



Table des matières

| | |
|--|---|
| Chapitre 2.1 : Présentation et objectifs (00:25) | 1 |
| Chapitre 2.2 : Conduction du signal nerveux (04:42) | 1 |
| Chapitre 2.3 : Organisation des nœuds de Ranvier (22:28) | 2 |
| Chapitre 2.4 : Pathologies des nœuds de Ranvier (06:12)..... | 8 |
| Chapitre 2.5 : Protection de l'axone et soutien métabolique (08:32)..... | 9 |

Chapitre 2.1 : Présentation et objectifs (00:25)

Dans ce deuxième chapitre, nous allons étudier la fonction principale de la myéline, qui est d'accélérer considérablement la propagation de l'influx nerveux. Nous verrons quelle est l'organisation moléculaire et cellulaire des nœuds de Ranvier, et nous verrons également d'autres fonctions de la myéline, qui est une fonction de support, de support trophique, et également d'apport métabolique aux neurones.

Chapitre 2.2 : Conduction du signal nerveux (04:42)

Nous allons aborder les fonctions de la myéline, et tout d'abord la conduction du signal nerveux. Comment est-ce que le potentiel d'action est généré dans les neurones non myélinisés, ou les neurones myélinisés ? Le potentiel d'action est généré au niveau du segment initial de l'axone, qui est ici. C'est une zone extrêmement enrichie en canaux sodium dépendants du potentiel, on dit également voltage-dépendants. Le potentiel de repos est d'environ - 70 millivolts et une dépolarisation de la membrane au-dessus du seuil de -55 mV va permettre l'ouverture massive de ces canaux sodiques, ce qui va générer une entrée d'ions sodium, donc un potentiel d'action qui va se propager le long de l'axone. Ces canaux sodiques sont ancrés au segment initial grâce à leur interaction avec un cytosquelette très particulier composé d'ankyrine G et de spectrine Bêta 4. Nous voyons ici des neurones d'hippocampe en culture, marqués par immunofluorescence pour Map2 en bleu, qui marque le compartiment somatodendritique. Nous voyons, en vert, le segment initial des axones, au départ de chaque axone. Ils sont marqués ici pour la Bêta 4 spectrine en rouge, et pour une autre protéine du segment initial, la neurofascine. Il s'agit d'un marquage des canaux sodium en vert. Vous voyez qu'ils sont extrêmement

concentrés au niveau de cette zone initiale de l'axone. Le potentiel d'action est généré au niveau du segment initial et il va se propager dans l'action. Pourquoi est-ce qu'il ne se propage principalement que dans l'axone ? En effet, dans les dendrites, nous avons une concentration très faible en canaux sodiques, donc nous aurons une décroissance du potentiel d'action à ce niveau, des fuites de courant et le courant se propagera très faiblement dans les dendrites. Par contre, au niveau de l'axone, un axone non myélinisé, nous avons une concentration en canaux sodiques tout le long de l'axone qui permet de régénérer le potentiel d'action. Dans les axones myélinisés, ces canaux ioniques ne sont plus répartis tout le long de l'axone, mais ils vont être concentrés au niveau des nœuds de Ranvier. C'est la région amyélinique entre deux manchons de myéline. Cette concentration de ces canaux sodiques au niveau du nœud de Ranvier va permettre des échanges ioniques à ce niveau, donc une conduction saltatoire de l'influx nerveux. Les échanges ioniques se font exclusivement au niveau des nœuds de Ranvier et les boucles de courant vont se faire de nœud de Ranvier en nœud de Ranvier. Cela permettra une accélération de la conduction d'un facteur 50 à 100. C'est une accélération considérable de la vitesse de conduction de l'influx nerveux. Un autre avantage de cette concentration des canaux ioniques au niveau du nœud de Ranvier, ce sera une économie d'énergie. En effet, après le passage du potentiel d'action, il faut rétablir les concentrations intracellulaires et extracellulaires en sodium et en potassium. C'est le rôle de la pompe sodium-potassium à ATPase qui va consommer énormément d'énergie. Si l'on restreint les échanges ioniques à ce niveau, on restreint également la consommation d'énergie consacrée à cette pompe ATPase. Nous voyons ici un marquage par immunofluorescence d'un nœud de Ranvier, avec la concentration en canaux sodium en vert, au niveau nodal. Nous allons essayer de comprendre par quel mécanisme ces canaux sodium sont restreints à ce niveau nodal. L'essentiel à retenir de ce chapitre, l'influx nerveux, le potentiel d'action est généré au niveau du segment initial de l'axone, une région très enrichie en canaux sodiques voltage-dépendants. La propagation saltatoire de l'influx nerveux se fait grâce également à une très forte concentration de canaux sodiques au niveau des nœuds de Ranvier. Les échanges ioniques ne se font qu'au niveau de ces nœuds de Ranvier, ce qui permet d'économiser de l'énergie.

Chapitre 2.3 : Organisation des nœuds de Ranvier (22:28)

Quelle est l'organisation des nœuds de Ranvier ? On voit sur cette photo un immunomarquage d'un nœud de Ranvier. Le nœud est enrichi en canaux sodiques voltage-dépendants. Et ici, nous avons une région que l'on appelle le juxtapanœud, qui est fortement enrichie en canaux potassiques de type Kv1. Entre ces deux régions, le nœud et le juxtapanœud, nous avons la région paranodale, qui est ici marquée en bleu. Et cette région paranodale, c'est la région, de chaque côté des nœuds de Ranvier, d'ancrage des boucles terminales de la myéline de chaque côté du nœud de Ranvier. On voit ici, sur cette photo de microscopie électronique, ces boucles terminales de la myéline qui sont de chaque côté du nœud de Ranvier qui est ici. Ici, en noir, il s'agit de la myéline compacte, qu'on voit ici qui est très noire. Ici, il s'agit d'un marquage par immunofluorescence. C'est un triple marquage détecté en microscopie confocale,

avec un marquage du canal sodium en vert, du canal potassique en rouge, et d'une molécule qui s'appelle Caspr, qui est une molécule d'adhérence, qui est marquée ici en bleu, et qui sert à l'ancrage de ces boucles de myéline, au travers d'une jonction très particulière qui est une jonction que l'on appelle de type septé, car ici elle est constituée avec ce que l'on appelle des bandes transverses qui sont régulièrement espacées entre la membrane de l'axone et les boucles de myéline à ce niveau-ci. Quelle est l'organisation moléculaire de ces trois domaines des nœuds de Ranvier ? La région nodale ici, paranodale, et juxtaparanodale. La région nodale est fortement concentrée en canaux sodiques, de type Nav1.6. La région juxtaparanodale est fortement concentrée en canaux potassiques de types Kv1.1 et Kv1.2. Nous voyons ici que nous avons des complexes de molécules d'adhérence qui sont spécifiques à chaque sous-région du nœud de Ranvier : la région nodale, paranodale, juxtaparanodale. À chaque sous-région, nous avons un complexe particulier de molécules d'adhérence qui va être impliqué dans l'organisation, ici, de ces différents domaines, et dans l'ancrage en particulier de ces différents canaux ioniques. Nous allons étudier en détail comment se forment ces différents complexes de molécules d'adhérence dans ces trois régions. Le principe général, c'est que les interactions entre l'axone et la cellule gliale va induire des interactions entre des molécules d'adhérence, qui vont ensuite recruter un cytosquelette au niveau sous-jacent dans l'axone, et ce cytosquelette va permettre de recruter ensuite les canaux ioniques. Au niveau nodal, nous avons présence de molécules qui sont notamment de la famille de la neurofascine-186. Dans le système nerveux périphérique, cette neurofascine-186 va interagir avec la glioméline. Nous allons voir que ces interactions sont très importantes pour le recrutement du canal sodium. Au niveau des jonctions paranodales, nous allons voir quel est le complexe de molécules d'adhérence qui permet la formation de ces jonctions particulières de type septé. Nous avons trois molécules d'adhérence ici qui sont impliquées dans la formation de ce complexe : la contactine, la molécule Caspr, qui sont toutes les deux sur la membrane de l'axone, et qui interagissent avec la neurofascine-155 qui est localisée sur les boucles terminales de la myéline. Ces trois molécules vont former un complexe ternaire et recruter un cytosquelette ici, avec des molécules particulières du cytosquelette, la protéine 4.1B, l'ankyrine-B et la spectrine bêta 2. Ce complexe de molécules d'adhérence a été identifié au niveau de ses jonctions paranodales, où elles sont présentes ici dans ce marquage en bleu. Elles ont également été retrouvées, ces mêmes molécules d'adhérence, dans des jonctions ancestrales, qui sont présentes chez la drosophile et qui ressemblent, d'un point de vue morphologique, au niveau ultrastructural en microscopie électronique, qui ressemblent aux jonctions septé paranodales. Vous voyez ici le marquage d'une jonction septée dans des cellules épithéliales de drosophile. On voit cette organisation en barreaux d'échelle qui est très similaire. Des molécules d'adhérence tout à fait homologues à celles qui sont retrouvées dans les jonctions paranodales sont présentes dans les cellules épithéliales, les épithéliums de drosophile et ces jonctions servent de barrière transcellulaire. Chez les vertébrés, au niveau des jonctions des cellules épithéliales, nous avons les jonctions serrées qui jouent ce rôle de barrière transépithéliale, et qui ont une structure totalement différente. Nous avons ici les kissing points, que l'on voit ici au niveau des jonctions serrées, qui sont formées essentiellement (de claudine). Chez les vertébrés, nous avons un système très

différent des invertébrés. Cette jonction de type ancestral se retrouve au niveau des jonctions axo-gliales et au niveau des nœuds de Ranvier. Quel est le rôle de ces jonctions paranodales ? Ces jonctions paranodales forment une barrière latérale pour séparer les canaux ioniques au niveau du nœud et au niveau du juxtapanœud. Les différents types de canaux ioniques : canaux sodium au niveau du nœud et canaux potassium au niveau du juxtapanœud. Ici, nous avons la situation chez une souris normale. On voit à nouveau ce triple marquage : canaux sodium, jonctions paranodales, et canaux potassiques en rouge. On voit ici ces jonctions septées qui sont présentes entre les boucles de myéline et l'axone, ce qui est schématisé ici. Différentes souris knockouts ont été générées pour les trois molécules d'adhérence de ces jonctions paranodales. Pour Caspr, pour la contactine et pour la neurofascine155, il existe des souris knockouts déficientes pour chacune de ces trois molécules. Le phénotype observé est tout à fait similaire. Nous avons ici, ce qui est visible en microscopie électronique, une disparition des bandes transverses, qu'on voit ici chez les souris normales, donc on a une altération de ces jonctions paranodales, quand une de ces trois molécules d'adhérence est absente. Ce qui est schématisé ici, c'est qu'on a une perturbation de l'ancrage des boucles terminales de la myéline au niveau des paranœuds. Et quelle est la conséquence au niveau de la localisation des canaux ioniques ? Ce que l'on voit très clairement ici, c'est que le canal sodium se trouve toujours dans la région nodale, ici en vert, comme chez la souris sauvage. Par contre, il y a disparition du marquage ici pour Caspr qui est en bleu, donc le marquage des jonctions paranodales. Et ce qu'il y a de plus surprenant, c'est que l'on voit les canaux ioniques potassiques qui sont en rouge ici, qui ne sont plus séparés des canaux sodiques, mais qui sont tout contre les canaux sodiques. Ces canaux potassiques ont diffusé ici, pour être localisés au niveau de la région paranodale, au lieu d'être en position juxtapanodale. Cela montre bien que ces jonctions paranodales servent, jouent un rôle de barrière latérale à la diffusion des canaux ioniques, puisqu'ici nous n'avons plus le blocage latéral de ces canaux ioniques qui viennent ici. Quelle est la conséquence physiologique pour la conduction de l'influx nerveux ? La conséquence, c'est un ralentissement important de la propagation de l'influx nerveux. Nous allons voir maintenant quels sont les mécanismes de recrutement des canaux sodiques au niveau de la région nodale des nœuds de Ranvier. Je vous ai dit rapidement, dans la diapositive générale d'organisation des nœuds de Ranvier, que ce qui était important c'était qu'il y ait d'abord une interaction entre la glie, entre la cellule myélinisante, et l'axone, grâce à des molécules d'adhérence qui allaient permettre de faire un complexe, qui allait ensuite recruter le cytosquelette, et ensuite recruter les canaux ioniques. Comment cela se passe ? Je vais vous prendre l'exemple ici du système nerveux périphérique, où le mécanisme d'agrégation des canaux ioniques au niveau de la région nodale est bien mieux connu. Au niveau du système nerveux périphérique, la cellule de Schwann forme les boucles de myéline, et également au niveau nodal génère ce que l'on appelle les microvilli qui se trouvent ici. Le premier manchon de myéline va former ces boucles de myéline ici. Et le manchon de myéline contigu va former ces microvilli aussi. Des boucles de myéline sont ici sur le côté. Ces microvilli des cellules de Schwann sécrètent des molécules d'adhérence et des molécules de la matrice, et notamment une molécule très importante qui s'appelle la gliomédine. On va voir quel est le rôle de cette gliomédine dans la formation de ce complexe. Ensuite,

cette gliomédine interagit avec la neurofascine. La neurofascine a un site, c'est une molécule d'adhérence de l'axone, elle a un site de liaison pour l'ankyrine-G. Et l'ankyrine-G peut également interagir avec le canal sodium. Ça fait une sorte de pont entre cette molécule d'adhérence, la neurofascine-186 et le canal sodium. Et tout ceci est généré par l'interaction ici entre les microvilli et l'axone. Nous avons donc une progression en trois étapes pour le recrutement de ces canaux ioniques. Cette organisation des nœuds de Ranvier, cette concentration des canaux sodiques au niveau de la région nodale, est acquise progressivement au cours du développement. Dans les étapes initiales, les manchons de myéline ne sont pas encore contigus. Les cellules de Schwann se positionnent le long de l'axone, vous voyez ici deux cellules de Schwann qui sont positionnées à distance. Et ces cellules de Schwann vont s'enrouler autour de l'axone, et vont progresser également de manière longitudinale pour se rejoindre et pour qu'il y ait des manchons de myéline contigus. Se produit la concentration des canaux sodiques au niveau des nœuds de Ranvier. Tout d'abord, il y a formation de ce qu'on appelle un hémicœud. Donc les microvilli, à l'extrémité de chacun des manchons de myéline, vont permettre de recruter le canal sodium, grâce à une molécule qui s'appelle la gliomédine, à chaque extrémité. C'est ce que vous voyez ici. Donc ici nous avons deux hémicœuds, avec la concentration de deux zones enrichies en canaux sodiques : deux à chaque extrémité du manchon de myéline. Et puis, au fur et à mesure que ces manchons de myéline vont progresser, vont s'étendre longitudinalement, les deux hémicœuds qui sont ici vont fusionner en un seul nœud. Il s'agit là d'un mécanisme que l'on appelle la restriction paranodale, puisque ces canaux sodium sont piégés entre deux régions paranodales à l'extrémité de chaque manchon de myéline. Cette force latérale est importante. C'est une force que l'on appelle restriction paranodale. Elle est importante pour permettre la formation, ici, de ce nœud de Ranvier.

Alors, nous allons voir comment on a pu montrer que la gliomédine jouait ce rôle très important dans la concentration des canaux sodiques au niveau nodal. La gliomédine est une protéine de la matrice, qui est sécrétée par les microvilli des cellules de Schwann. Nous voyons tout d'abord, ici, la localisation de la gliomédine au niveau des microvilli des cellules de Schwann. Vous voyez ici, c'est une section transversale d'un nœud de Ranvier. Ici, c'est l'axone, et tout autour, vous avez les microvilli qui sont sectionnés sur cette image en microscopie électronique. Et ces petits points noirs, ici, ce sont des grains d'or qui permettent de marquer par immunomarquage la gliomédine, qui est donc localisée au niveau de ces microvilli. Alors ici, il s'agit d'un marquage en microscopie électronique avec des grains d'or, grâce à des anticorps anti-gliomédine. Et vous voyez ici le marquage en fluorescence au niveau d'une section transversale d'un nœud de Ranvier. Nous avons la gliomédine qui fait tout le tour du nœud de Ranvier et qui est co-localisée ici avec une molécule jonctionnelle, qui est (la claudine), qui se trouve également au niveau de ces microvilli.

Pour montrer la fonction de la gliomédine, des souris mutantes - donc knockout pour la gliomédine - ont été générées. Quel est le phénotype de ces souris ? Le phénotype est moins dramatique que celui auquel on s'attendait. Il y a toujours des nœuds de Ranvier chez les souris adultes. Par contre, au cours du développement, nous voyons ici qu'il y a une absence totale de recrutement... ici, c'est la souris knockout pour la gliomédine. On a une absence ici, au niveau des

hémicœuds, du recrutement du canal sodium, qui est ici marqué en rouge, ici, chez la souris sauvage, et absence chez la souris mutante pour la glioméline. Alors qu'au niveau des nœuds matures, nous avons présence du canal sodium en rouge, ici, et également chez la souris mutante. Le canal sodium est co-localisé avec une molécule d'adhérence qui s'appelle la neurofascine-186, qui est ici en vert. Et en bleu, il s'agit d'un marquage de la myéline avec une protéine qui s'appelle la MBP. La glioméline est ici marquée (c'est un quadruple marquage) elle est marquée en blanc ici, chez la souris sauvage, au niveau nodal - au niveau d'un hémicœud. Evidemment, le marquage disparaît chez la souris knockout pour la glioméline. Donc, la glioméline est bien localisée au niveau des microvilli des cellules de Schwann. Quand elle est absente dans les souris knockouts, on a un défaut de formation des hémicœuds. Mais cependant, ce défaut est récupéré chez l'adulte, et ceci à cause du mécanisme dont vous je parlais, de restriction paranodale. C'est-à-dire que les canaux sodiques finissent par être piégés entre deux manchons de myéline, même s'ils n'interagissent pas avec les microvilli des cellules de Schwann. Donc, on a plusieurs mécanismes qui coopèrent pour aboutir à cette concentration des canaux sodiques au niveau nodal.

Troisième type d'expérience : comment montre-t-on que la glioméline qui est sécrétée par les microvilli des cellules de Schwann interagit avec la molécule d'adhérence neurofascine-186 qui est exprimée au niveau de l'axone ? Pour démontrer cette interaction entre ces deux molécules, les expériences classiques qui sont réalisées sont de faire une transfection de fibroblastes, qui vont exprimer la glioméline à leur surface. Ensuite, on va faire une expérience de liaison avec la molécule neurofascine-186 fusionnée à des fragments Fc d'immunoglobuline. C'est une forme sécrétée de la neurofascine-186 qui va être utilisée ici. On fait des expériences de binding, on fait un marquage de cette neurofascine-186, ici en rouge, et on voit qu'il y a bien liaison de la neurofascine-186 sur ces fibroblastes qui expriment la glioméline. Donc, on voit ici la liaison de la neurofascine-186-Fc sur ces fibroblastes transfectés avec la glioméline. Ensuite, il a été réalisé différents mutants de délétion de cette protéine, pour savoir quels sont les domaines d'interaction. La neurofascine-186 est composée de plusieurs domaines fibronectine de type III et, ici, de six domaines immunoglobuline. Nous avons ici un mutant de délétion dans lequel les domaines fibronectine ont été délétés. Et ici nous avons un autre mutant de délétion dans lequel ce sont les domaines immunoglobuline qui ont été délétés. Ce que nous observons dans ces expériences de liaison, c'est que nous n'avons pas ici de liaison des domaines immunoglobuline de la neurofascine, mais une liaison, ici, grâce aux domaines fibronectine de la neurofascine-186. Donc, ces expériences de liaison permettent d'établir quels sont les domaines d'interaction entre la glioméline et la neurofascine-186. Cette interaction sera très importante pour ensuite permettre le recrutement de l'ankyrine G, qui interagit avec la neurofascine, et ensuite, l'ankyrine G permet l'agrégation du canal sodium. Cette série d'expériences permet de bien démontrer quel est le rôle de la glioméline.

Nous allons maintenant, dans cette dernière partie, étudier comment se forme le juxtaparanœud. Le juxtaparanœud, c'est la région enrichie en canaux potassiques, de chaque côté de la région paranodale. Vous voyez, ici,

schématisée, la composition du complexe de molécules d'adhérence, qui va permettre l'ancrage des canaux potassiques Kv1.2 et Kv1.1. Il s'agit de trois molécules d'adhérence : les molécules Caspr2 et TAG-1, qui sont localisées au niveau de l'axone, et qui vont interagir avec TAG-1, à nouveau, qui est exprimée par la myéline juste à côté des boucles de myéline. Sur ce marquage par immunofluorescence, vous voyez ici un segment de myéline marqué en bleu pour la MBP, la protéine basique de la myéline. En vert, il s'agit du marquage des canaux potassiques Kv1.2, qui sont au juxtaparanœud, et en rouge, un marquage de la molécule Caspr qui marque les paranœuds. En noir, c'est la région nodale, qui n'est pas marquée. Donc à nouveau, un complexe ternaire de molécules d'adhérence va permettre la formation de ce domaine juxtaparanodal, et ici, la concentration des canaux potassiques à ce niveau-là.

Comment est-ce que l'on a montré que ces molécules d'adhérence étaient absolument requises pour le recrutement des canaux potassiques Kv1 au juxtaparanœud ? À nouveau, ce sont des expériences génétiques qui ont montré le rôle de ces molécules d'adhérence. Des souris knockouts pour la molécule Caspr2 ont été générées, et d'autres souris knockouts pour la molécule TAG-1 ont également été générées. Ces deux souris mutantes ont le même phénotype, avec une diffusion des canaux potassiques qui ne seront plus concentrés au niveau des juxtaparanœuds. Dans les souris sauvages, vous voyez en rouge, ici, les canaux potassiques au juxtaparanœud. Ici, en vert, sur cet immunomarquage, les canaux potassiques sont au juxtaparanœud dans les souris sauvages. Et dans les souris knockouts, nous avons une quasi-disparition de ces canaux potassiques, qui ne sont plus présents au juxtaparanœud, ici, pour la souris KO Caspr2, et ici pour la souris KO TAG-1. Alors, quelle est la conséquence, au niveau physiologique, de cette dispersion des canaux potassiques ? La conduction est peu perturbée. Cependant, des résultats récents ont montré qu'il y avait un ralentissement de la repolarisation du potentiel d'action.

Ces canaux potassiques vont jouer un rôle plus important au cours du développement. En effet, chez l'adulte, dans un axone myélinisé, ces canaux potassiques sont localisés sous la myéline compacte. Et donc, il y a peu de passage de courant ionique à ce niveau-là. Par contre, au cours du développement, quand les jonctions paranodales ne sont pas encore complètement stabilisées, ces canaux potassiques vont jouer un rôle important. Comment est-ce que cela a été montré ? Ici, par des expériences d'électrophysiologie sur des nerfs sciatiques de souris à la naissance, donc à P0. À l'âge de P20, quand la myélinisation est quand même bien avancée, mais pas complètement mature, et ici chez un adulte, donc environ deux mois, donc 62 jours. Ici, il s'agit des enregistrements des potentiels d'action le long du nerf sciatique dans les conditions contrôles, et ici, dans des conditions où l'on utilise un bloqueur spécifique des canaux potassiques, qui est la 4-aminopyridine. Nous ne voyons que peu d'effet sur un nerf sciatique adulte. Par contre, nous avons un effet beaucoup plus important dans un nerf sciatique juvénile, où nous avons des dépolarisations répétitives qui ne se produisent pas en conditions contrôles. Ces canaux potassiques, qui induisent une repolarisation de la membrane, ont un rôle important de stabilisation de la conduction, en particulier au cours du

développement ; quand on passe d'un mode continu de propagation du potentiel d'action, à un mode saltatoire de conduction.

Chapitre 2.4 : Pathologies des nœuds de Ranvier (06:12)

Dans le chapitre suivant, nous allons aborder les pathologies qui peuvent affecter les nœuds de Ranvier. Comme vous le savez certainement, il existe des maladies auto-immunes qui atteignent la myéline. Il s'agit principalement de la sclérose en plaques, qui induit une atteinte des oligodendrocytes dans le système nerveux central, et donc une démyélinisation. Nous aborderons cette maladie dans le chapitre 8. Par contre, dans ce chapitre-ci, nous allons voir qu'il existe également des maladies auto-immunes qui vont affecter le système nerveux périphérique, donc les nerfs périphériques. Il s'agit de neuropathies qui vont induire des démyélinisations des nerfs moteurs. La forme aiguë, c'est la maladie de Guillain-Barré, qui est une forme aiguë et qui est une forme réversible. Il y a des atteintes motrices, mais il y a une récupération : au cours de plusieurs mois, on a une récupération de toute la capacité motrice. Mais il existe également une forme chronique de cette maladie, qui s'appelle la polyneuropathie inflammatoire démyélinisante chronique, abrégée en CIDP, et là nous avons une démyélinisation qui est difficilement réversible, et qui donc induit chez les patients des paralysies assez graves. Il a été récemment montré, et notamment dans mon laboratoire, que chez certains de ces patients, il existe des anticorps qui ont été caractérisés dans le sang de ces patients contre des molécules d'adhérence des nœuds de Ranvier. Chez environ 10 % de ces patients, on a des anticorps dirigés contre la Contactine, ou contre la Neurofascine-155, qui sont des molécules d'adhérence impliquées dans la formation des paranœuds, des jonctions paranodales. C'est ce que nous voyons ici, nous voyons un immunomarquage avec des auto-anticorps de trois patients, CIDP 1, 2, et 3, où nous avons un marquage ici spécifique avec ces anticorps de patients au niveau des jonctions paranodales. Les jonctions paranodales ont été marquées, donc c'est un double marquage avec un anticorps de lapin dirigé contre Casper. On voit bien la co-localisation des auto-anticorps de patients et les anti-Casper, ici, au niveau des jonctions paranodales. En bleu, il s'agit d'un marquage de la myéline. Les anticorps de patients vont se fixer ici au niveau de ces jonctions paranodales. Alors, quelle va être la conséquence ? La conséquence de la fixation de ces auto-anticorps au niveau des jonctions paranodales a été visualisée ici sur des biopsies de nerf sural, et on voit ici qu'il y a une altération de ces jonctions paranodales, puisqu'on a une absence des bandes transverses, ici, comme dans les souris knock-out pour la Neurofascine ou pour la Contactine. Alors qu'ici, il s'agit de la situation contrôle où l'on voit ces bandes transverses au niveau des jonctions (inaudible). Donc ici il s'agit d'une biopsie chez un patient qui a développé des auto-anticorps contre la Neurofascine 155. Est-ce que ces auto-anticorps, qui sont dirigés contre la Contactine ou contre la Neurofascine, sont bien à l'origine de la maladie ? C'est ce que l'on a étudié en utilisant un modèle animal chez le rat, où on a injecté à ce rat des auto-anticorps purifiés de patients. Vous voyez ici, au niveau du nerf sciatique du rat, dans ce modèle animal, le marquage des auto-anticorps de patients en vert, qui sont dirigés ici contre la Contactine. Vous voyez qu'au bout d'un jour après l'injection de ces anticorps

humains, nous avons ici ces anticorps qui pénètrent au niveau des jonctions paranodales. Et au bout de trois jours, ces anticorps marquent l'ensemble de la jonction paranodale, donc se sont infiltrés au niveau de toute la jonction paranodale. Alors, quelle est la conséquence de l'injection de ces anticorps de patients qui sont fixés sur les jonctions paranodales, au niveau physiologique, chez ce rat immunisé ? On établit un score clinique pour ces rats, qui va de 1 à 4, donc 4 c'est les conséquences les plus graves, avec des paralysies des membres, notamment des membres postérieurs, donc des pattes du rat, donc il y a des gros problèmes de marche. Ici, nous avons la situation contrôle, en blanc. Ici en jaune, des anticorps dirigés contre la Contactine ont été injectés au rat. Il s'agit ici d'un sous-type IgG4 d'anticorps et en bleu il s'agit d'un sous-type IgG1. Nous voyons que l'injection des anticorps du sous-type IgG4 pourrait avoir un effet plus important d'altération de la motricité chez ce rat. Ces rats vont présenter des défauts de la marche, et aussi une altération de la conduction nerveuse, qui a été mesurée ici en électrophysiologie sur les racines ventrales de la moelle. On voit qu'il y a une diminution du potentiel d'action le long de ces axones. Les nœuds de Ranvier représentent vraiment un site vulnérable pour les maladies auto-immunes démyélinisantes, alors ici, au niveau du nerf périphérique, mais ça peut également être aussi le cas pour les maladies du système nerveux central, comme la sclérose en plaques. Le nœud de Ranvier est organisé en trois régions : la région nodale, la région paranodale et la région juxtaparanodale. La région nodale est enrichie en canaux sodiques voltage-dépendants, ce qui permet donc la propagation du potentiel d'action. La région juxtaparanodale est enrichie quant à elle en canaux potassiques voltage-dépendants, ce qui permet de stabiliser le potentiel d'action. Et enfin, les jonctions paranodales entre les boucles de myéline et l'axone permettent de former une barrière latérale à la diffusion des canaux ioniques. Finalement, il faut également retenir que ces nœuds de Ranvier sont la cible de neuropathies immunes, auto-immunes.

Chapitre 2.5 : Protection de l'axone et soutien métabolique (08:32)

Dans cette dernière partie, qui concerne les fonctions de la myéline, nous allons aborder une autre fonction de la myéline : au-delà de la conduction saltatoire de l'influx nerveux, donc de l'accélération de la propagation de l'influx nerveux. La myéline joue un rôle important, un rôle trophique et un rôle de soutien métabolique. Les oligodendrocytes, et les cellules de Schwann également, sont capables de délivrer différentes substances qui vont ensuite agir au niveau des axones et vont jouer un rôle protecteur pour les neurones. Il y a eu plusieurs expériences, mais il y a ici une expérience importante qui a permis de montrer ce rôle trophique des oligodendrocytes et de la myéline envers les axones. Dans cette expérience, on a une approche génétique, et on fait exprimer une protéine, qui est un récepteur de la toxine diphtérique, DTR pour diphtheria toxin receptor, derrière le promoteur de la MBP, protéine de la myéline. Ce récepteur de la toxine diphtérique ne sera exprimé qu'au niveau des oligodendrocytes. Il s'agit d'une expérience d'ablation ciblée des oligodendrocytes dans cette souris génétiquement modifiée. On injecte, chez cette souris adulte, la toxine diphtérique, et on observe les conséquences après trois semaines. On observe

une perte très importante d'oligodendrocytes, à peu près 25 % des oligodendrocytes ont disparu. On ne s'aperçoit pas d'une démyélinisation évidente parce que, quand même, la myéline est une structure stable, qui se renouvelle extrêmement lentement. Par contre, on observe une très forte dégénérescence axonale et une altération des nœuds de Ranvier. Cette dégénérescence axonale va être critique, et va ensuite induire la paralysie des animaux, et une mort lente. Ces expériences montrent de manière très élégante, le rôle des oligodendrocytes dans la survie neuronale.

La myéline joue également un rôle important, au niveau des échanges métaboliques avec l'axone. Cela va être extrêmement important, par exemple dans les maladies démyélinisantes. En effet, la production d'ATP, le métabolisme énergétique est différent dans les cellules neuronales et dans les cellules gliales. Le neurone utilise essentiellement le métabolisme mitochondrial, donc la phosphorylation oxydative, le cycle de Krebs, alors, que les cellules gliales, notamment les astrocytes et les oligodendrocytes, utilisent principalement la glycolyse. Il y a des échanges de métabolites entre l'oligodendrocyte et le neurone. Les oligodendrocytes peuvent fournir du lactate aux neurones. Ce lactate, ensuite, sera transformé, via le cycle de Krebs, pour générer de l'énergie. Il y a une interaction réciproque entre les neurones et les oligodendrocytes. Un neurone qui est actif va libérer du glutamate, et ce glutamate va stimuler des récepteurs NMDA au niveau des oligodendrocytes. Les oligodendrocytes, tout comme les neurones, expriment des récepteurs NMDA. Ces récepteurs NMDA vont ensuite induire une activation au niveau des oligodendrocytes et la mobilisation de transporteurs du glucose vers la membrane. Il y aura un uptake du glucose sanguin par les oligodendrocytes, qui vont ensuite produire du lactate, et ce lactate va être ensuite transféré vers les neurones. Comment est-ce que cela a été montré ? Des souris knockouts pour le récepteur NMDA ont été générées, mais avec un knockout spécifiquement au niveau des oligodendrocytes, donc un knockout conditionnel, cellule spécifique, en fait. On s'est aperçu que ces souris développaient des axonopathies et de la neuro-inflammation. Ces échanges de métabolites entre les cellules gliales et les cellules neuronales sont extrêmement importants pour permettre un métabolisme optimal des neurones qui, lui, évidemment est très important pour la survie et pour l'activité des neurones.

Ce schéma, ici, illustre les interactions réciproques entre le neurone, l'astrocyte et l'oligodendrocyte pour réguler le métabolisme neuronal. Un neurone qui est activé va, ici, sécréter du glutamate, le glutamate va se lier aux récepteurs NMDA sur les oligodendrocytes, ce qui va induire l'expression à la sous-membrane du transporteur du glucose. Le glucose qui provient de la circulation va entrer dans l'oligodendrocyte et va être transformé en lactate. Le lactate est transféré ensuite via des transporteurs au monocarboxylate, qui s'appellent MCT1 et MCT2, au travers de la membrane de l'oligodendrocyte, vers le neurone. Ensuite, ce lactate va être utilisé au niveau du cycle de Krebs pour produire de l'ATP. Nous avons donc une coopération extrêmement active entre ces différents types de cellules.

Au-delà du rôle des oligodendrocytes dans la myélinisation, ces cellules sont également capables de fournir un support trophique aux neurones et un support

métabolique. Les oligodendrocytes fournissent du lactate aux neurones et sécrètent également des exosomes qui sont capturés par les axones.

Les exosomes sont de petites vésicules qui ont une toute petite taille, entre 50 et 100 nanomètres de diamètre, qui sont montrés ici. Ce sont ces petites vésicules, ici. Ce sont des exosomes, ici, qui sont dans un oligodendrocyte, et qui sont marqués, ici, avec ces grains d'or. On marque la protéine de la membrane de l'oligodendrocyte, qui est MAG, une protéine de la myéline, qui montre bien que ces exosomes appartiennent à un oligodendrocyte. Ces exosomes sont, en fait, libérés par fusion de corps multivésiculaires qui contiennent ces exosomes, et ces exosomes vont être sécrétés dans l'espace extracellulaire. Ils transportent plusieurs types de protéines et d'ARN messagers, également de micro-ARN, qui vont permettre un transfert horizontal de cellule à cellule. Également, ces exosomes vont permettre une élimination du matériel en dehors de la cellule oligodendrocytaire, et par exemple une élimination de la membrane myélinique qui serait trop importante. Ces exosomes qui sont libérés vont pouvoir jouer un rôle neuroprotecteur envers les neurones. Neuroprotecteur, car ces exosomes contiennent des enzymes de résistance au stress oxydatif, que nous avons ici, comme la superoxyde dismutase ou la catalase, qui vont permettre de résister à l'excès de radicaux libres qui sont produits dans un axone qui est en activité.

À nouveau, voici un schéma qui récapitule ce soutien trophique des oligodendrocytes vers le neurone, et vers l'axone du neurone, au travers de ces exosomes. L'astrocyte est capable de neuroprotection, l'oligodendrocyte est capable également d'un soutien métabolique et d'un soutien de type neuroprotection, également, envers l'axone.

La myéline protège l'axone des agressions du micro-environnement, comme des toxines ou de l'inflammation. Les cellules gliales dont les oligodendrocytes ont un métabolisme différent des neurones. Les oligodendrocytes fournissent du lactate aux neurones, qui est ensuite utilisé dans le cycle de Krebs. Enfin, les oligodendrocytes produisent des exosomes, qui sont capturés par les neurones, et qui contiennent des enzymes de protection à l'oxydation, et également qui stimulent l'activité des neurones.