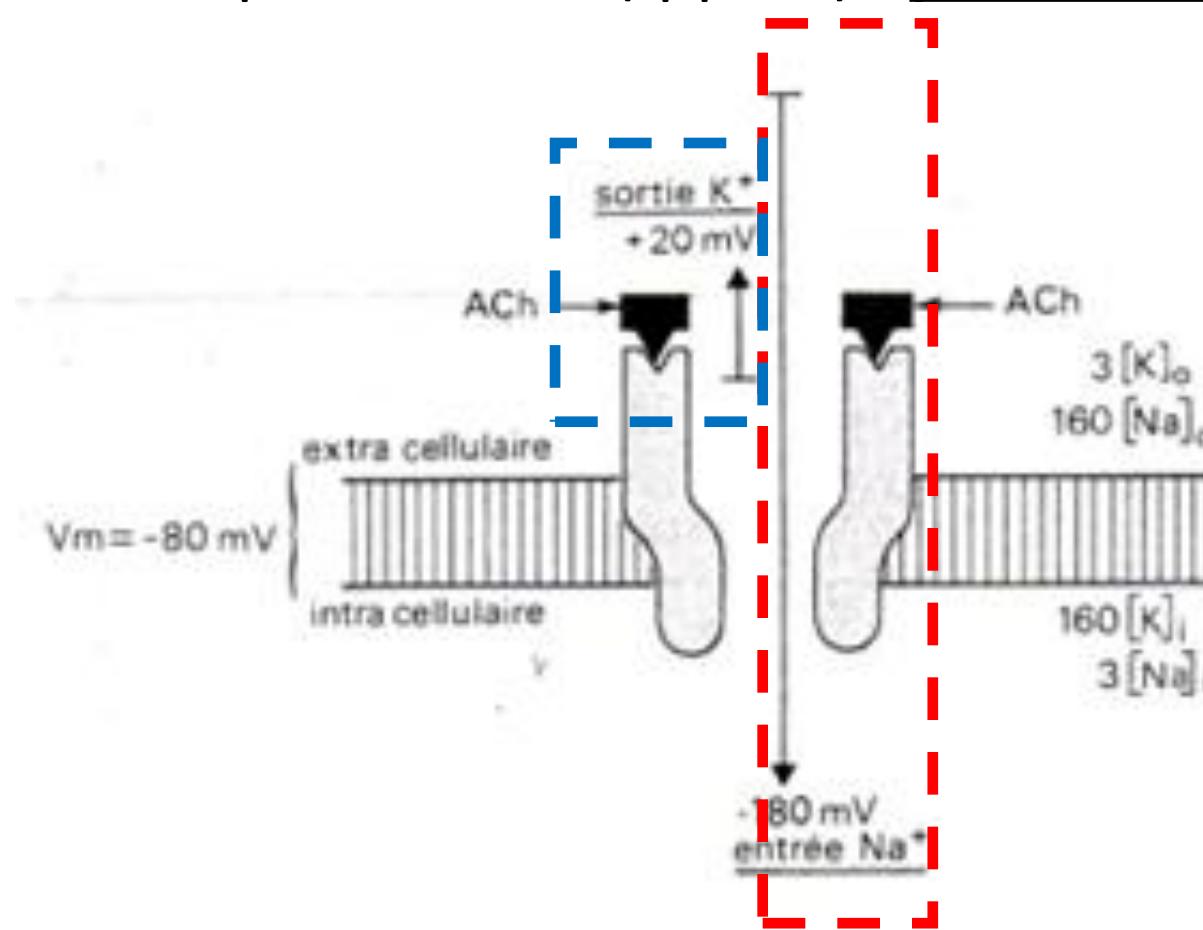
Axe vertical : 25 pA



2.4. La transmission synaptique

Canal ouvert :

Entrée de sodium = dépolarisation (qq mV) : **potentiel post synaptique**



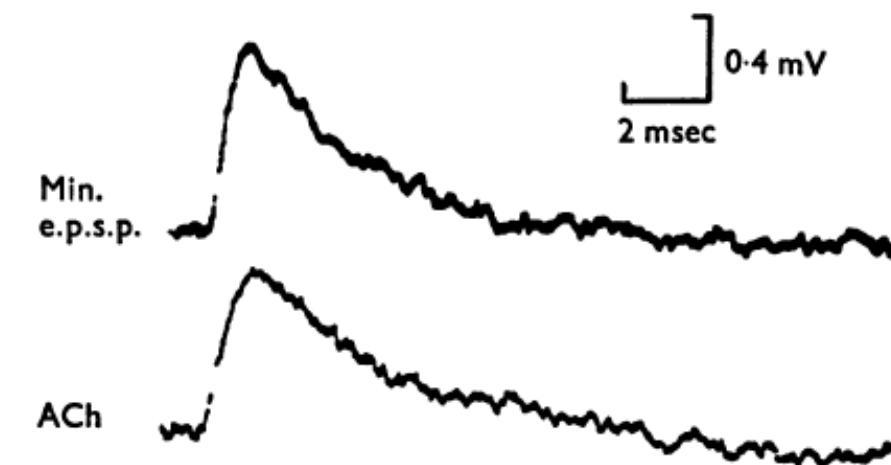
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.4. La transmission synaptique

Conséquence de l'ouverture : une petite **dépolarisation post synaptique = PPS**, réponse de la cellule musculaire à la libération d'acétylcholine

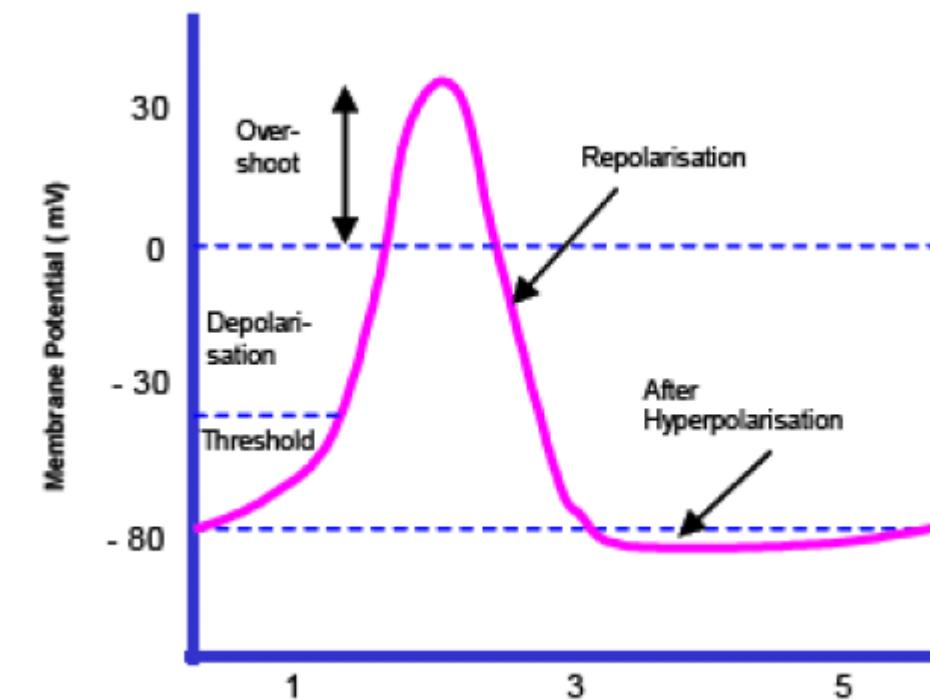
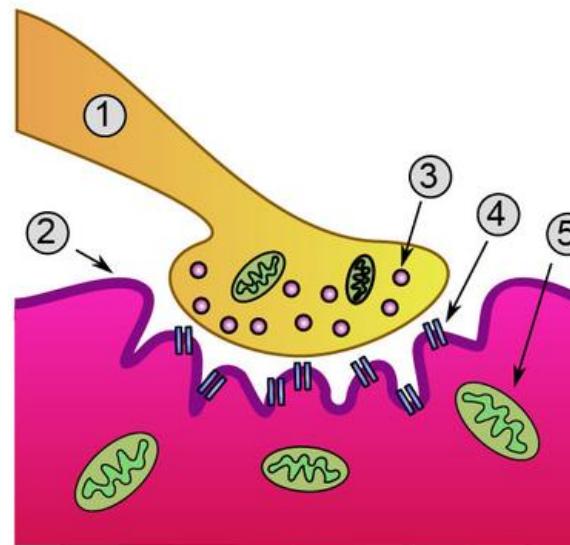
Enregistrement sur la membrane post synaptique

Ajout d'acétylcholine



2.4. La transmission synaptique

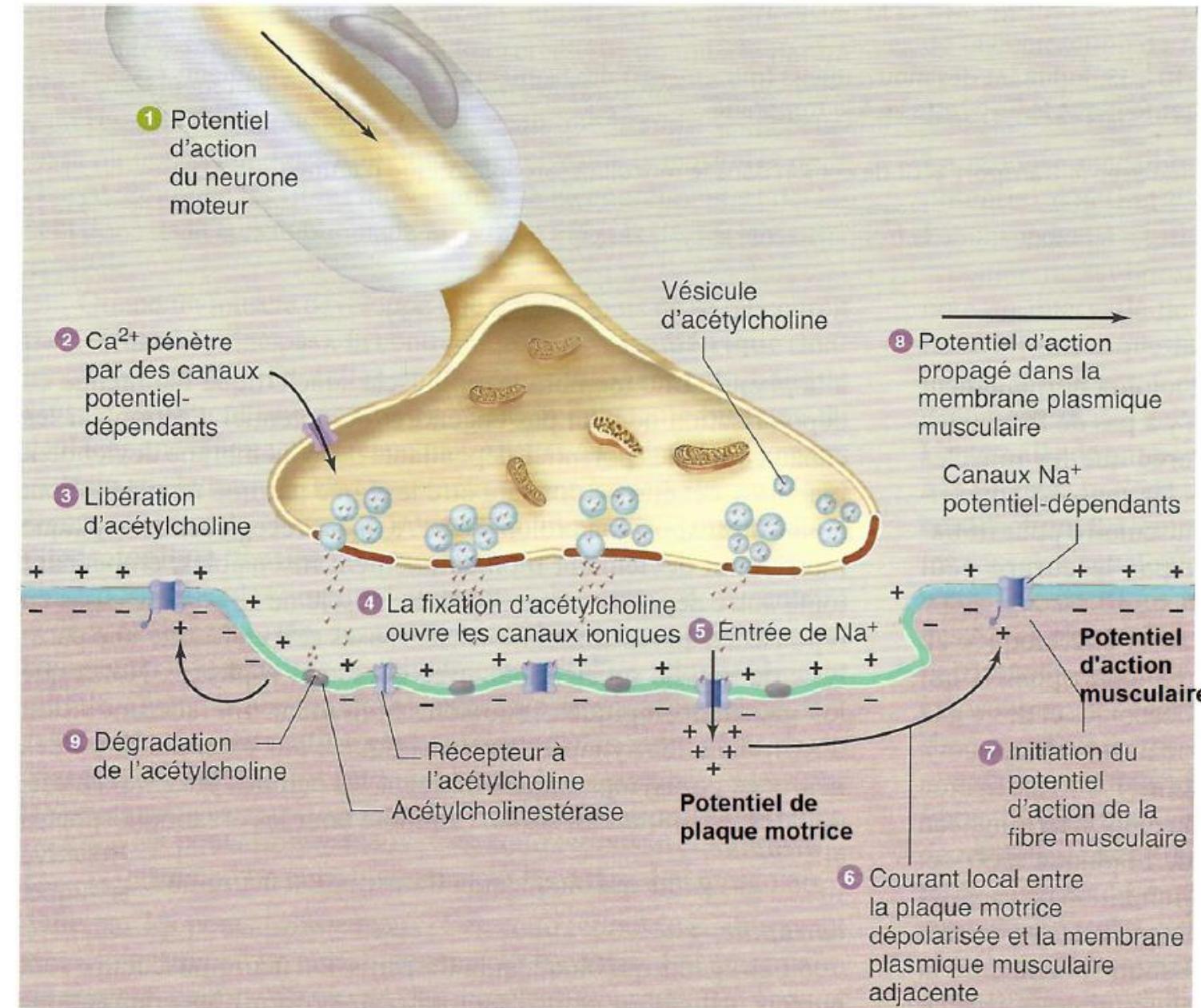
Cas du récepteur à l'acétylcholine : dépolarisation par entrée de sodium = potentiel post-synaptique exciteur ou potentiel de plaque motrice. Dans le cas du muscle ce potentiel provoque le potentiel d'action du muscle : lien SV-H-3



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.4. La transmission synaptique

•P 287



2.5. L'importance de la dégradation des messagers

a. Notion de demi vie

Hormone et messagers paracrine : codage en concentration.

2 points / quantité de messagers :

1.- Quantité libérée et dilution

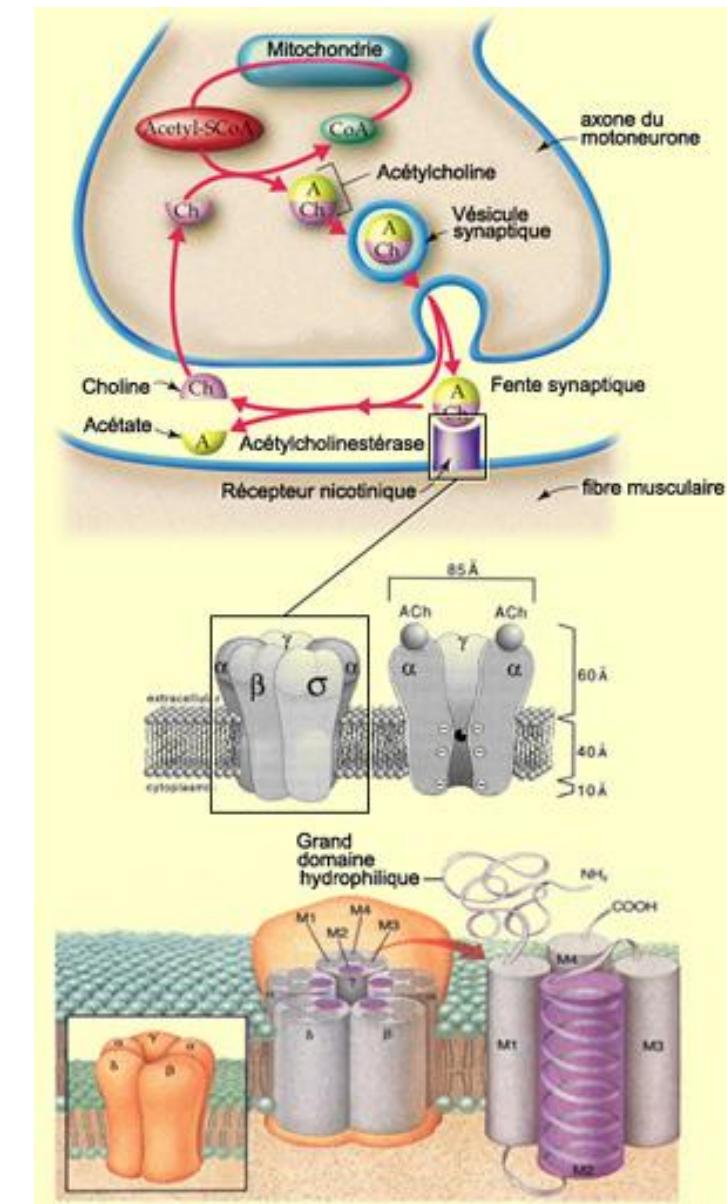
2.- Elimination

SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.5. L'importance de la dégradation des messagers

a. Notion de demie vie

Demi-vie très courte de l'acétylcholine : 1 ou 2 ms, l'acétylcholinestérase étant capable d'hydrolyser 4000 molécules d'ACH par site et par seconde



SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.5. L'importance de la dégradation des messagers

a. Notion de demie vie

Dilution / élimination : exemple d'une hormone

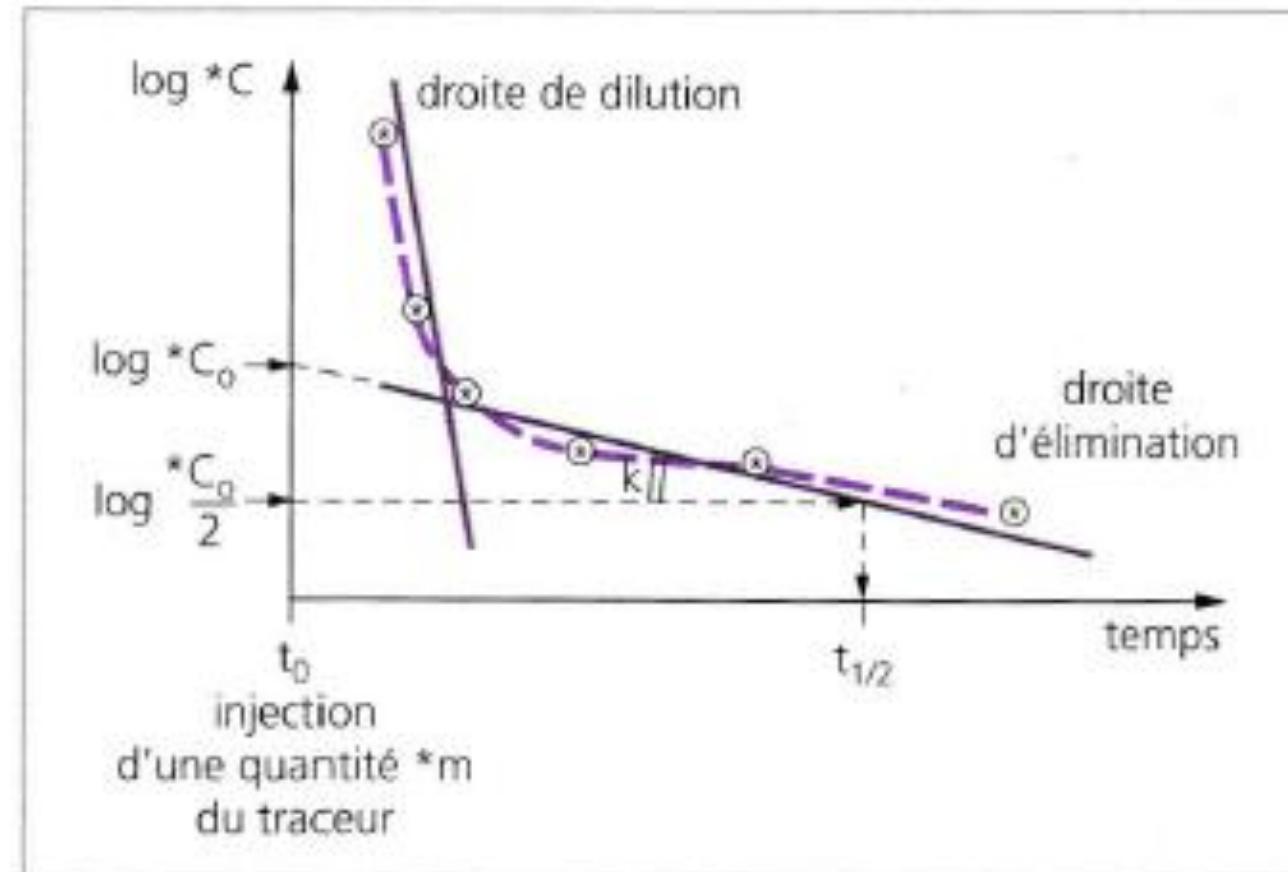


Fig. 3.9. Courbe de dilution plasmatique d'un traceur hormonal au cours du temps.

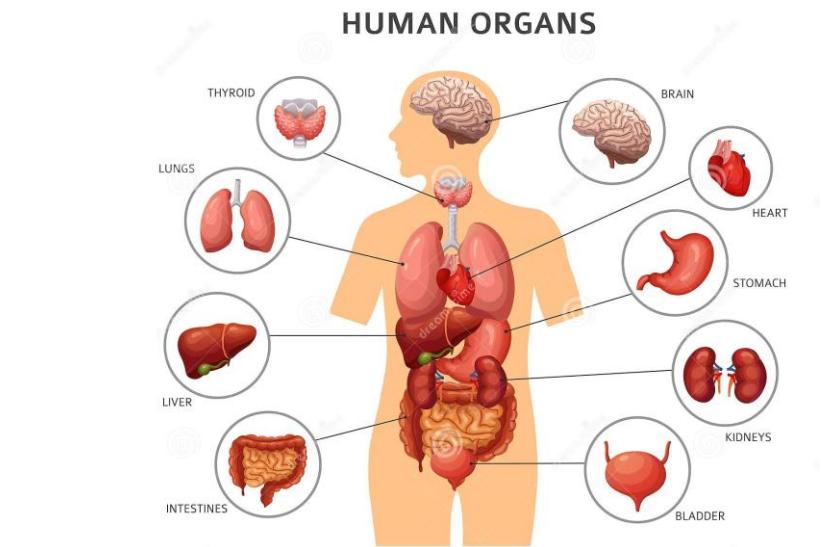
2.5. L'importance de la dégradation des messagers

b. Différentes modalité d'élimination des hormones

Via le rein et élimination par les urines

Via la dégradation par le foie

Remarque : différence génotypique : médecine du futur prenant en compte l'élimination



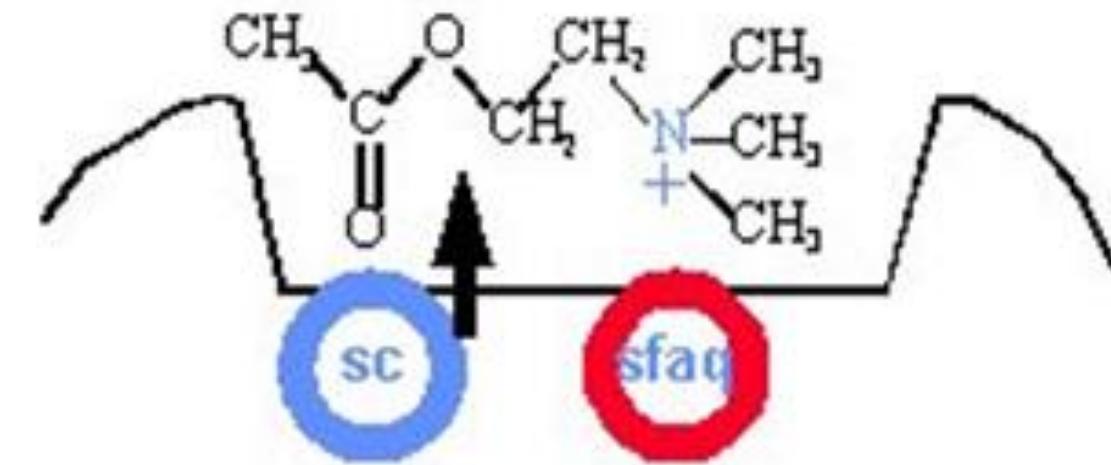
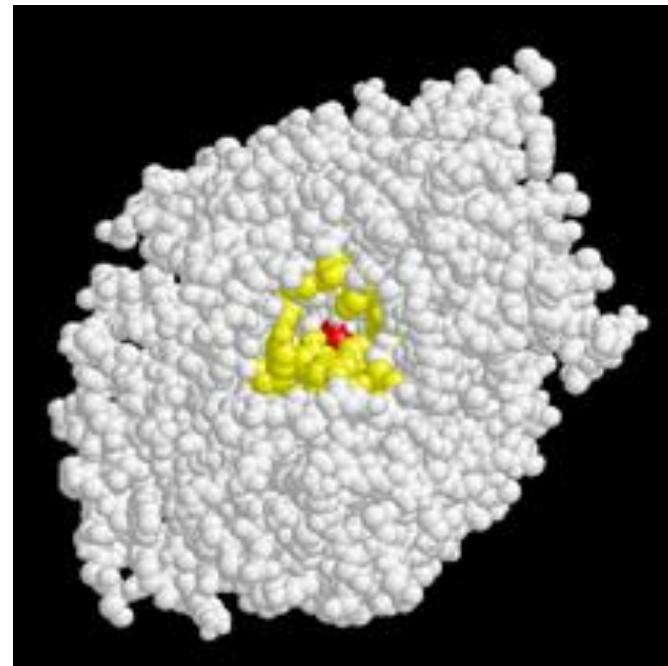
SV-I-2 Communications intercellulaires chez les Métazoaires

2.5. L'importance de la dégradation des messagers

b. Différentes modalité d'élimination des hormones

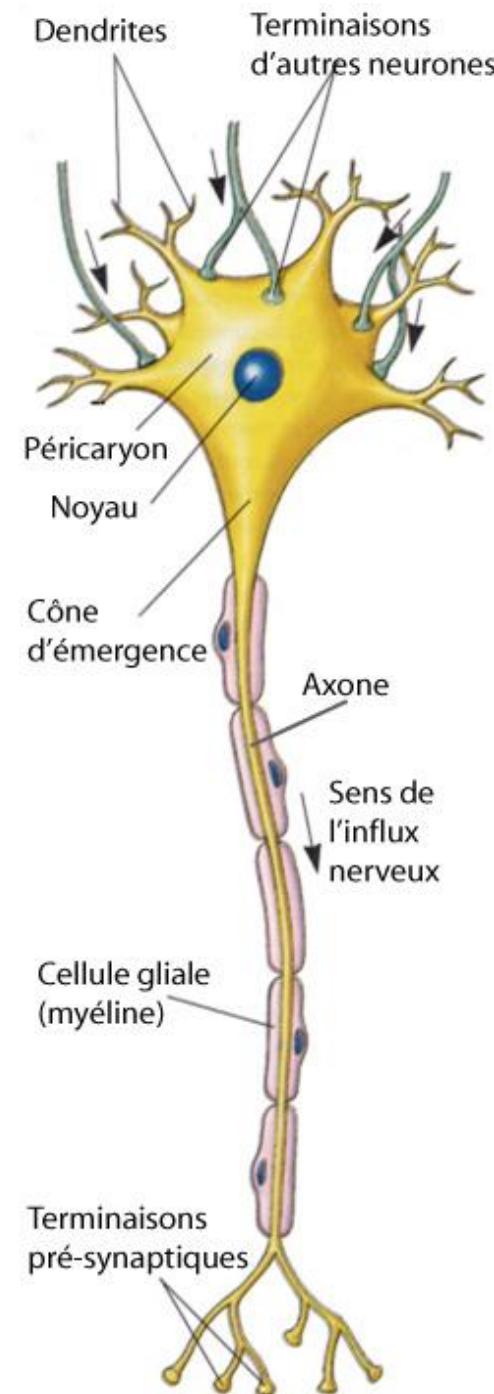
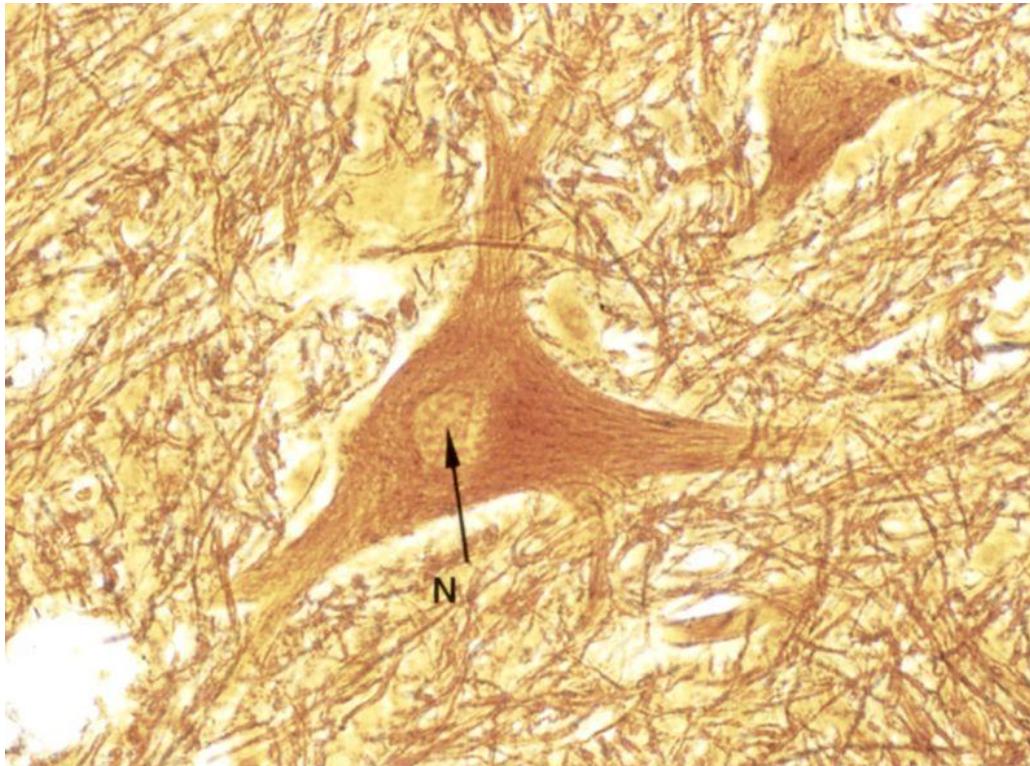
Exemple de l'acétylcholine

Messager paracrine : dégradation dans la fente synaptique par l'acétylcholine estérase, une enzyme de dégradation



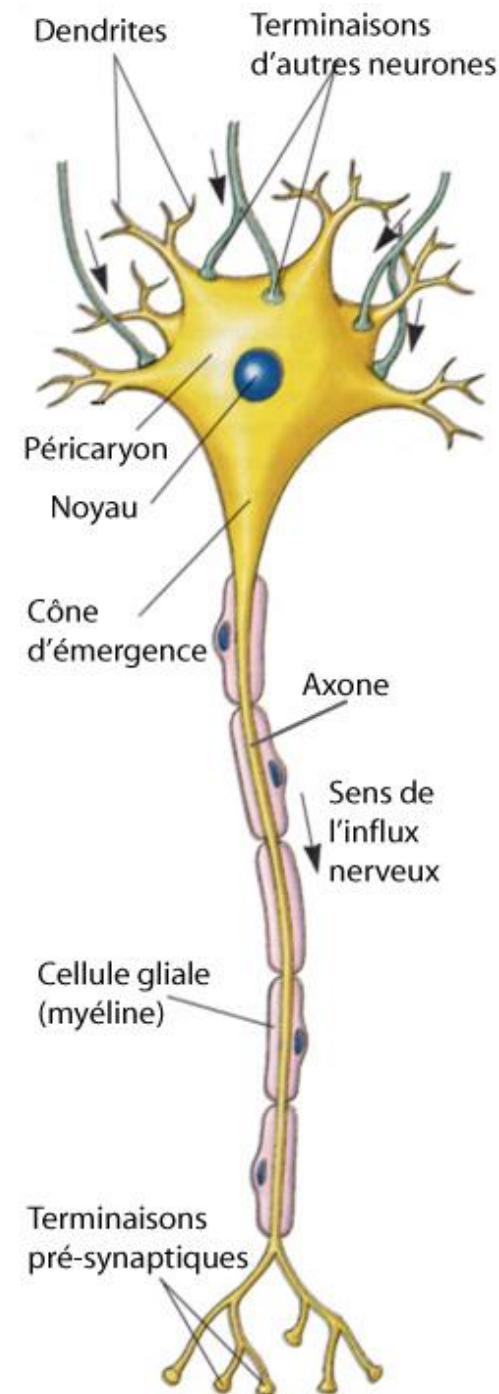
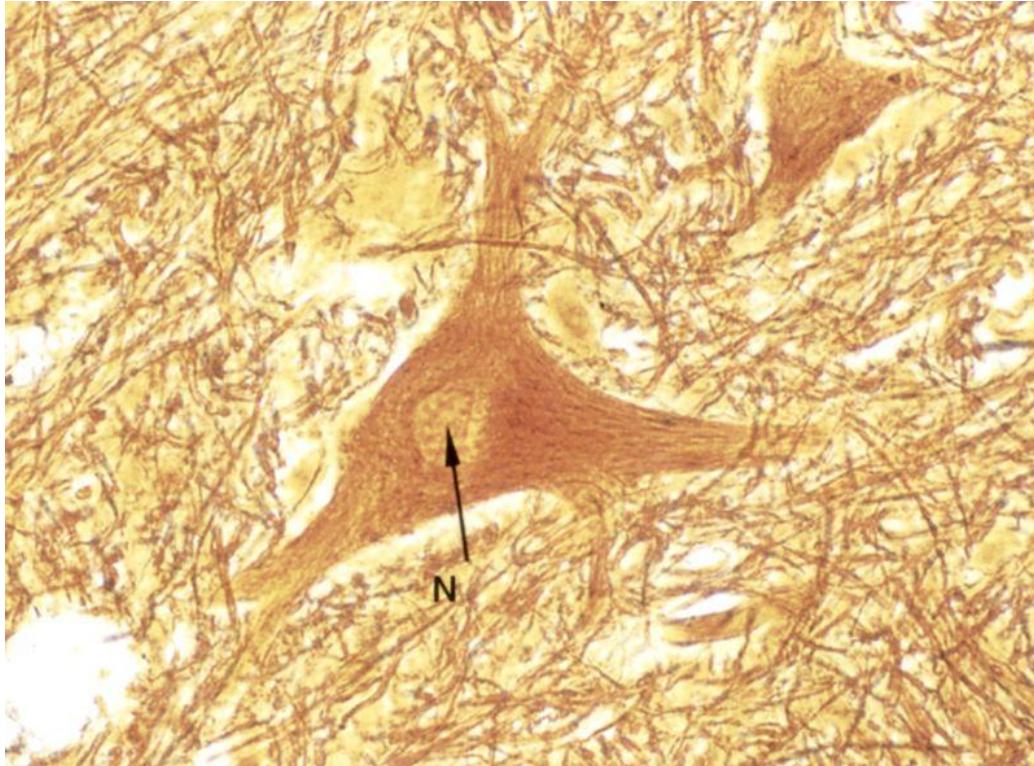
2.6. Le potentiel d'action du neurone

Le neurone : une cellule différenciée



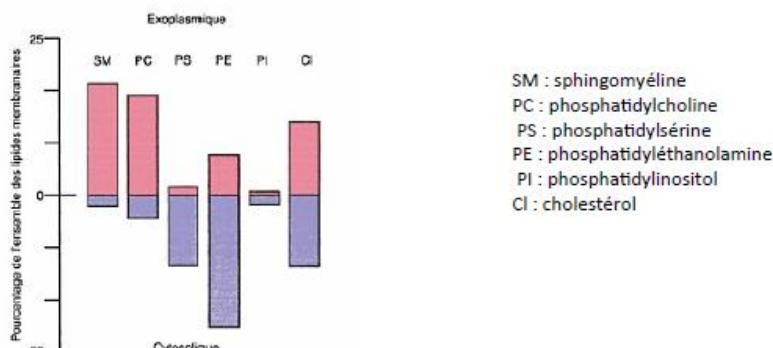
Structure et fonction particulières

Le neurone : une cellule différenciée

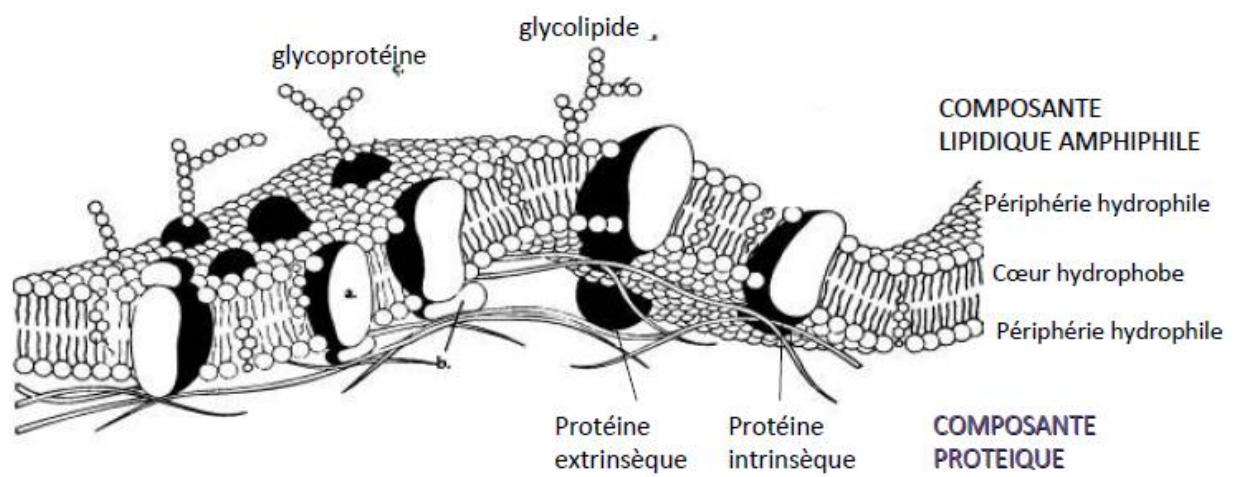


Rappel sup

Membranes : bicouche asymétrique de phospholipides avec protéines encastrées

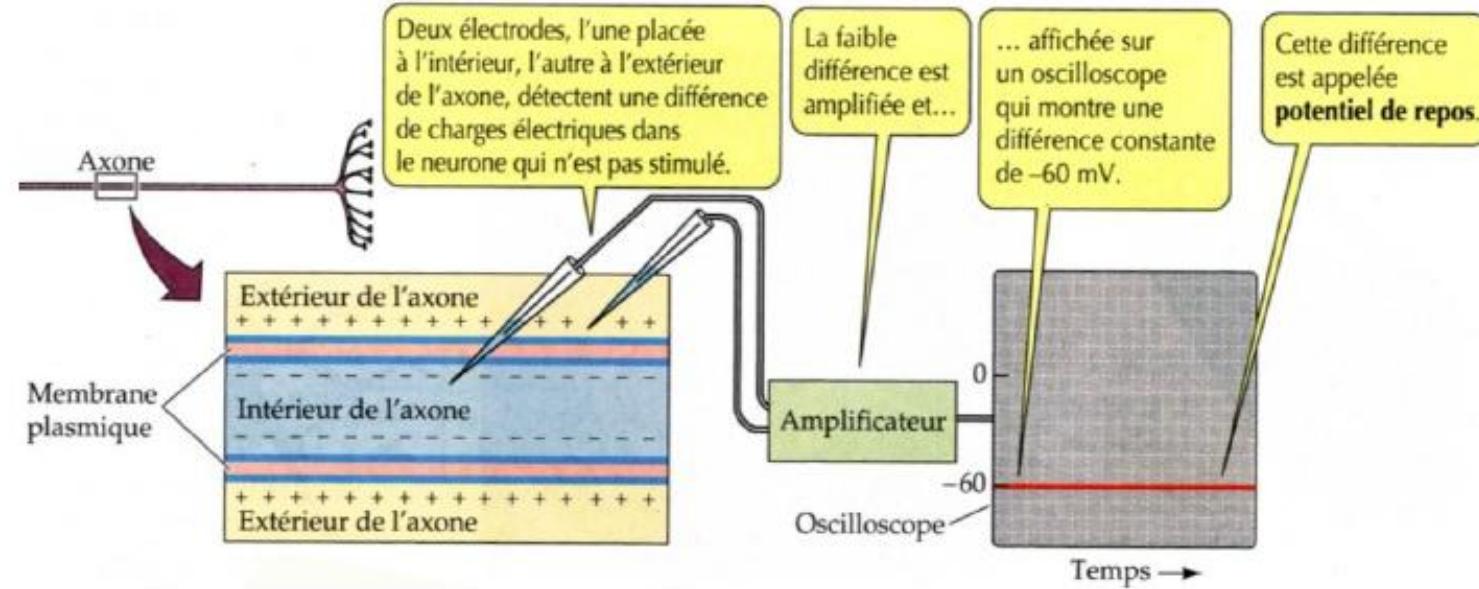


SM : sphingomyéline
PC : phosphatidylcholine
PS : phosphatidylserine
PE : phosphatidylethanolamine
PI : phosphatidylinositol
Cl : cholestérol



Rappel sup

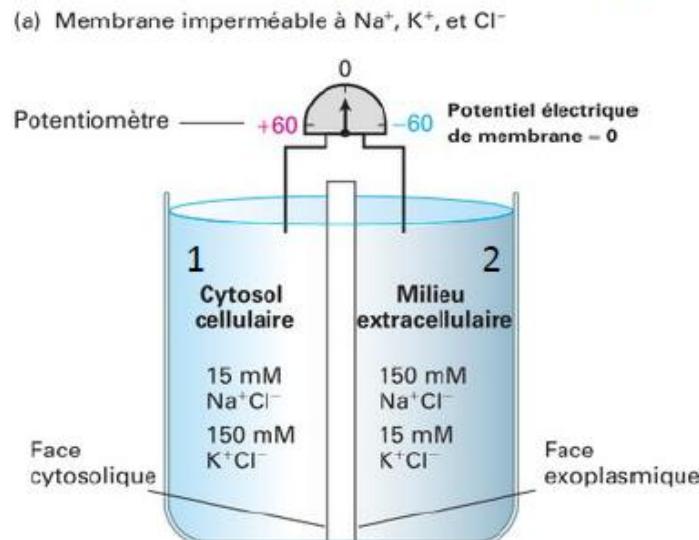
Potentiel de membrane



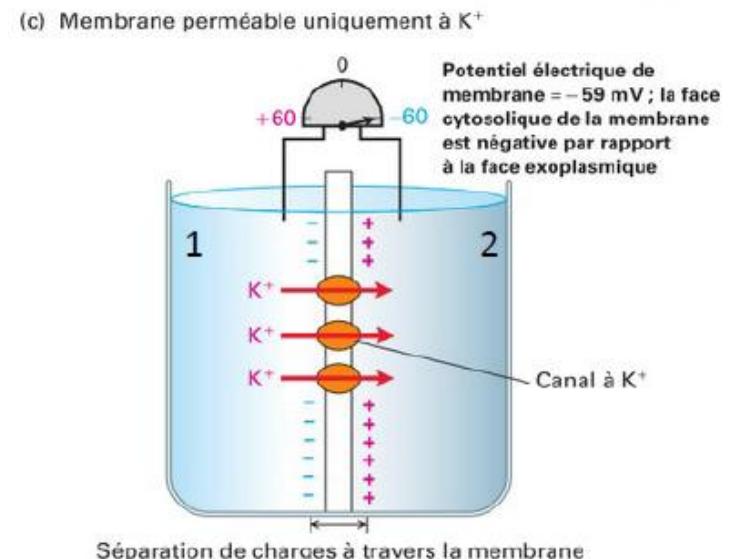
Rappel sup

Potentiel d'équilibre

Composant	Concentration intracellulaire	Concentration extracellulaire
Cations		
Na ⁺	15mM	140mM
K ⁺	140mM	5mM
Anions*		
Cl ⁻	5-15mM	110mM



Une différence de concentration...



... qui crée une ddp transmembranaire de part et d'autre d'une mb semi-perméable

$$E_K = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{C_e}{C_i} \right) \text{ (équation de Nernst)}$$

Rappels échanges ioniques

Potentiel électrochimique

$$\mu = \mu_0 + RT \ln [a] + ZF E.$$

Loi de Nerst : $E = -RT/ZF \ln [K]_{int}/[K]_{ext}$

Potentiel d'équilibre : E_K autour de – 80 mV

E_{Na} autour de + 50 mV

Rappel sup : potentiel de membrane

Un déséquilibre ionique entretenu

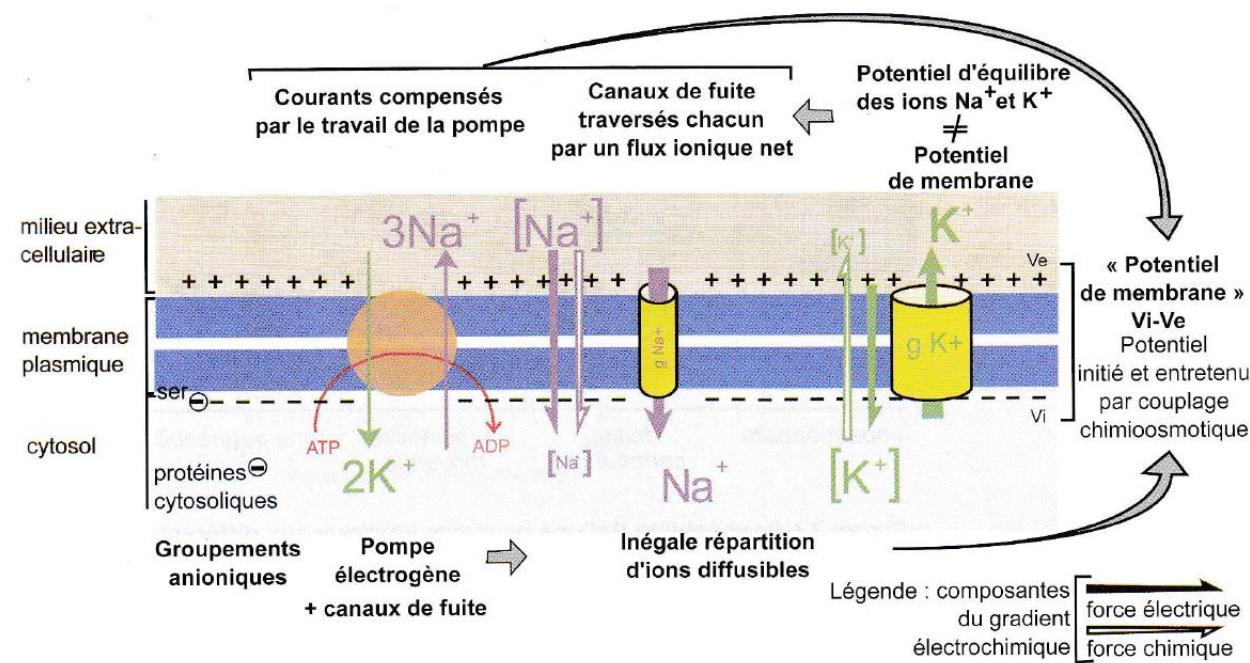


Figure 7.3. Le potentiel de membrane : origine et entretien par couplage chimioosmotique.

Cas d'une cellule eucaryote animale, type entérocyte de mammifère.

Rappel sup

Un potentiel de membrane entretenu :

Transport actif

Retour passif ions :

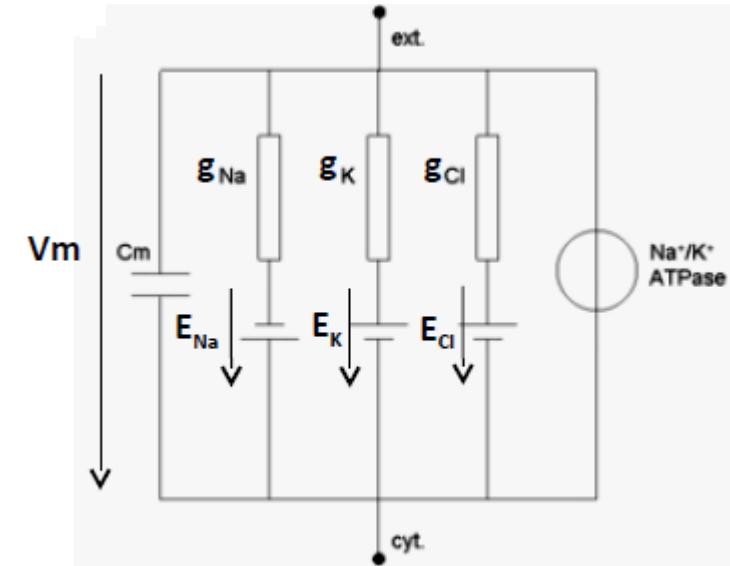
Influx sodium

Efflux potassium

Et d'autres ions

$$\Rightarrow V_m = (\sum g_{ion} E_{ion}) / \sum g_{ion}$$

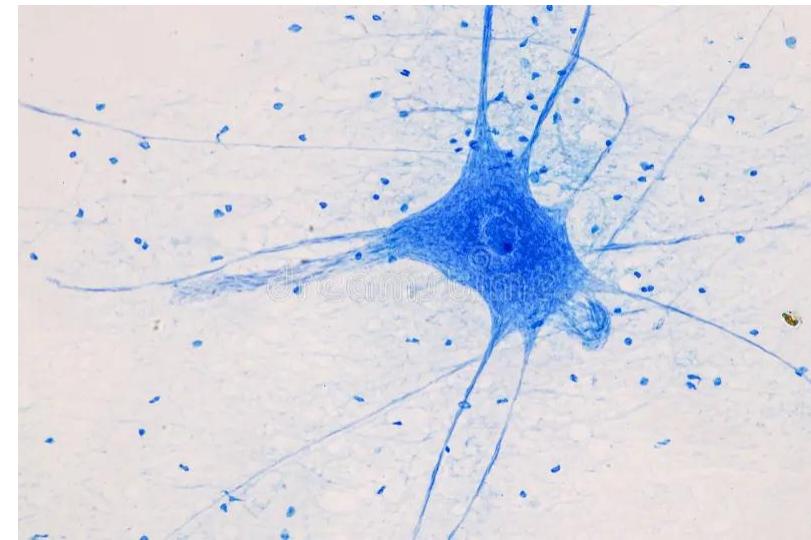
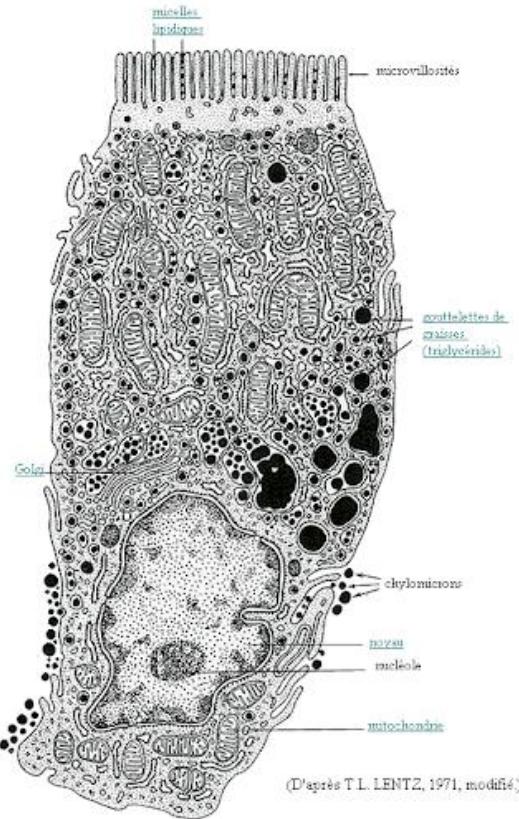
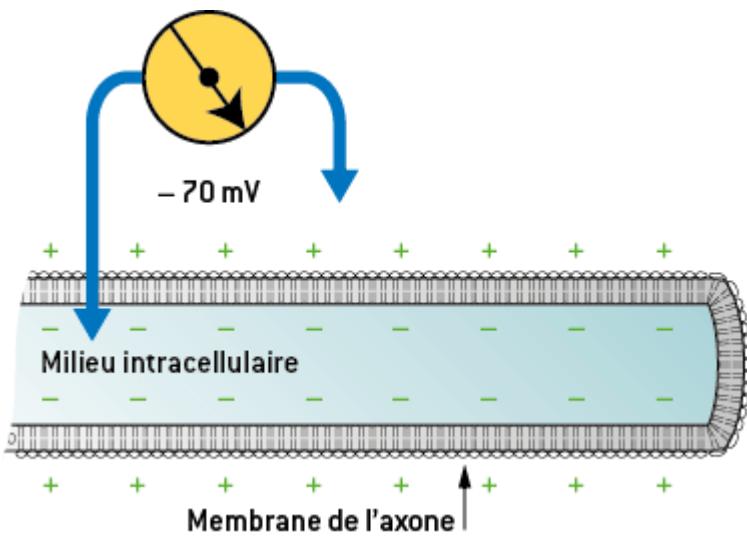
(équation de Goldman)



Modèle électrique de la mb plasmique

Cellule non excitable / cellule excitable

Test de stimulation



Enregistrement

Un modèle : axone géant de Calmar

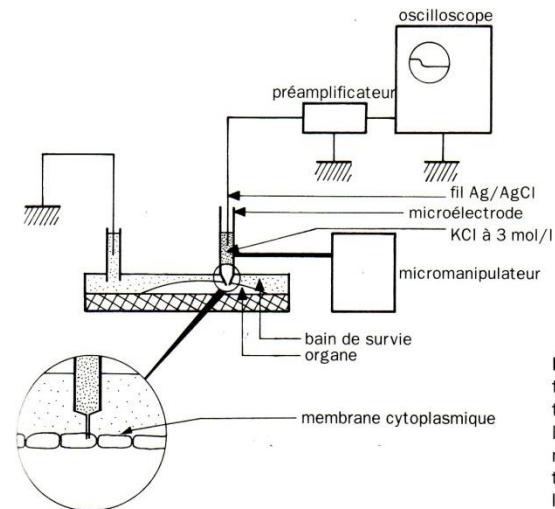
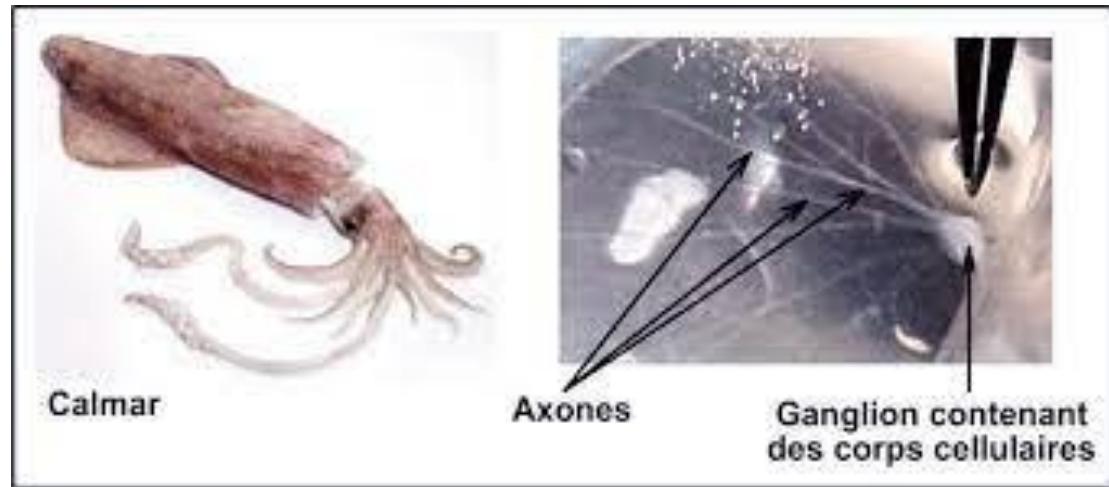


Figure 3.1. Mesure du potentiel transmembranaire : une microélectrode de verre est introduite à l'intérieur d'une cellule grâce à un micromanipulateur. Le potentiel transmembranaire est mesuré sur l'écran de l'oscilloscope.

Potentiel d'action du neurone

Dépolarisation
puis repolarisation

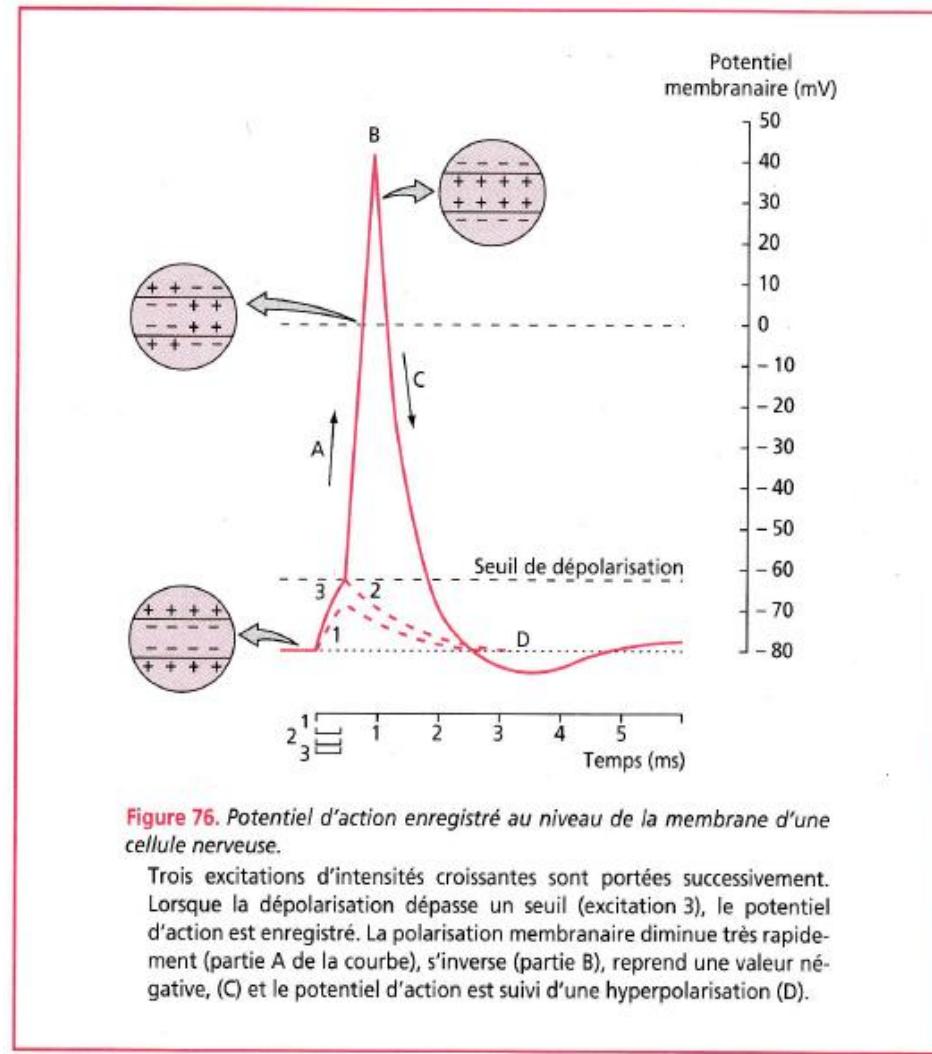


Figure 76. Potentiel d'action enregistré au niveau de la membrane d'une cellule nerveuse.

Trois excitations d'intensités croissantes sont portées successivement. Lorsque la dépolarisation dépasse un seuil (excitation 3), le potentiel d'action est enregistré. La polarisation membranaire diminue très rapidement (partie A de la courbe), s'inverse (partie B), reprend une valeur négative, (C) et le potentiel d'action est suivi d'une hyperpolarisation (D).

Stimulation et enregistrement d'un potentiel d'action

La loi
du tout
ou rien

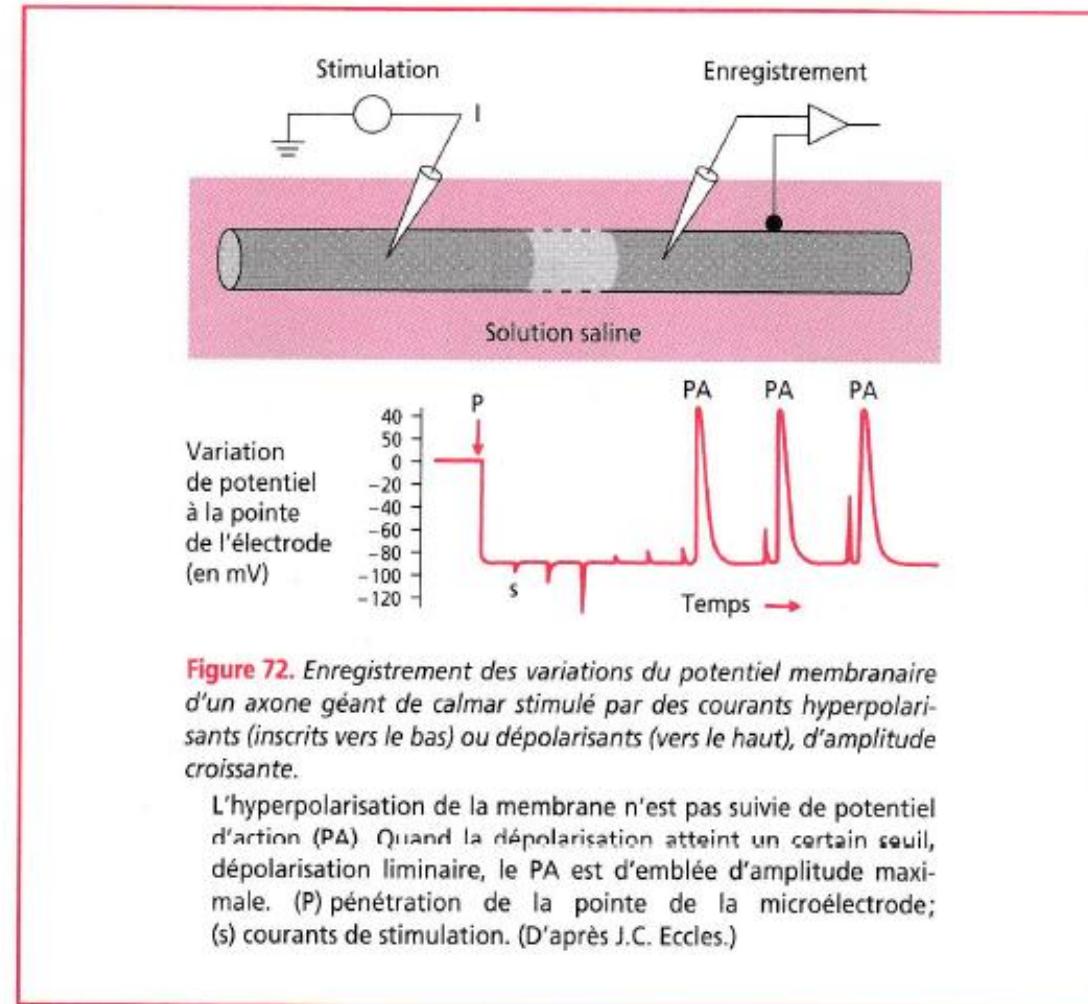


Figure 72. Enregistrement des variations du potentiel membranaire d'un axone géant de calmar stimulé par des courants hyperpolarisants (inscrits vers le bas) ou dépolarisants (vers le haut), d'amplitude croissante.

L'hyperpolarisation de la membrane n'est pas suivie de potentiel d'action (PA). Quand la dépolarisation atteint un certain seuil, dépolarisation liminaire, le PA est d'emblée d'amplitude maximale. (P) pénétration de la pointe de la microélectrode; (s) courants de stimulation. (D'après J.C. Eccles.)

Etude par voltage clamp puis patch clamp

Voltage clamp

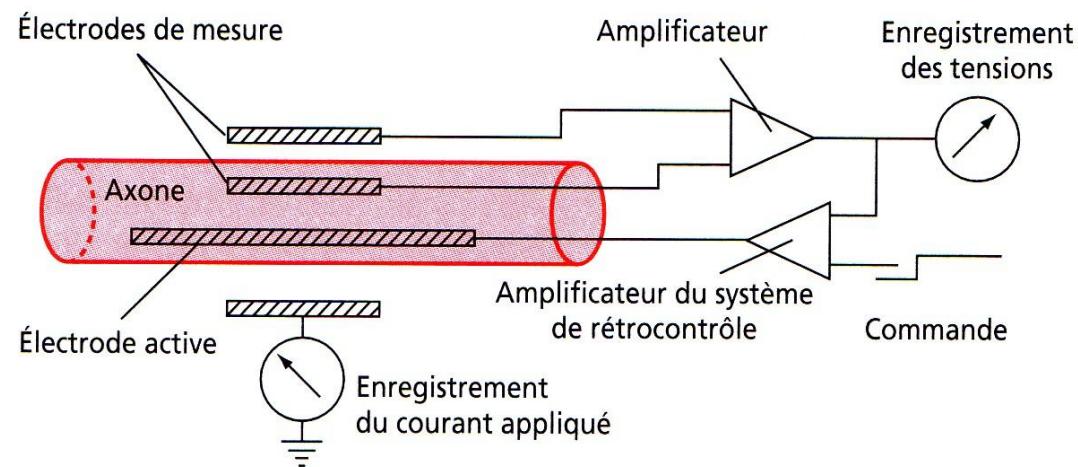
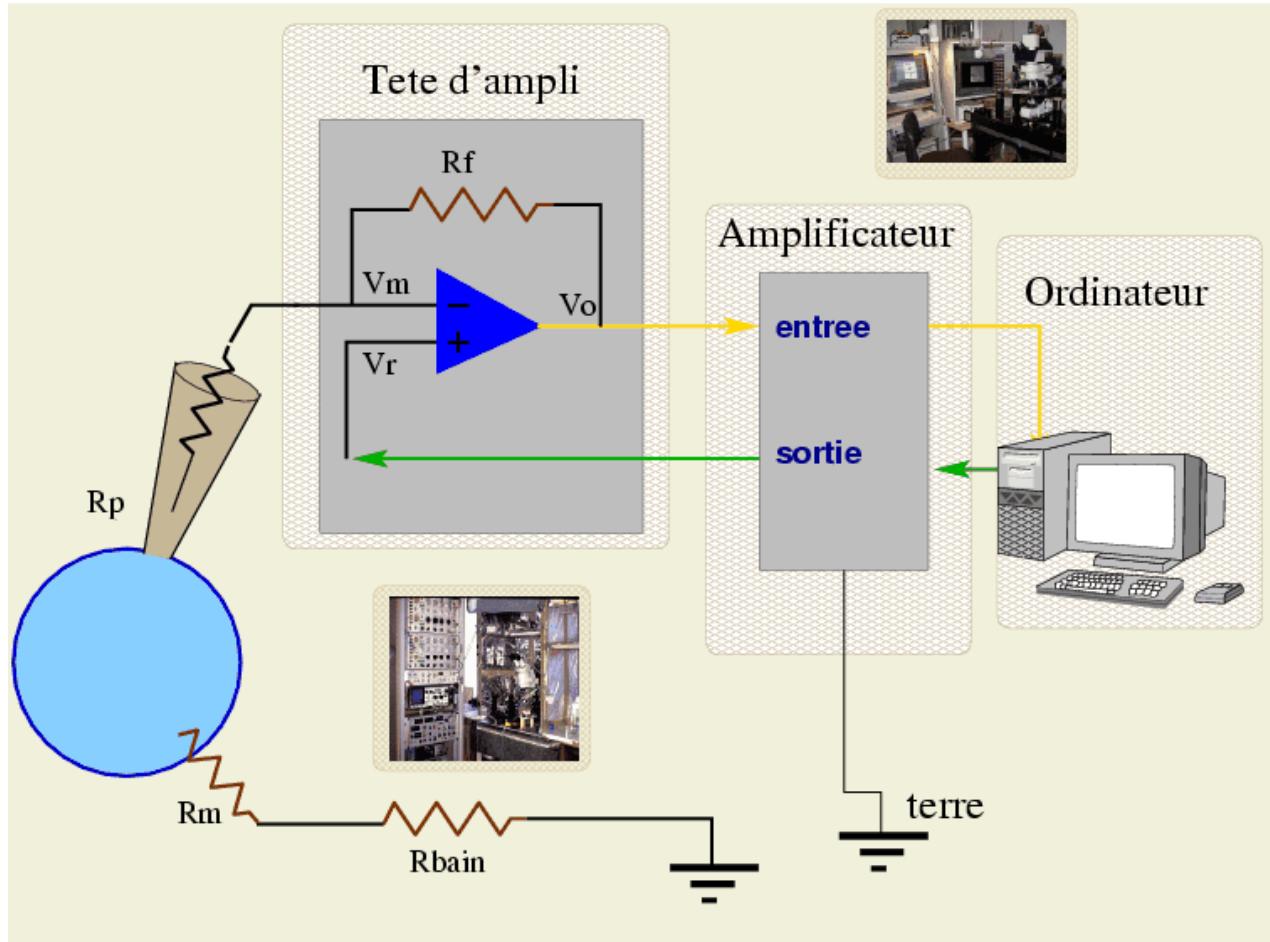
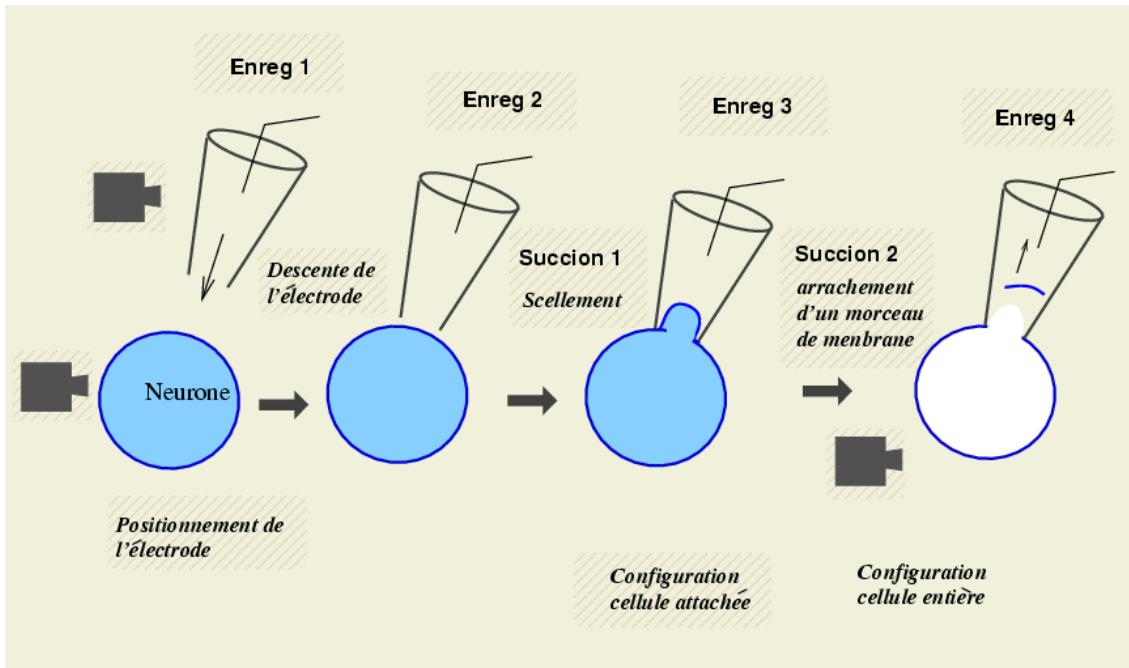


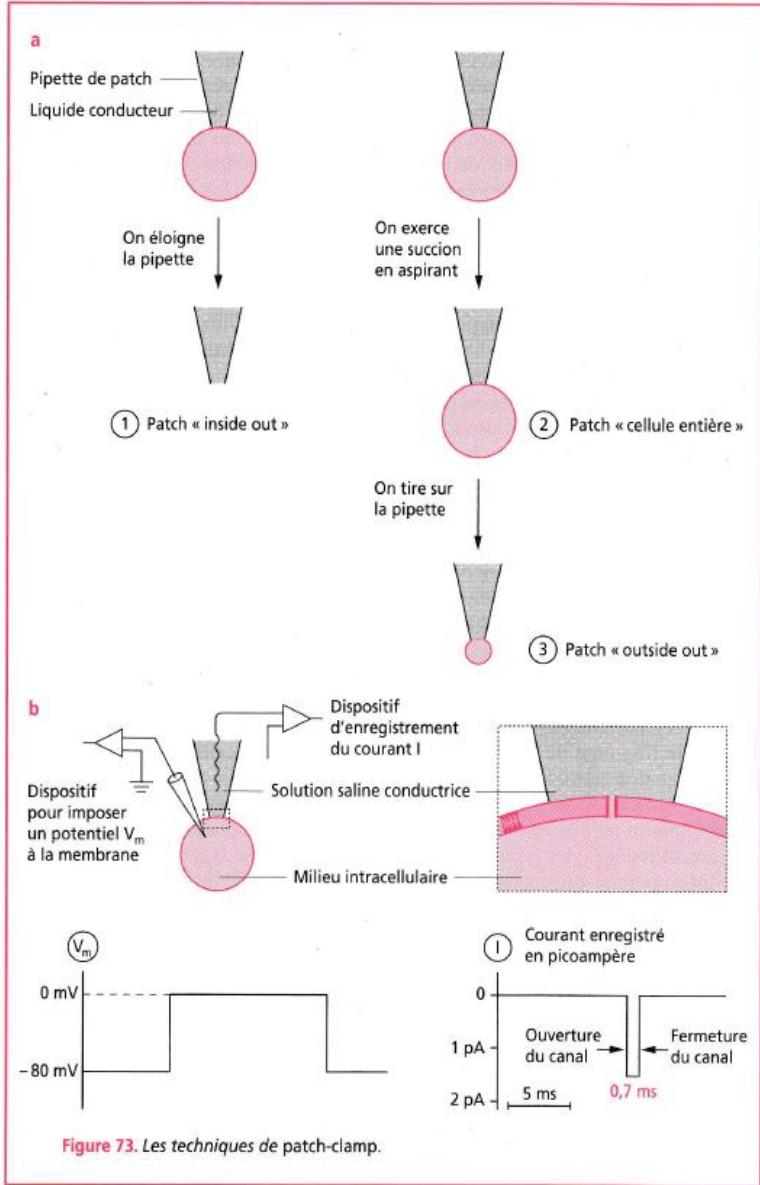
Figure 78. Technique de la tension imposée.

Patch clamp

Micropipette

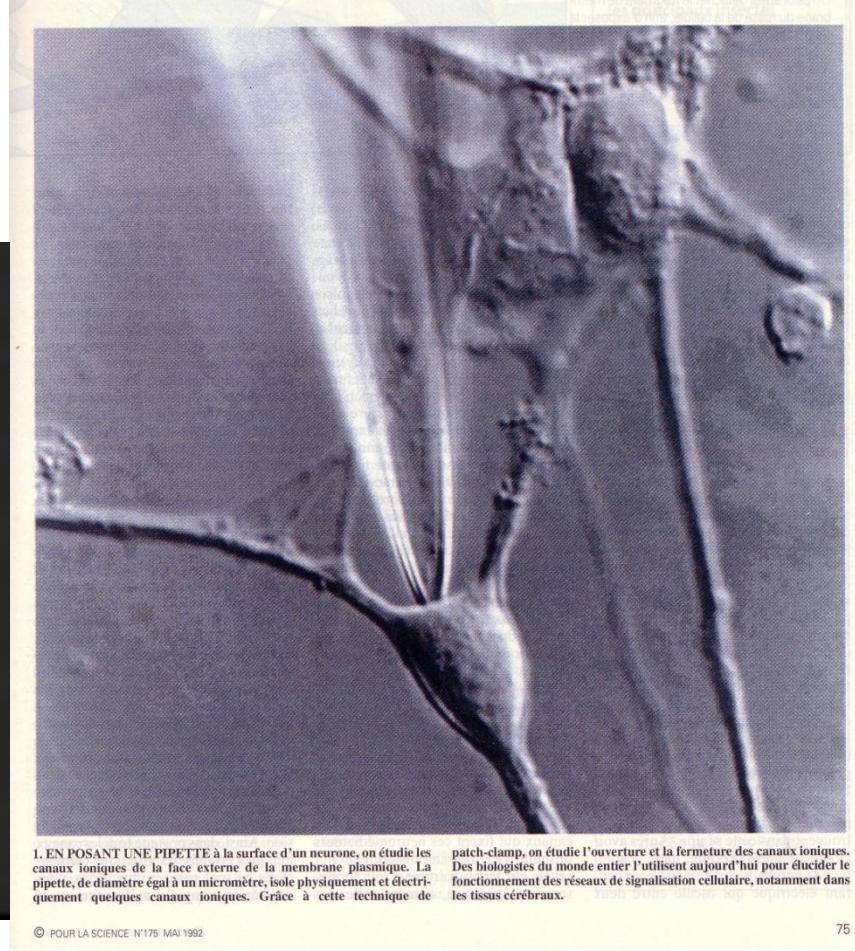
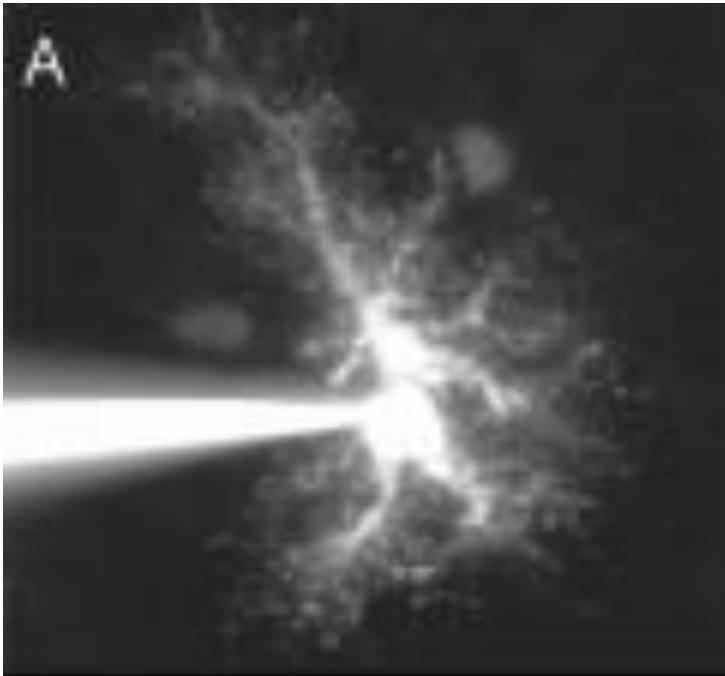


Principe



Patch clamp

Micropipette

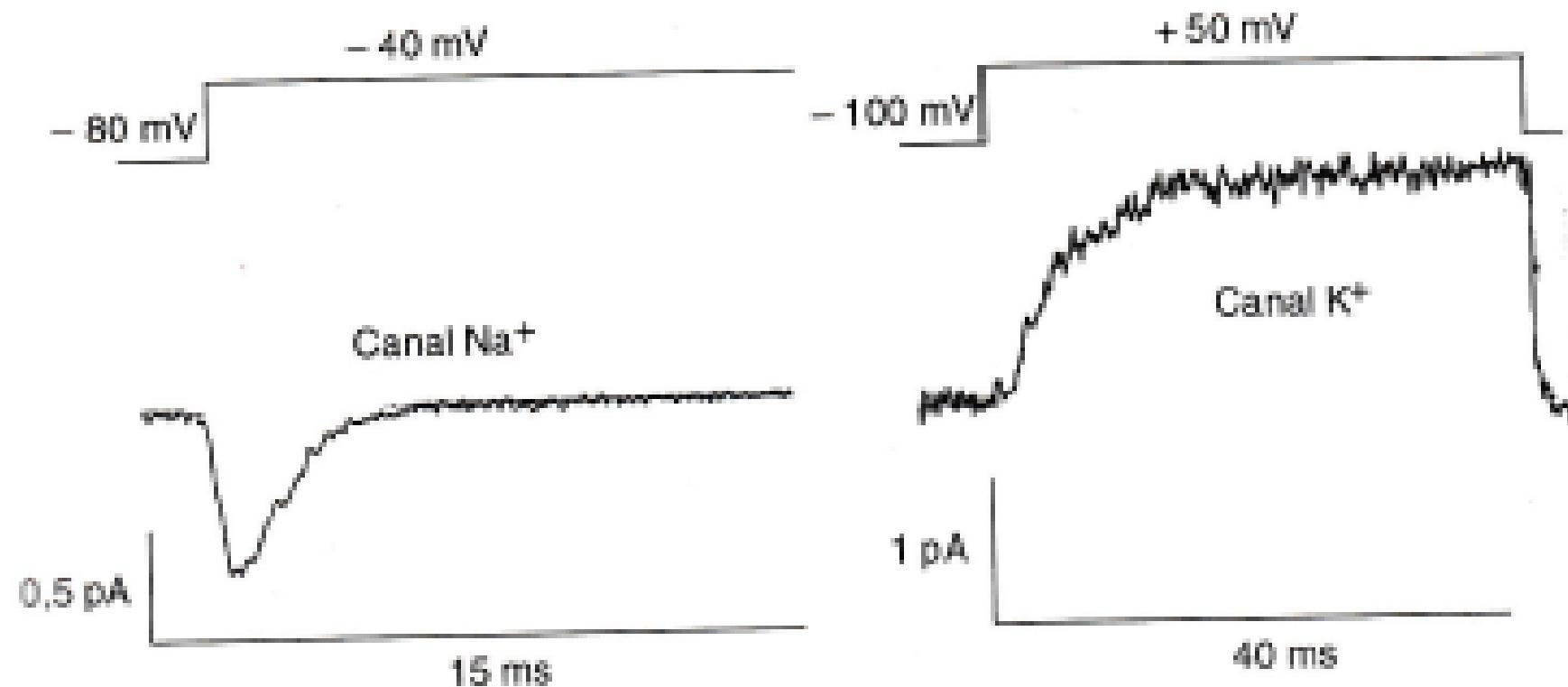


1. EN POSANT UNE PIPETTE à la surface d'un neurone, on étudie les canaux ioniques de la face externe de la membrane plasmique. La pipette, de diamètre égal à un micromètre, isole physiquement et électriquement quelques canaux ioniques. Grâce à cette technique de

patch-clamp, on étudie l'ouverture et la fermeture des canaux ioniques. Des biologistes du monde entier l'utilisent aujourd'hui pour élucider le fonctionnement des réseaux de signalisation cellulaire, notamment dans les tissus cérébraux.

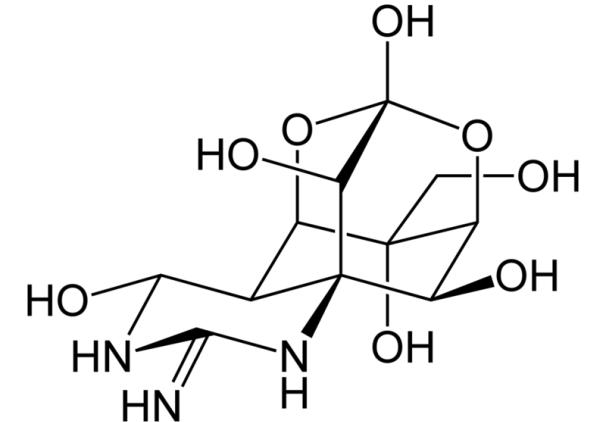
Patch-Clamp Canal isolé

Deux canaux différents : canal pour le sodium et pour le potassium



Utilisation de bloquant des canaux Vd sodium ou potassium

Poisson Tétraodon : tétrodotoxine = TTX : bloque les canaux Vd sodium

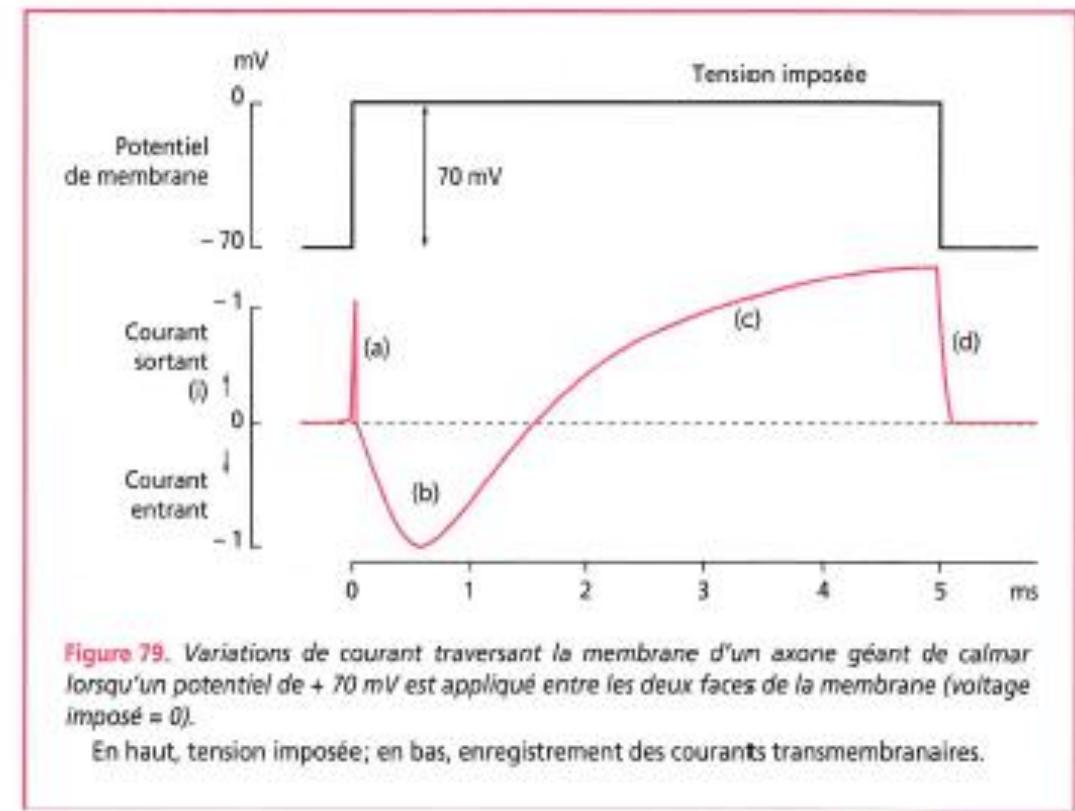


Ion tétra-éthyl-ammonium = TEA : bloque les canaux Vd potassium

Voltage clamp sur axone de Calmar

Enregistrement

- a : décharge capacité membrane
- b : courant entrant
- c: courant sortant



Expérience sur axone de Calmar

Si utilisation de bloquant :

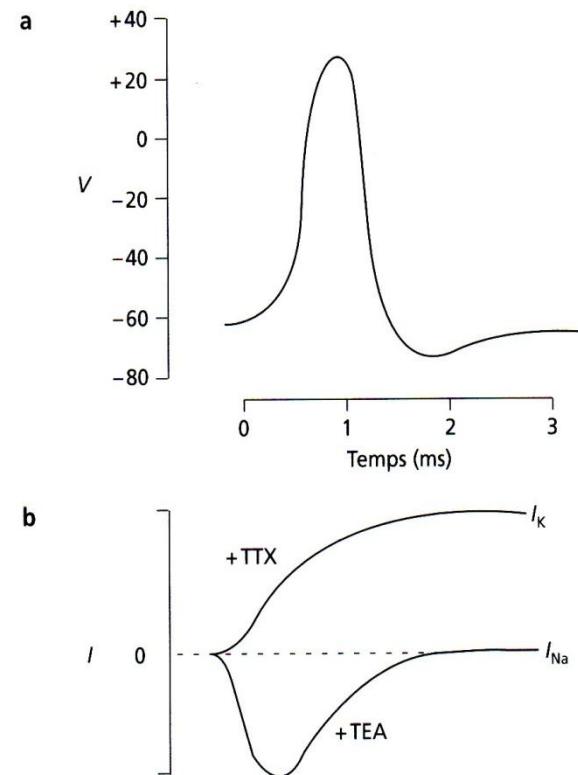
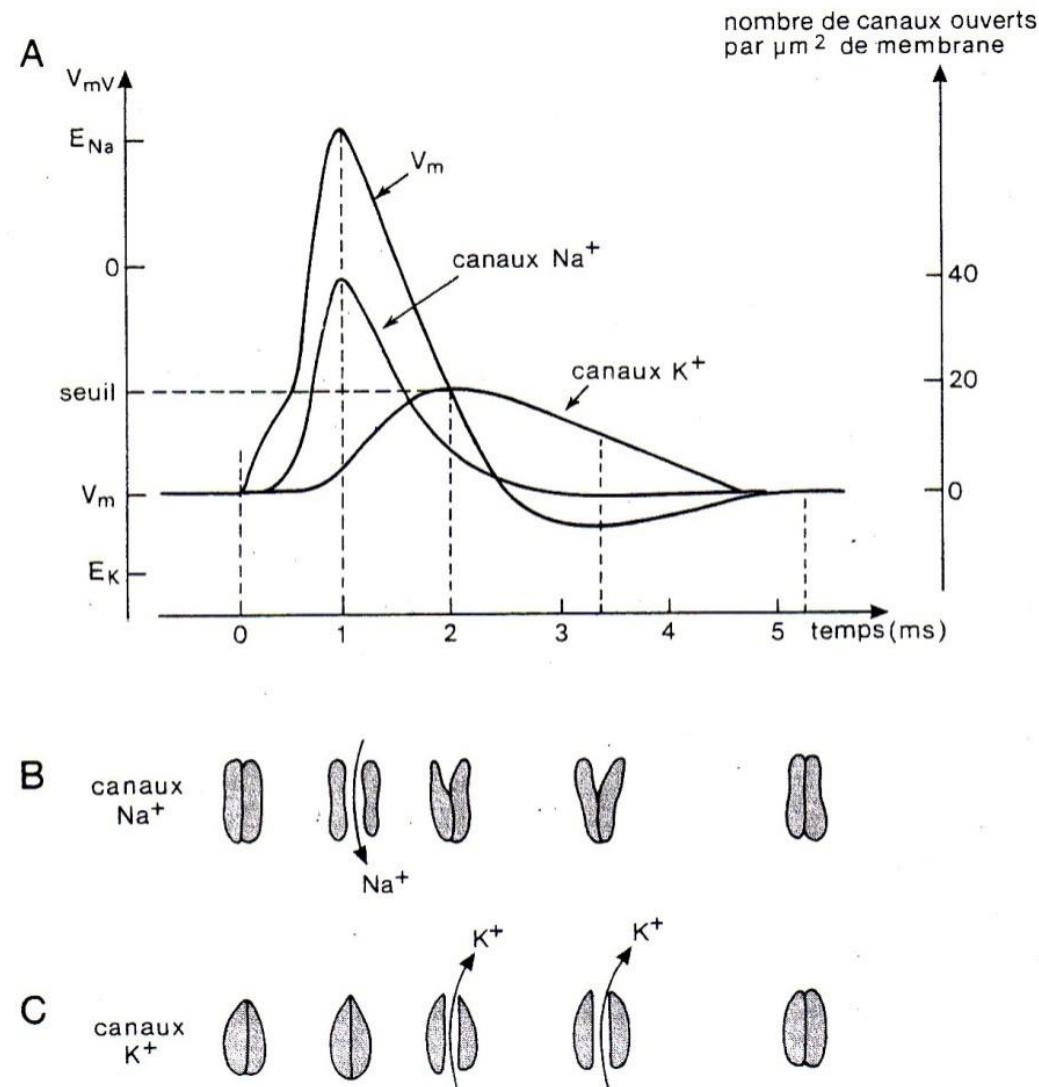


Figure 4.1

(a) Potentiel d'action. (b) Manipulation en voltage-clamp démontrant l'existence de deux composantes à l'aide de TTX et TEA.

Figure 14

Ouverture
des canaux voltage
dépendant sodium : flux
entrant sodium
→ dépolarisation
Puis voltage dépendant
potassium : flux sortant
Potassium → repolarisation



Autre Expérience Absence de Na^+

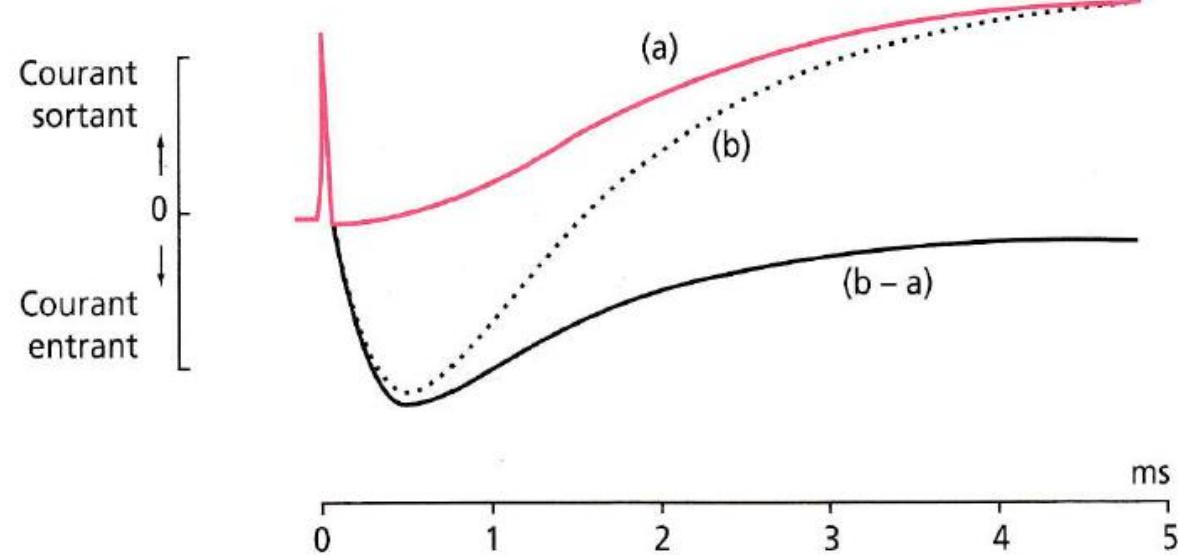


Figure 80. Mesures réalisées lorsque l'axone géant est placé dans un milieu dans lequel le Na^+ a été remplacé par de la choline pour une tension imposée de 0 mV : il ne peut y avoir de courant de Na^+ dans ces conditions.

Courbe pointillée : obtenue en conditions normales. Courbe du haut : en absence de flux de Na^+ . En bas : courbe calculée à partir des deux courbes précédentes ; elle représente la variation de courant associée au flux de Na^+ (composante Na^+).

Conductances ioniques lors d'un potentiel d'action

Conductance au sodium
puis au potassium

Conductance :

$$g = 1/R$$

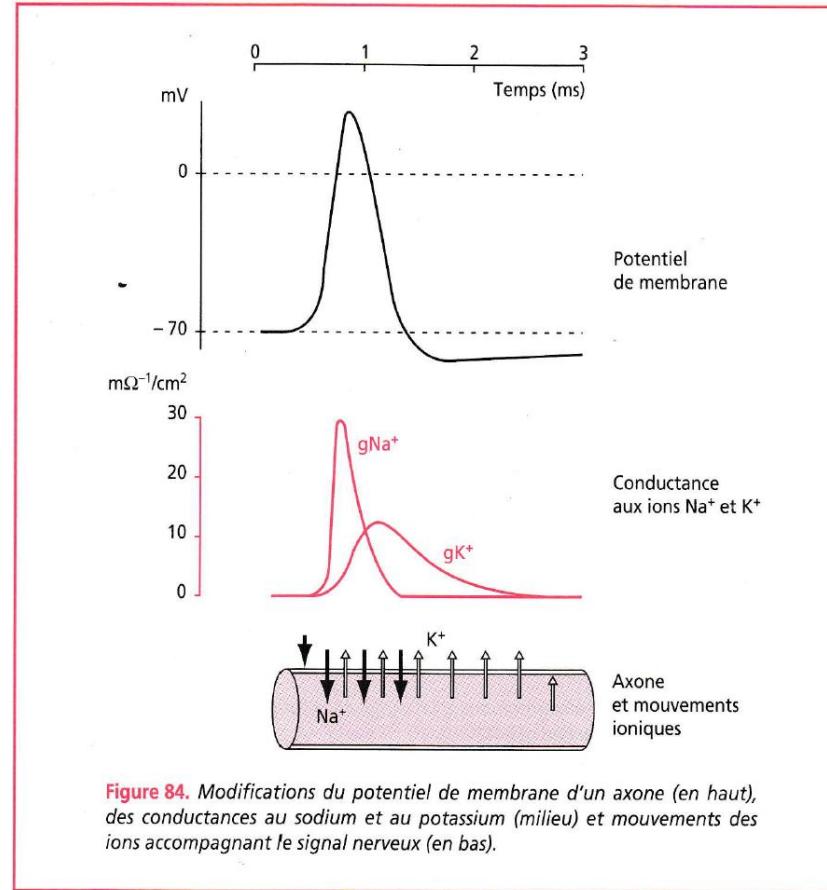
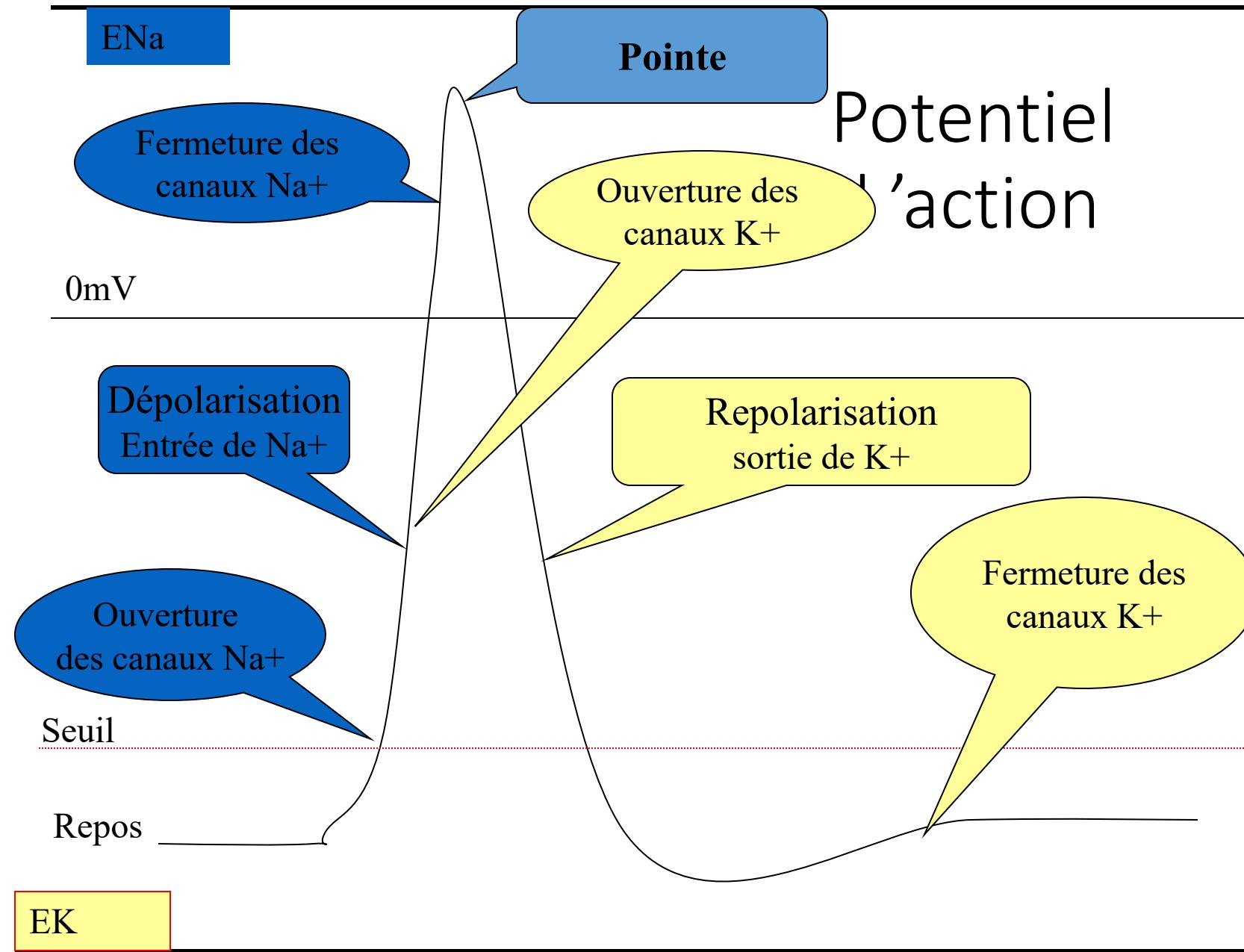


Figure 84. Modifications du potentiel de membrane d'un axone (en haut), des conductances au sodium et au potassium (milieu) et mouvements des ions accompagnant le signal nerveux (en bas).

Potentiel d'action



Etude biochimique des canaux voltage dépendant sodium

Profil hydropathie Complément 2

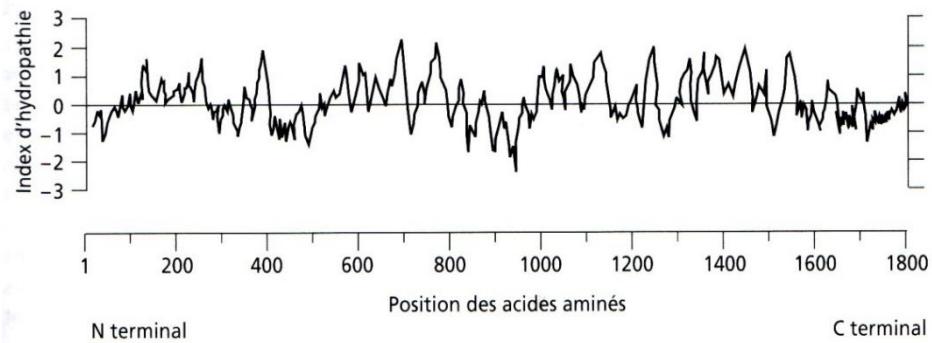


Figure 4.3 Profil hydropathique du canal sodique chez *Torpedo*.

(D'après Noda et al. (1984), Primary structure of *Electrophorus electricus*, *Nature*, 312, pp. 121-127. © 1984, Macmillan Magazines Limited.)

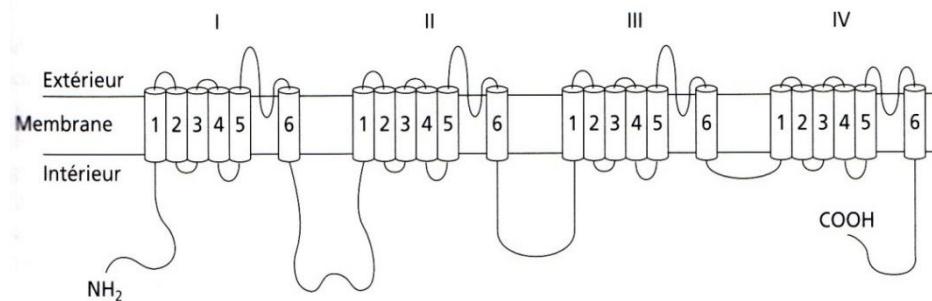
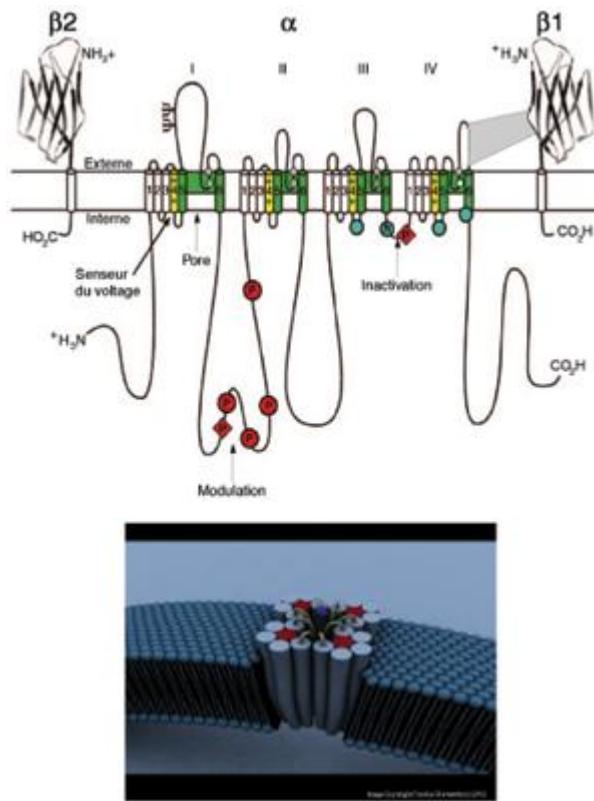


Figure 4.4 Modèle du canal sodique.

Bilan : un modèle

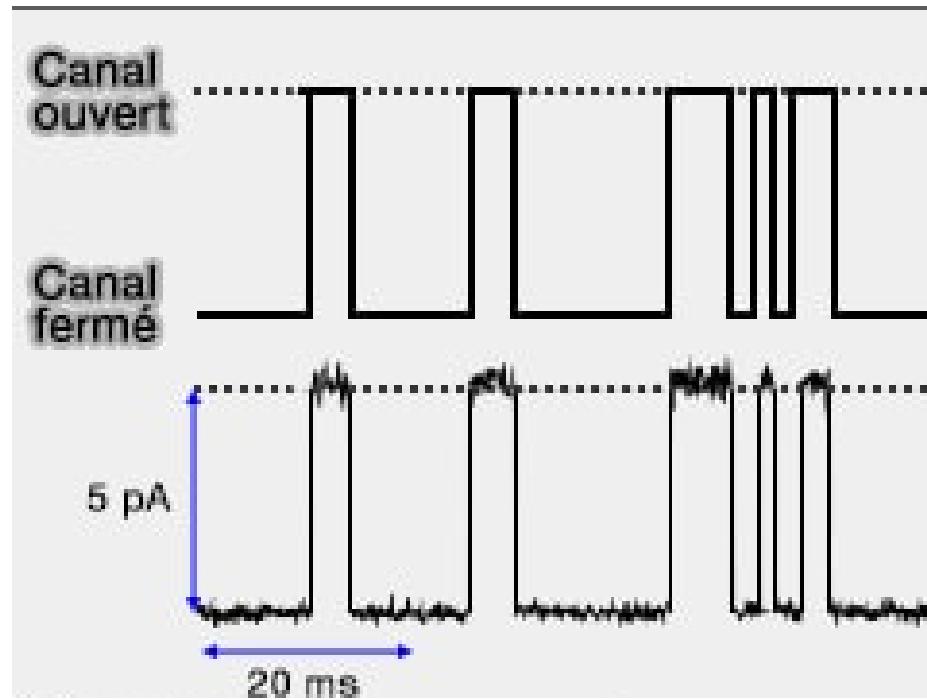
Structure du canal sodium voltage dépendant

Vue dans la membrane
Complément 3

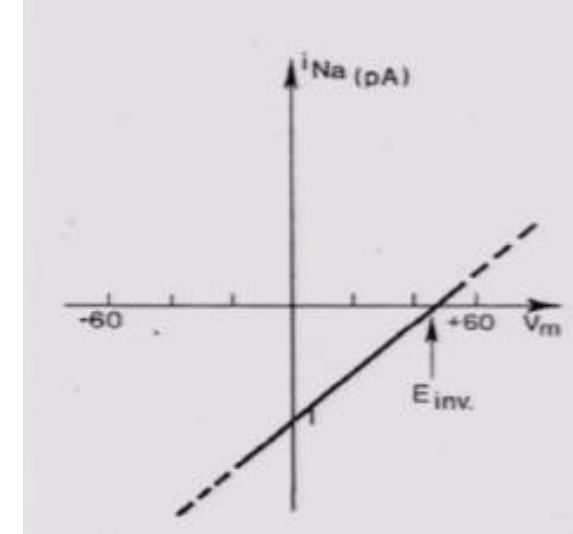


Electrophysiologie par patch clamp complément 3

Ouvert ou fermé



Potentiel d'inversion : flux ionique net = 0



3 états : figure 15

Fermé / Ouvert / Fermé inactivé

Importance des AA chargés positivement
(arginine et lysine)

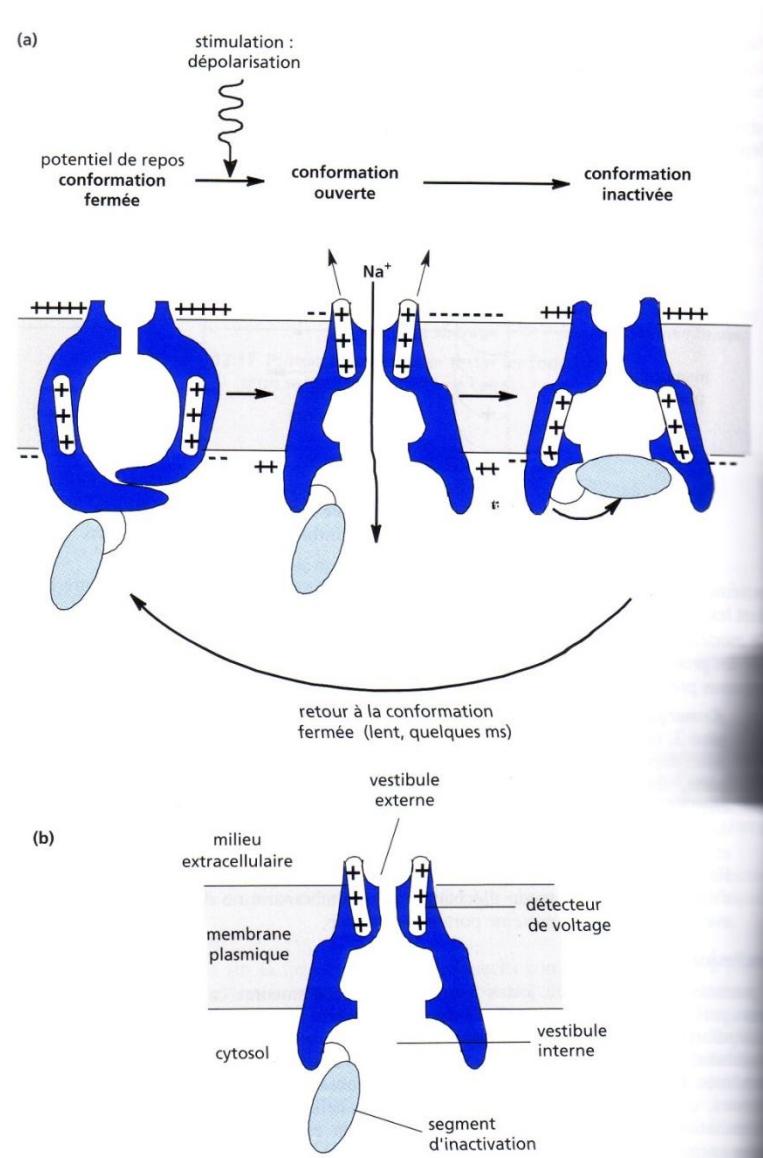
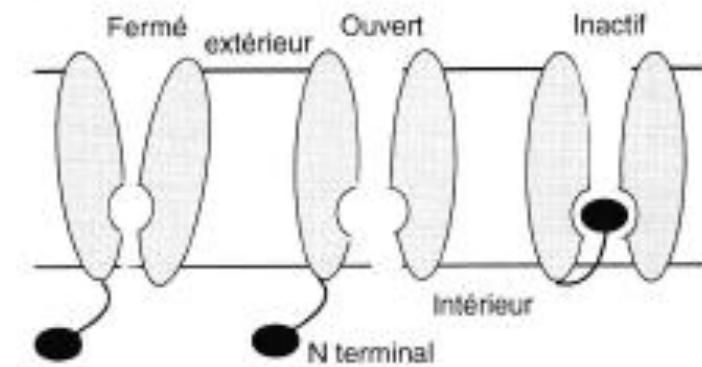
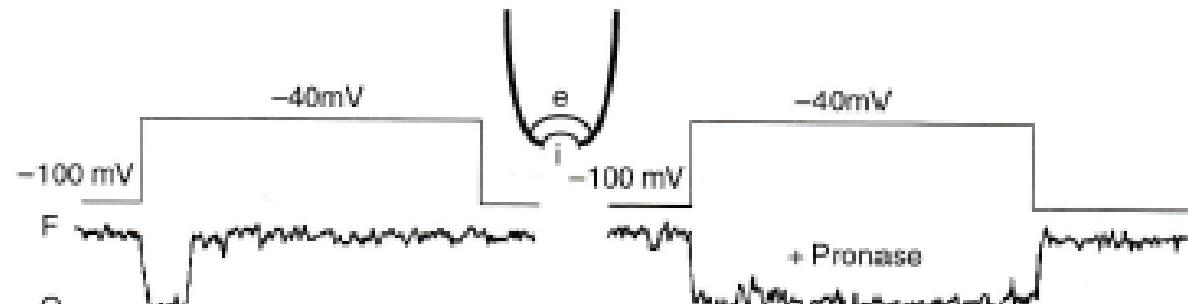


Figure 12.20 Modèle de fonctionnement d'un canal à Na^+ voltage dépendant.
(a) succession des trois états du canal (fermé, ouvert et inactivé); (b) les diverses parties du canal.

Mise en évidence de l'importance de la partie protéique cytoplasmique dans l'inactivation du canal

Utilisation de protéase (Pronase)

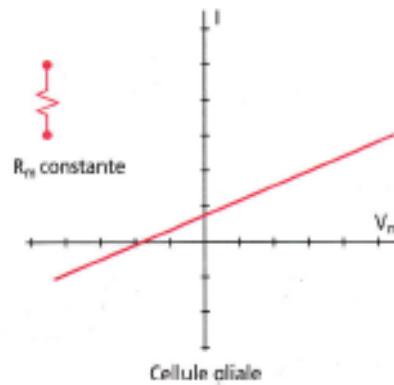


Remarque : modélisation électrique

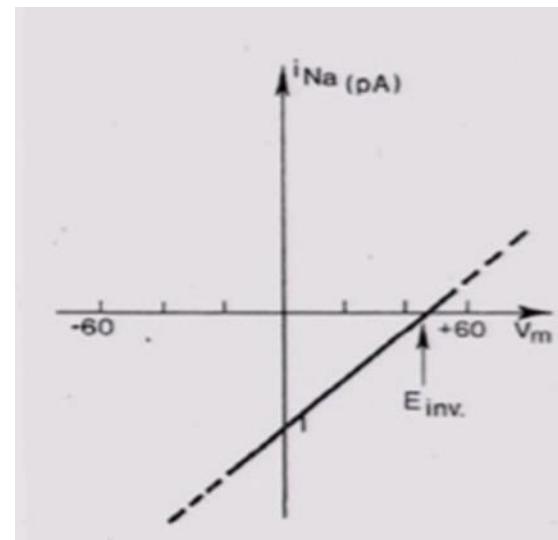
Loi d'Ohm : $U = R I$

La conductance est l'inverse de la résistance $G = 1/R$

Cellule non excitable (ou canal isolé) : conductance membranaire constante



Cellule non excitable



Cellule excitable : résistance variable

Car ouverture ou fermeture de canaux voltage dépendant

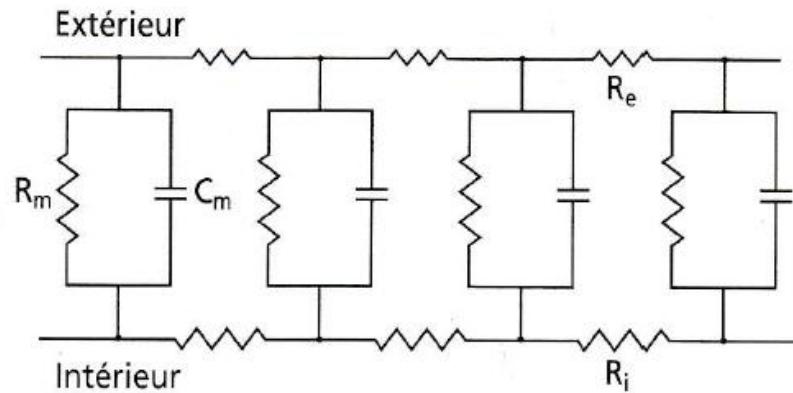
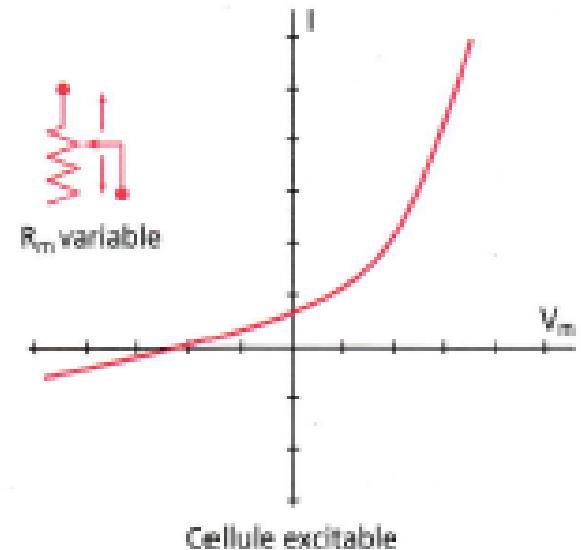


Figure 75. Modèle électrique équivalent à la membrane d'un axone non myélinisé.

La résistance spécifique du cytoplasme (R_i) est de $200 \Omega \text{cm}^{-2}$. La résistivité membranaire (R_m) est d'environ $200 \Omega \text{cm}^{-2}$. La capacité membranaire (C_m) est de $1 \mu\text{F.cm}^{-2}$. La résistance extérieure, R_e est très faible dans les solutions salines (très conductrices) et souvent négligée.

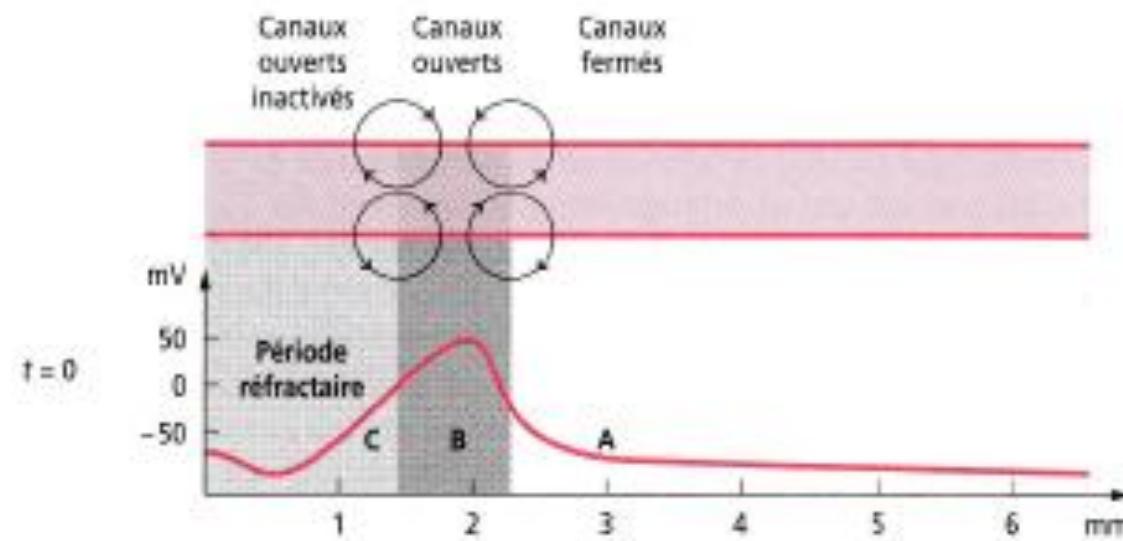


b. Transmission des potentiels d'action

Au niveau des canaux ouverts : dépolarisation

En arrière : canaux inactivés

En avant : canaux fermés



A l'endroit du potentiel d'action : inversion des charges

Notion de courants locaux : figure 16

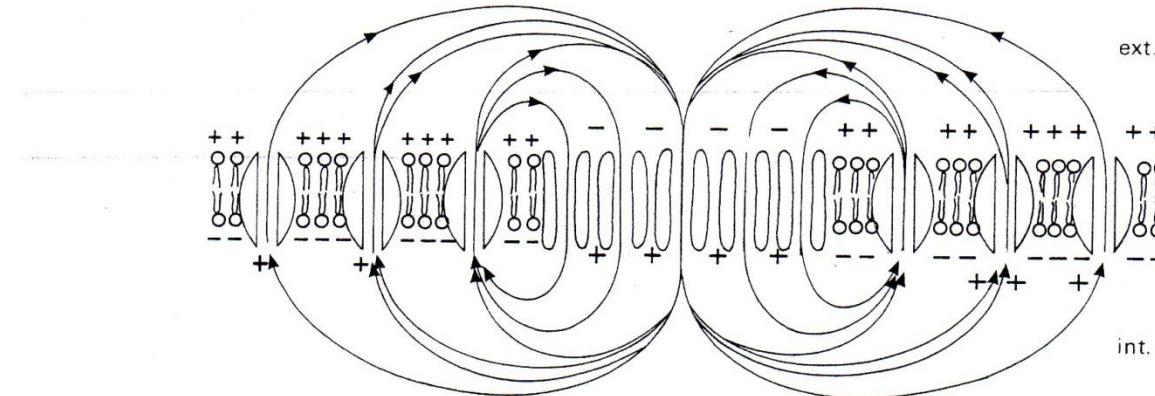
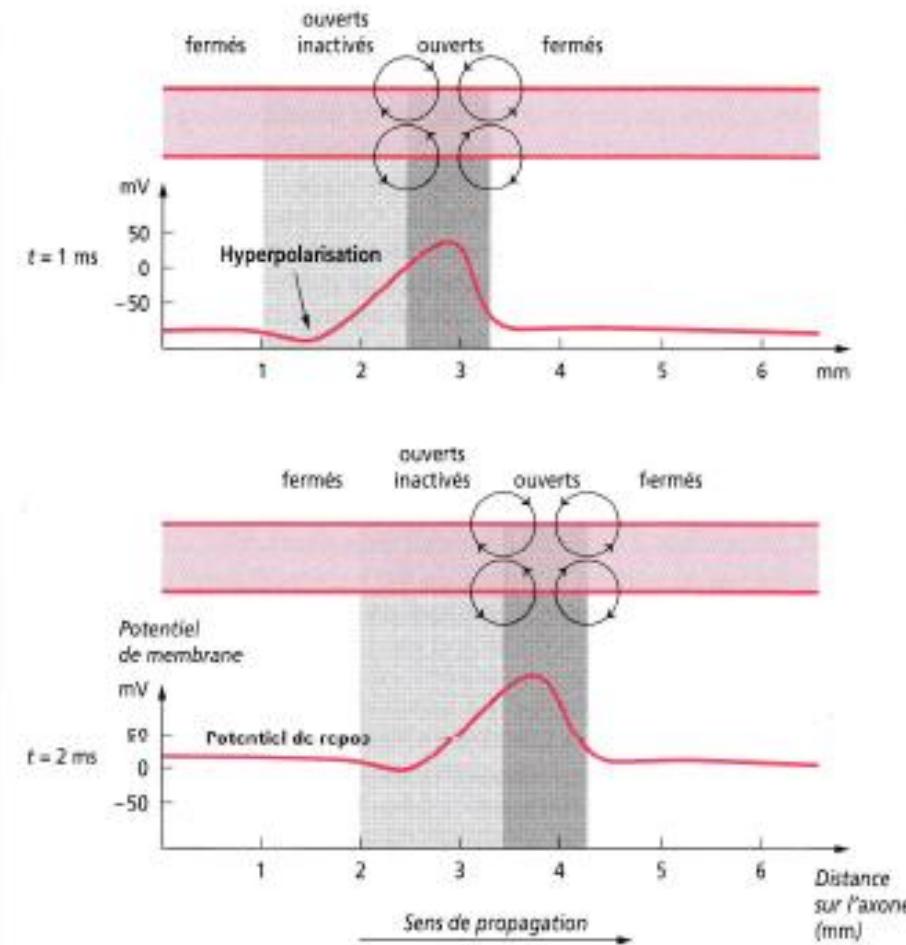


Figure 10-18 Courants locaux. Lors du potentiel d'action, l'intérieur de la fibre est devenu localement positif. Ce courant entrant au site actif de la membrane (endroit de la membrane où la densité des canaux Na^+ est forte) est porté par les ions Na^+ . Les charges positives (ce sont essentiellement les ions K^+ , majoritaires dans le cytoplasme) vont se déplacer à l'intérieur de l'axone vers des endroits qui peuvent être non excitables, c'est-à-dire ne contenant pas ou peu de canaux Na^+ sensibles au voltage, mais contenant d'autres canaux ouverts, essentiellement des canaux K^+ . Dans ces régions, la membrane est alors traversée par un courant sortant qui se reboucle au point d'émission du potentiel d'action. C'est ce que l'on appelle les « courants locaux ».

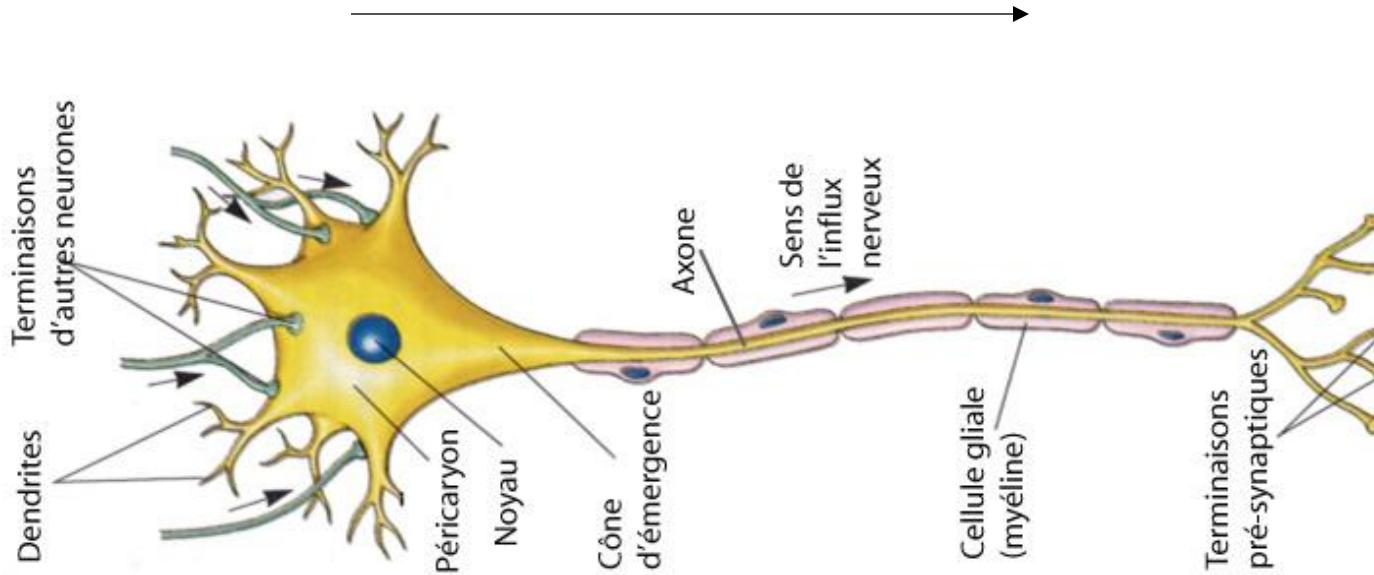
Activation possible si canal VdNa au repos

Donc pas possible
en arrière car inactivé



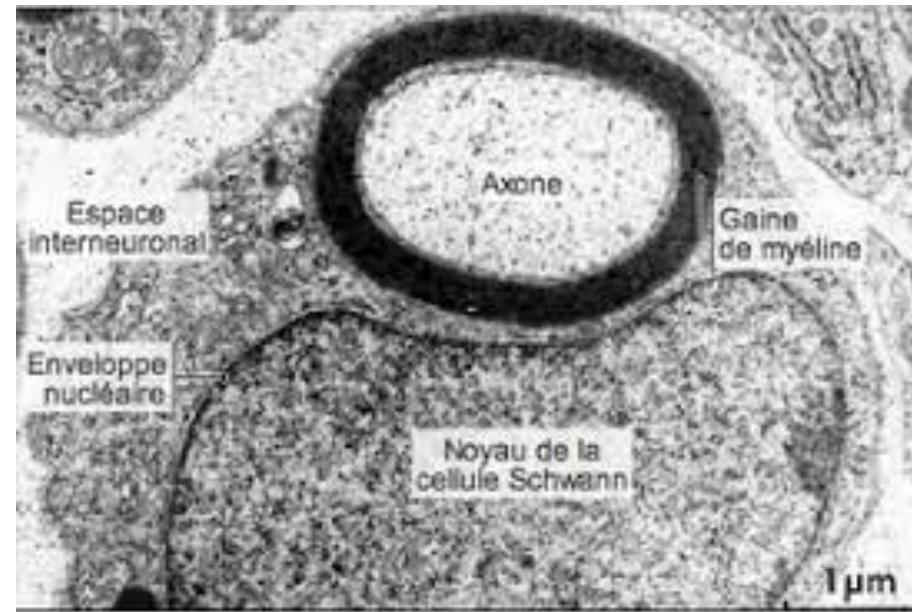
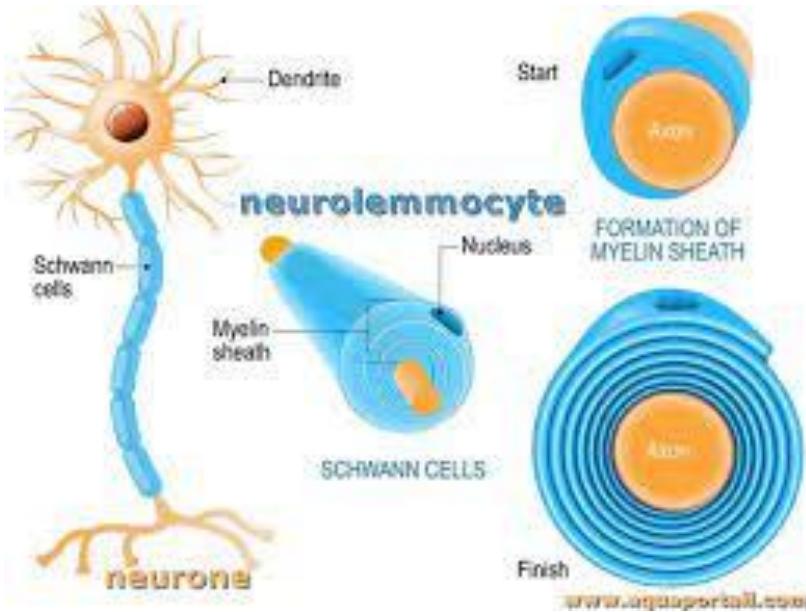
Bilan : régénération unidirectionnelle

Bilan : propagation régénérative et unidirectionnelle



Cellule de Schwann : une catégorie de cellules gliales, dont les membranes s'entourent autour des axones.

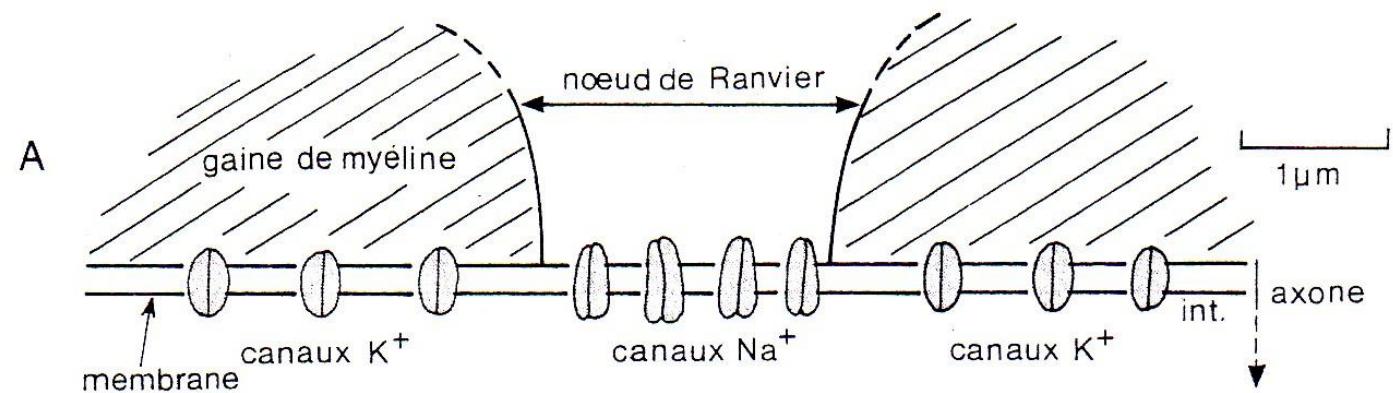
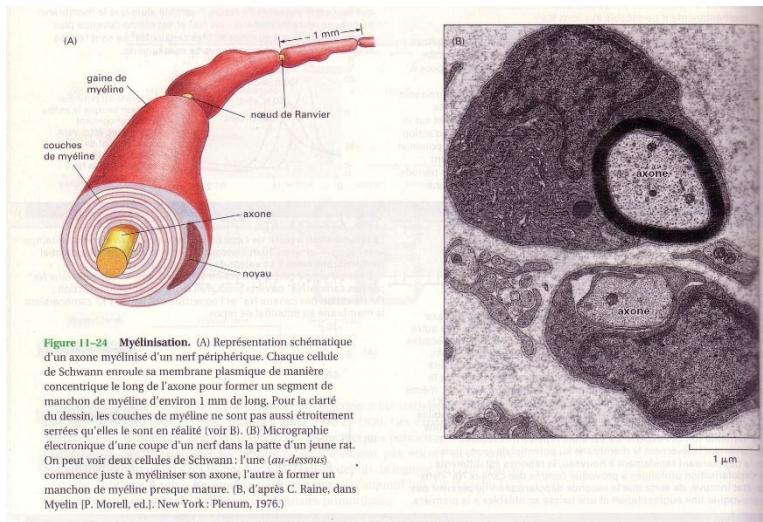
Gaine de myéline : membrane beaucoup plus riche en lipides (jusqu'à 80 % contre 40 % pour une membrane classique)



Localisation des canaux voltage dépendant le long des axones myélinisés.

Canaux Sodium Vd uniquement au niveau des nœuds de Ranvier :

Complément 4



Bilan : conduction saltatoire

Conduction saltatoire

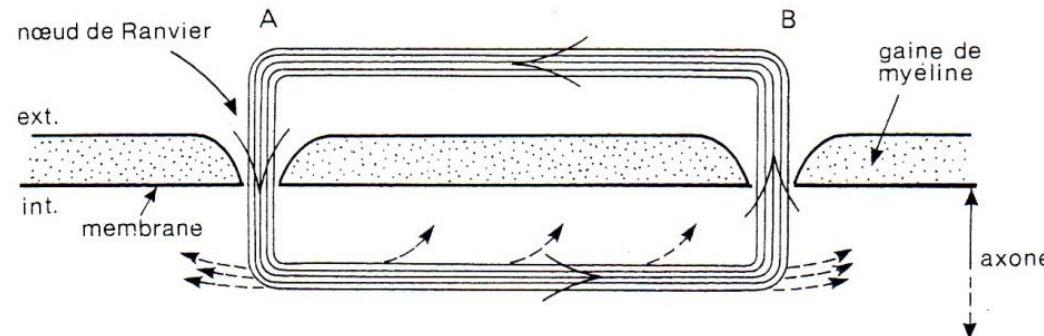


Figure 10-20 Dans les axones myélinisés, la conduction est dite saltatoire.

La densité du courant ionique est plus grande au niveau des noeuds de Ranvier qu'aux internodes. La densité de courant (courant membranaire par unité de surface) est représentée par les lignes de courant. A cause de la faible conductance de la myéline, le potentiel d'action saute rapidement d'un noeud à un autre. La conduction est dite saltatoire. En A, le courant entre par les canaux Na⁺. En B, il sort par les canaux ouverts au potentiel de repos. Cependant, le courant de charges positives entrées en A dépolarise aussi la membrane en B, ce qui entraîne donc une ouverture des canaux Na⁺ à ce niveau, d'où l'émission d'un potentiel d'action.

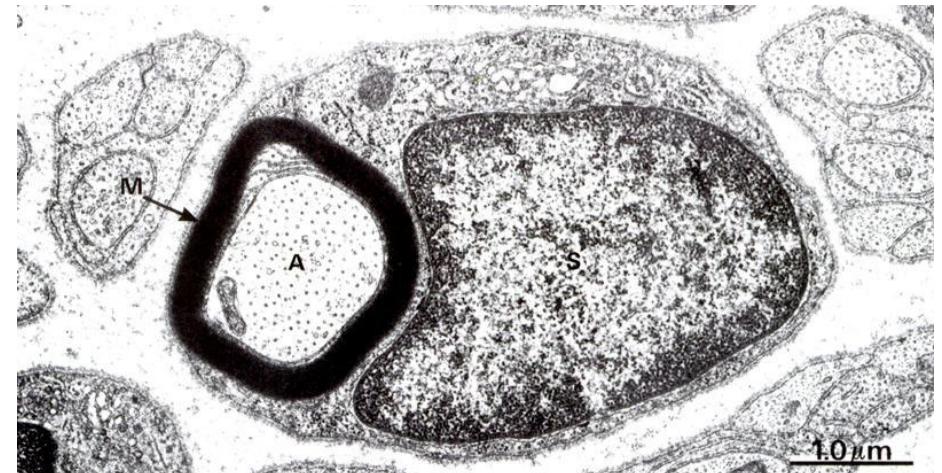
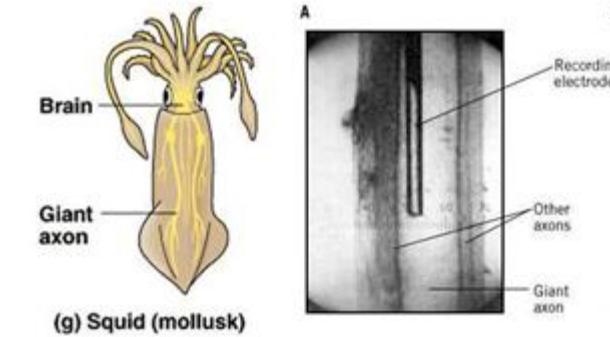
Conséquence : des vitesses de conduction différentes

Axones non myélinisés : 1 à 2 m.s⁻¹
(diamètre < 1,5 µm)

Axones géants de Calmar : 25 m.s⁻¹
(diamètre : 0,5 mm)

Axones myélinisés : 120 m.s⁻¹
(diamètre > 1,5 µm)

Sur l'image : M = myéline, A = axone
S = cellule de Schwann



Conclusion

Trois types de communications complémentaires

Complexité et finesse de la réponse

NOMBREUSES APPLICATIONS MÉDICALES