

Autour de l'acétylcholine

Dossier de TIPE par Bérut Antoine et Bisson Antoine
Mai 2007

I - L'acétylcholine un neurotransmetteur.

Introduction : Les neurotransmetteurs et la transmission de l'influx nerveux.

A) Présentation

- 1 – Historique.
- 2 - Localisation dans l'organisme, libération.
- 3 – Structure.

B) Formation

- 1 - Mécanisme de synthèse.
- 2 - Catalyse enzymatique.

II - Le fonctionnement de l'acétylcholine

Introduction : Le rôle de l'acétylcholine dans le système nerveux.

A) Son action sur les récepteurs

- 1 – Deux types de récepteurs.
- 2 – Géométrie et particularités de l'action, phase de désensibilisation.

B) Action de l'acétylcholine estérase

- 1 – Nécessité de son intervention, présentation de la molécule.
- 2 – L'hydrolyse de l'acétylcholine et la libération du récepteur.

III - Les perturbations d'un mécanisme bien rodé.

Introduction : Un mécanisme régulé sensible à des perturbations,

A) Principes généraux

- 1 – Inhibiteurs.
- 2 – Agonistes, antagonistes.

B) Trois sites d'action possibles

- 1 – Les vésicules synaptiques.
- 2 – Les récepteurs.
- 3 – L'acétylcholine estérase.

Conclusion

Bibliographie

I) L'acétylcholine, un neurotransmetteur

Le bon fonctionnement de l'organisme humain exige, entre autre, que le cerveau ait accès à des informations sur l'extérieur perçues par les récepteurs sensoriels, et qu'il soit capable d'y répondre. Cette transmission de l'influx nerveux est rendue possible par un important réseau de neurones (de l'ordre d'une centaine de milliards) qui assurent la liaison entre le cerveau et les différentes parties du corps. Au sein d'un neurone, l'information se transmet par inversion de polarité de la membrane de la cellule. En effet, il existe au repos une différence de potentielle négative, de l'ordre de -70 mV, entre la face interne et la face externe de l'axone. La propagation d'une différence de potentiel de $+35$ mV (**potentiel d'action**) constitue le signal de base utilisé par l'organisme pour véhiculer l'information. Ces potentiels d'actions sont ensuite codés en fréquence selon le message à transmettre.

Les synapses, zones de contact à l'interface de deux neurones, servent de « pont » à l'influx nerveux. Elles permettent à l'information de se transmettre de cellule en cellule. Il en existe deux types :

- *les synapses électriques* : les deux neurones, distants d'environ 2 nm, sont reliés directement par des jonctions communicantes, perméables au déplacement des ions responsables de la polarisation.
- *les synapses chimiques* : les deux neurones, distants de plusieurs dizaines de nanomètres, ne peuvent être reliés directement. Ces synapses, majoritaires dans l'organisme humain, assurent la transmission de l'information nerveuse par le biais de messagers chimiques, les neurotransmetteurs. Ces molécules sont libérées sous l'effet du potentiel d'action. Elles migrent alors à travers la synapse pour aller se fixer sur les récepteurs du neurone post-synaptique, provoquant ainsi le création d'un nouveau potentiel d'action : l'influx nerveux est transmis.

C'est le second type de synapses qui va nous intéresser ici, et plus particulièrement l'un de neurotransmetteurs : l'acétylcholine.

A) Présentation

1 – Historique

La découverte des neurotransmetteurs est rendue possible grâce aux travaux de Claude Bernard, médecin français du XIX^e siècle, qui étudia l'action du curare sur les organismes vivants. Il émet l'hypothèse que le poison entrave la communication entre les nerfs et les muscles.

Plus tard, l'espagnol Santiago Ramon y Cajal est le premier à envisager un intermédiaire chimique lors de la transmission de l'influx nerveux entre deux neurones.

Enfin, l'acétylcholine est le premier de ces messagers à être isolé, par le physiologiste anglais Dale qui constate son action sur le rythme cardiaque. Il sera récompensé pour ses expériences par le prix Nobel de médecine en 1936. Dale poursuivra ses études sur le sujet, en développant plus tard une théorie sur les récepteurs à acétylcholine des cellules post-synaptiques.

2 – Localisation dans l'organisme, libération

Les canaux ioniques sont des protéines membranaires des neurones. De forme tubulaire, elles permettent l'entrée sélective d'ions à l'intérieur de la cellule, sous certaines conditions. Ces molécules peuvent en effet présenter deux états, dits « ouvert » et « fermé », selon qu'elles autorisent ou non le passage de la membrane plasmique par leurs ions associés. L'état des canaux ioniques est influencé par la polarisation de l'axone. Au potentiel de repos, les protéines sont dans l'état « fermé ». Lors de la propagation d'un potentiel d'action, la dépolarisation de la membrane les fait basculer dans l'état « ouvert ».

- Dans le cas des canaux à ions sodium, l'afflux ionique provoque une modification des rapports de concentrations entre molécules chargées à l'intérieur et à l'extérieur de l'axone : il participe ainsi à la propagation du potentiel d'action.
- Dans le cas des canaux à ions calcium, situés à proximité des synapses, l'afflux ionique va entraîner la libération de l'acétylcholine dans la fente synaptique.

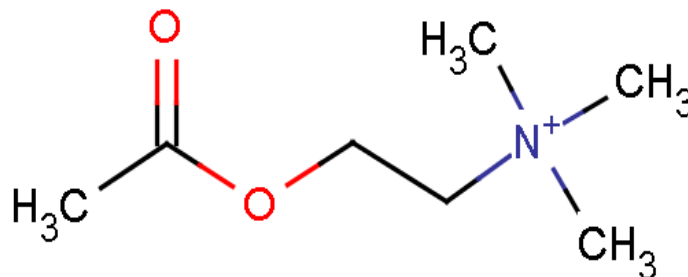
Les vésicules synaptiques sont des compartiments situés à l'extrémité de l'axone du neurone pré-synaptique. Elles servent à stocker et, le moment venu, à libérer les neurotransmetteurs qu'elles contiennent. Dans le cas de l'acétylcholine, chaque vésicule contient une dizaine de milliers de molécules.

L'afflux des ions calcium via les canaux ioniques déclenche un mécanisme d'exocytose des vésicules synaptiques. Cette exocytose consiste en la fusion des vésicules synaptiques avec la membrane plasmique, qui entraîne la libération des molécules d'acétylcholine à l'intérieur de la fente synaptique.

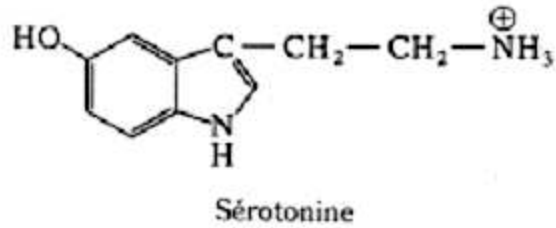
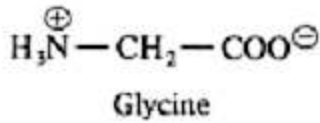
3 – Structure

L'acétylcholine est une molécule organique de petite taille : sa formule brute est $C_7H_{16}O_2N$. Sa masse molaire est de 146,2 g/mol. Elle présente une fonction ester et une fonction ammonium quaternaire.

Formule développée de l'acétylcholine :



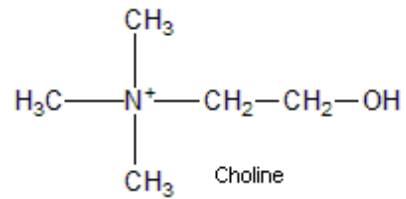
- La structure d'une molécule comme l'acétylcholine peut être déterminée par des méthodes telles que la spectroscopie : l'étude de l'interaction entre la matière et le rayonnement infrarouge, qui a pour effet de faire vibrer les liaisons chimiques, révèle quelles fonctions organiques le composé étudié renferme.
- Géométriquement, l'environnement autour des carbones et de l'azote aux extrémités de la molécule est tétraédrique (description VSEPR AX4E0). La chaîne carbonée/oxygénée les reliant est quant à elle linéaire.
- On constate la présence d'une charge formelle portée par l'atome d'azote : c'est une particularité partagée par tous les neurotransmetteurs. En effet, la reconnaissance des récepteurs post-synaptiques passe par des interactions coulombiennes. Sans cette charge, l'acétylcholine libérée pourrait stagner dans la fente synaptique et ne pas jouer son rôle.
- Enfin, on peut noter l'absence de tout descripteur stéréochimique. En effet, la molécule ne contient ni atome asymétrique, ni double liaison carbone/carbone. L'acétylcholine, l'un des composés les plus importants du corps humain, est ainsi une molécule très simple. D'autres neurotransmetteurs, comme la glycine, sont encore plus simples encore. Il en existe également des plus complexes, avec notamment pour certains la présence de cycles aromatiques. C'est le cas de la sérotonine.



B) Formation

1 – Mécanisme de synthèse

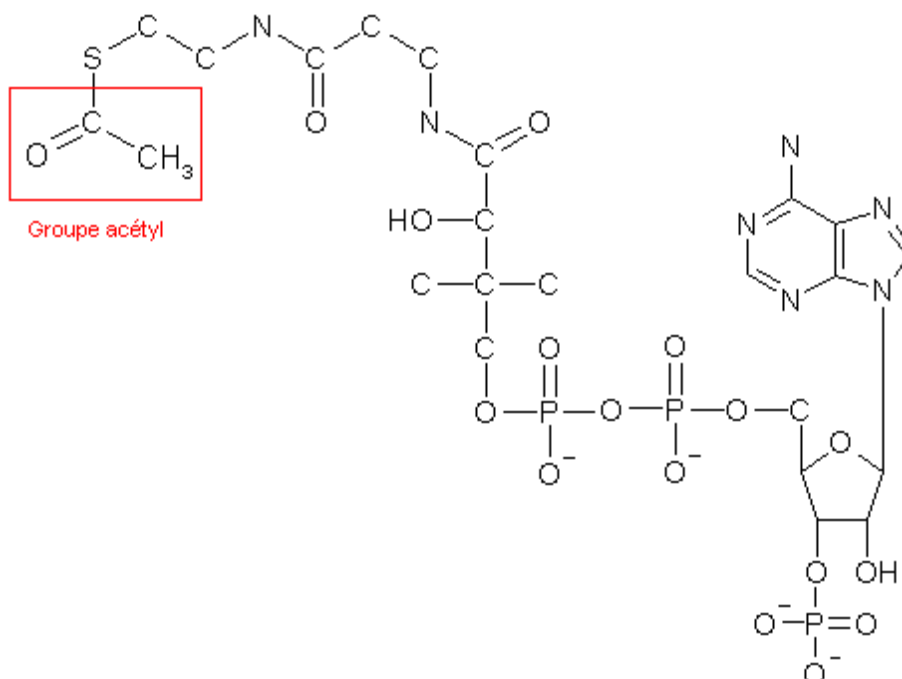
La choline est une molécule présente dans le milieu extracellulaire du système nerveux central, et dans les synapses. Elle provient de l'alimentation, et d'une synthèse permanente par le foie, où elle est produite sous forme de phosphatidylcholine. Ces molécules de taille plus importante, constituent pour une grand part la membrane des axones des neurones. On estime qu'elles représentent un tiers du poids sec du cerveau, ainsi que 15% de celui des nerfs.



L'acétylcholine semble être le produit d'une simple réaction d'estérification entre l'acide éthanoïque (ou acétique) et la choline. En réalité, on va passer par un autre mécanisme : en effet, l'acide acétique n'existe pas à l'état libre dans le cerveau, pas plus que le chlorure d'éthanoyle qui aurait pu éventuellement s'y substituer lors de la réaction d'estérification. Avec quel composé peut-on alors faire réagir la choline ?

L'acétyl-coenzyme A est une molécule issue du métabolisme du glucose. Elle est contenue dans des organites à l'intérieur des axones, les mitochondries.

Structure de l'acétyl-coenzyme A :



De cette structure compliquée, seul nous intéresse en fait le groupe acétyl présent à l'extrémité gauche. C'est lui qui, en réagissant avec la choline, va être à l'origine de l'acétylcholine.

La réaction de synthèse est : **Choline + Acétyl-CoenzymeA = Acétylcholine + H-Coenzyme A**

Or la fonction alcool de la choline est trop faible pour arracher le groupe acétyl de l'acétyl-coenzyme A. Par quel mécanisme l'acétylcholine est-elle alors synthétisée ?

2 – Catalyse enzymatique

De manière générale, un **catalyseur** est une espèce qui augmente, parfois de manière considérable, la vitesse d'une réaction chimique particulière. Bien que participant à la réaction, il est régénéré à la fin du mécanisme, et n'apparaît ainsi pas dans l'équation bilan. L'action d'un catalyseur consiste en l'introduction de nouvelles possibilités de coordonnées réactionnelles, à l'énergie d'activation plus basse : la réaction est ainsi accélérée.

Les **enzymes** sont des protéines dont le rôle est d'accélérer les réactions chimiques du métabolisme. Elles permettent de rendre compatibles avec la vie des réactions qui auraient été bien trop lentes pour un organisme en l'absence de catalyse enzymatique. Leur efficacité est remarquable : certaines réactions, en présence de l'enzyme spécifique qui leur correspond, peuvent être accélérées jusqu'à des dizaines de milliards de fois.

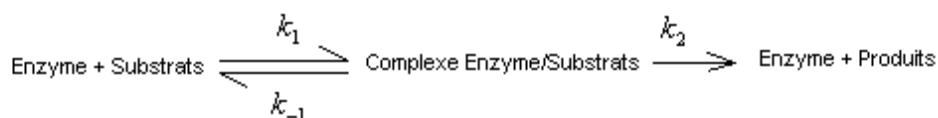
Exemple : réaction de dismutation de l'eau oxygénée : $2 \text{H}_2\text{O}_2 = 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

Cette réaction, thermodynamiquement favorisée, est très lente : c'est pourquoi des solutions d'eau oxygénée peuvent être conservées un certain temps. L'énergie d'activation est, en l'absence de catalyseur, de 80 kJ/mol. Le platine, sous forme de micro-granules, catalyse cette réaction en abaissant son énergie d'activation à 50kJ/mol. L'enzyme associée à cette dismutation, la catalase, offre quant à elle des possibilités réactionnelles nécessitant une énergie d'activation d'à peine 10kJ/mol. La vitesse d'une réaction augmentant de façon exponentielle avec la diminution de son énergie d'activation, la dégradation de l'eau oxygénée est considérablement accélérée (attention, la loi d'Arrhenius ne s'applique pas dans le cas des catalyses enzymatiques). Ainsi, lors du traitement d'une plaie par l'eau oxygénée, celle-ci est dégradée à raison de cinq millions de moles par minute, ce qui explique l'apparition de bulles d'oxygène lors du nettoyage de la plaie.

Le mécanisme d'action d'une enzyme consiste à disposer les réactifs (alors appelés substrats) dans l'espace dans des positions favorisant leur réaction : c'est la formation d'un intermédiaire réactionnel, le **complexe Enzyme-Substrat**. Cette formation s'explique par la présence sur l'enzyme de sites actifs, en forme de cavités, qui reconnaissent spécifiquement les substrats, les attirent et les fixent à l'aide de liaisons faibles. Une fois que les produits de la réaction sont formés, ils sont libérés par l'enzyme qui est alors de nouveau disponible.

Étudions la cinétique de la catalyse enzymatique :

La catalyse enzymatique suit ainsi le mécanisme suivant :



La réaction est caractérisée par ses constantes de vitesse. La réaction de formation du complexe Enzyme/Substrats est réversible : en effet, elle ne met en jeu que des liaisons faibles. En revanche, la formation des produits passe par la rupture ou la création d'une ou plusieurs liaisons covalentes : elle est irréversible.

Dans le cas de la réaction de formation de l'acétylcholine, les deux substrats sont l'acétyl-coenzyme A et la choline. L'enzyme catalysant la réaction est la choline acétyl-transférase.

Dans la suite, [P] désigne la concentration de l'acétylcholine, [(ES)] celle du complexe Enzyme/Substrat, et [S] le produit des concentrations d'acétyl-coenzyme A et de choline.

On a les relations :

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[(ES)] \quad \text{et} \quad \frac{d[(ES)]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[(ES)] - k_2[(ES)]$$

Le complexe Enzyme/Substrat étant un intermédiaire réactionnel, on peut lui appliquer l'approximation de l'état quasi-permanent (AEQP) :

$$k_1[E][S] - k_{-1}[(ES)] - k_2[(ES)] = 0$$

d'où la relation :

$$[(ES)] = \frac{k_1[E][S]}{k_2 + k_{-1}} \quad (*)$$

On pose alors : $K_m = \frac{[E][S]}{[(ES)]} = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1}$.

K_m est la **constante de Michaëlis**. Elle est l'inverse de la constante chimique classique associée à la réaction de formation du complexe Enzyme/Substrats, et représente donc l'inverse de l'affinité entre l'enzyme et ses substrats. Plus cette constante est grande, et moins l'enzyme est active.

Soit $[E]_0$ la concentration initiale de l'enzyme. On a, par conservation de la matière, à tout instant les relations :

$$[E] + [(ES)] = [E]_0 \quad \text{et} \quad [S] + [(ES)] \simeq [S] \quad (\text{en effet, } [E]_0 \text{ est négligeable devant } [S])$$

La relation (*) s'écrit alors :

$$[(ES)] = \frac{([E]_0 - [(ES)])[S]}{K_m}$$

Cette relation conduit finalement à :

$$[(ES)] = \frac{[E]_0 [S]}{K_m + [S]}$$

La loi de vitesse ainsi obtenue est donc : $v = \frac{d[P]}{dt} = k_2 \frac{[E]_0 [S]}{K_m + [S]}$

La vitesse est maximale pour $[(ES)] = [E]_0$ on a alors : $v_{max} = k_2 [E]_0$.

Le rapport des vitesses fournit enfin l'équation de **Michaëlis** :

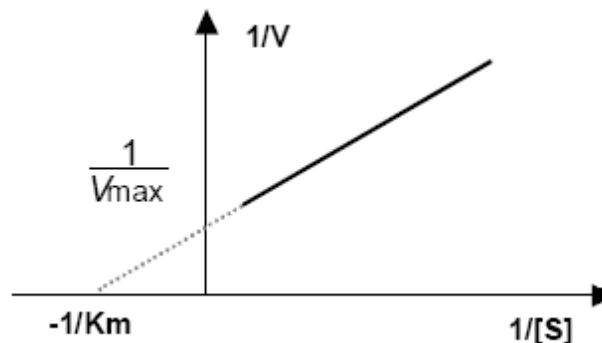
$$v = v_{max} \times \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

La constante de Michaëlis apparaît ainsi comme la concentration en substrat initiale pour laquelle la vitesse initiale de la réaction est égale à la moitié de la vitesse maximale atteinte au cours de la réaction.

Représentation graphique de Lineweaver et Burk :

L'équation de Michaëlis est équivalente à : $\frac{1}{V} = \frac{1}{[S]} \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{1}{V_{max}}$

La représentation graphique de l'inverse de la vitesse en fonction de l'inverse de la concentration en substrat est ainsi une droite qui coupe l'axe des ordonnées à l'abscisse $1/V_{max}$ et l'axe des abscisses à l'ordonnée $-1/K_m$. On peut ainsi mesurer expérimentalement la vitesse maximale et la constante de Michaëlis d'une catalyse enzymatique.



II) Le fonctionnement de l'acétylcholine

Nous connaissons désormais ainsi les caractéristiques et la de synthèse de l'acétylcholine. Une fois produite, cette molécule joue un rôle crucial dans les systèmes nerveux central et périphérique. Son action permet entre autre au cerveau de commander aux muscles les phases de flexion et d'extension. A l'intérieur du cerveau, l'acétylcholine intervient dans les mécanismes d'apprentissage et de mémorisation. On constate souvent que les personnes âgées victimes de la maladie neurodégénérative d'Alzheimer présentent d'importantes carences en acétylcholine. Nous allons étudier dans cette partie son action sur les récepteurs et sa régulation.

A) Action sur les récepteurs

1 – Deux types de récepteurs

Les récepteurs post-synaptiques sensibles à l'action de l'acétylcholine sont qualifiés de **cholinergiques**. Comme nous le verrons plus loin, d'autres substances peuvent avoir un effet sur eux. Selon qu'ils répondent de manière identique à l'action de l'acétylcholine qu'à celle de la nicotine ou de la muscarine (drogue extraite de certains champignons), ils sont classés en deux types : les récepteurs **nicotiniques** et **muscariniques**.

Ces deux types de récepteurs sont qualifiés de **métabotropes**. Cela signifie qu'ils sont susceptibles d'être activés en étant complexés par un ligand. Cette activation modifie leur conformation, et déclenche une série d'évènements intracellulaires. Dans le cas des récepteurs cholinergiques, le ligand est l'acétylcholine.

2 – Géométrie et particularités de l'action, phase de désensibilisation



Le récepteur schématisé ici représente un récepteur nicotinique. C'est une molécule pentamérique, constituée de l'association de quatre protéines de structures voisines, qui diffèrent par leur extrémité au contact de la fente synaptique (représentées en rouge). Chaque récepteur résulte de l'assemblage :

- de deux protéines dites Alpha (non voisines)
- d'une protéine Beta
- d'une protéine Gamma
- d'une protéine Delta.

Les têtes Alpha sont susceptibles d'être complexées par l'acétylcholine. Lorsque deux molécules d'acétylcholine se lient aux deux sites Alpha, le récepteur nicotinique s'active, et un canal ionique d'un nanomètre de diamètre s'ouvre (sur le schéma, le canal est représenté en jaune). Cette ouverture provoque un afflux d'ions sodiums et une légère fuite d'ions potassium dans l'axone du neurone post-synaptique. La différence des concentrations par rapport à l'état de repos provoque la création d'un potentiel d'action : l'influx nerveux a franchi la synapse. Ainsi, les récepteurs cholinergiques présentent une structure et une fonctionnalité proche des canaux ioniques à sodium situés tout le long de la membrane plasmique de l'axone. Seule différence, ce n'est pas la propagation du potentiel d'action qui les active, mais l'action de l'acétylcholine.

Phase de désensibilisation :

Souvenons-nous : un message nerveux est codé en fréquence de potentiels d'action. La longueur spatiale de la dépolarisation n'a aucune importance. Or, l'acétylcholine met du temps à se séparer des récepteurs après l'ouverture des canaux ioniques. Cette relative lenteur est compensée par une caractéristique supplémentaire des récepteurs cholinergiques : ils sont conçus pour ne pas «insister», et se ferment d'eux mêmes après un certain temps, bien avant que l'acétylcholine ne se détache des sites alpha. C'est la **phase de désensibilisation**.

B) La régulation par l'acétylcholine estérase

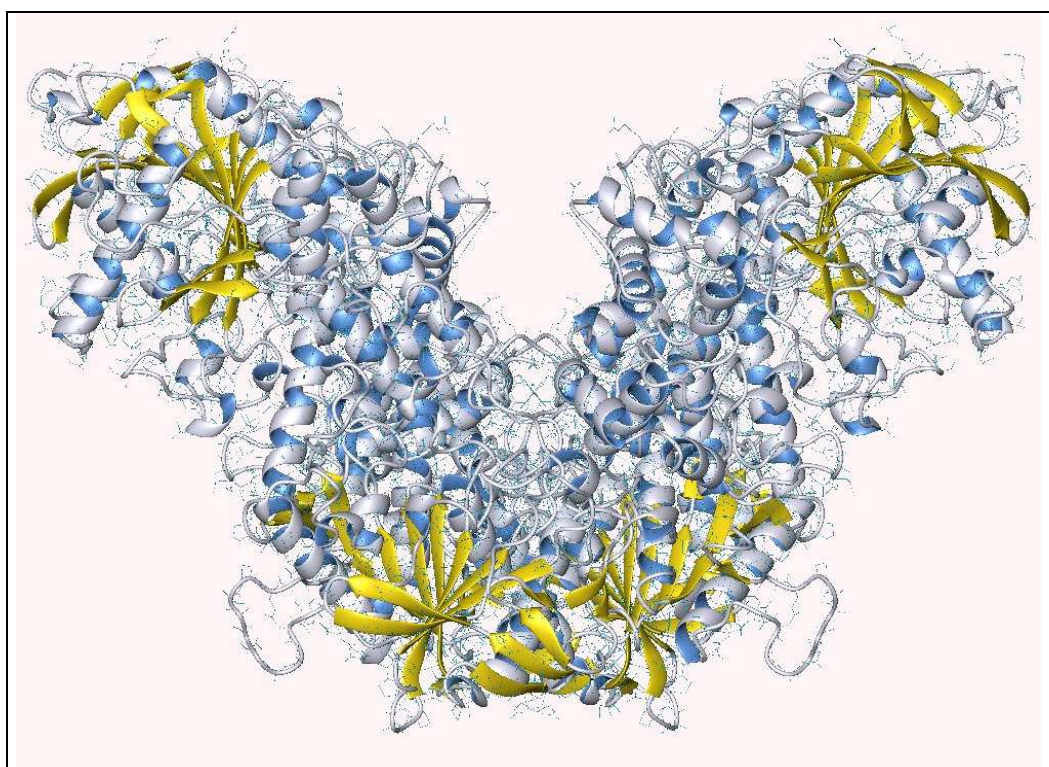
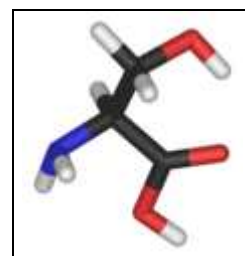
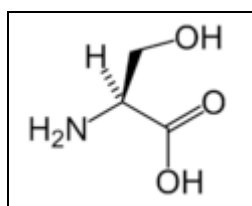
1 - Nécessité d'un processus de régulation, présentation

Après l'action de l'acétylcholine sur le récepteur de la cellule post synaptique et la transmission de l'influx nerveux, la membrane doit se repolariser afin de retrouver son niveau d'excitabilité électrique permettant ainsi la transmission de l'influx nerveux suivant, sans quoi le blocage de l'influx nerveux risque de provoquer la paralysie et la mort de l'individu. De plus, vu la vitesse de transmission de l'influx nerveux, et malgré le (petit) temps de désensibilisation des récepteurs, cette tâche doit être effectuée dans un délai très bref, de l'ordre de quelques millisecondes.

C'est l'acétylcholine-estérase, notée AChE, une enzyme de 75 kDa (le Dalton noté Da étant une unité de poids moléculaire correspondant à la masse d'un atome d'hydrogène, 75 kDa correspondent donc à une masse de $1,26 \cdot 10^{-19}$ g) qui remplit ce rôle en catalysant l'hydrolyse de l'acétylcholine une fois que cette dernière c'est spontanément dissociée de son récepteur. L'acétylcholine-estérase est elle-même reliée à la membrane post-synaptique par l'intermédiaire de phospholipides à GPI (glycoprotéine I), liaison à laquelle nous ne nous intéresserons pas.

L'acétylcholine-estérase présente une constante de catalyse (k_{cat}) de $14\,000\text{ s}^{-1}$ et une efficacité catalytique (k_{cat}/K_M) d'environ $1,5 \cdot 10^8\text{ mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, ce qui correspond donc à une très grande efficacité et permet une repolarisation de la membrane en l'espace d'environ 1ms.

L'acétylcholine-estérase est une protéinase à sérine, un des 20 acides aminés communément trouvés dans les protéines animales, de formule $C_3H_7NO_3$ et dont la réactivité tient surtout au groupement CH_2-OH nucléophile (visibles dans les encadrés à droite), dont la structure complexe (537 acides aminés pour la molécule extraite du poisson électrique *Torpedo californica*) a été déterminée par diffraction des rayons X, mettant notamment en évidence la présence des acides aminés Ser 200 et His 440 ainsi que Glu 237 dans la triade catalytique.

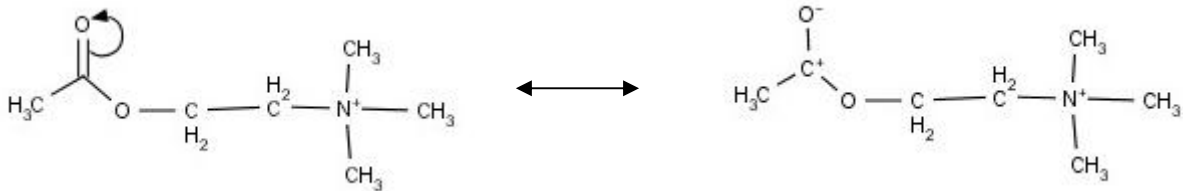


Modélisation en 3 dimensions (par ordinateur) de l'enzyme. Le site actif, visible au centre se situe vers l'extrémité d'une gorge d'environ 20 \AA de profondeur qui s'étend sur la moitié de la protéine et s'évase vers le bas.

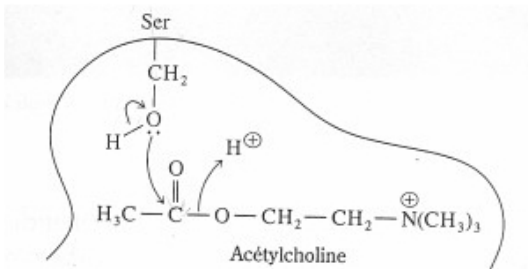
2 - Hydrolyse de l'acétylcholine, libération du récepteur

Le mécanisme d'action de l'acétylcholine-estérase est proche de celui de la chymotrypsine (une enzyme digestive fabriquée au niveau du pancréas et qui donne son nom à une des grandes catégories de protéinases à sérine présentes chez l'Homme).

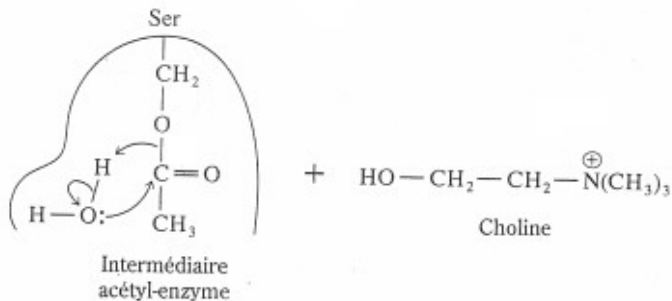
Un résidu à sérine nucléophile réagit avec l'acétylcholine, qui possède un groupement ester donc un carbone électrophile par effet mésomère attracteur du groupement (visible ci-dessous).



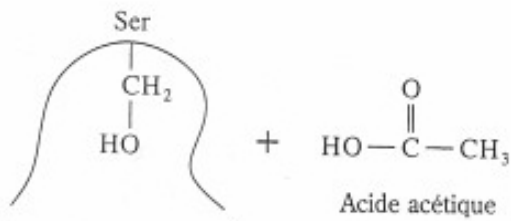
Se forme ainsi un intermédiaire « acétyl-enzyme »



La choline est alors libérée.



Puis l'hydrolyse de l'intermédiaire acétyl-enzyme a lieu, formant l'acide acétique (acétate) et régénérant l'enzyme.



Les produits sont retransportés vers la terminaison pré-synaptique pour ensuite reformer l'acétylcholine.

III) Les perturbations d'un mécanisme bien rodé

Comme dans tout mécanisme régulé, l'équilibre qui existe entre la formation d'acétylcholine, sa libération dans la fente synaptique, son action sur les récepteurs puis sa dégradation par l'acétylcholine-estérase peut être perturbé, par des éléments extérieurs et provoquer de graves modifications dans l'organisme. Dans le cas de l'acétylcholine, cette dernière participant à la transmission de l'influx nerveux, ces modifications risquent de se traduire par la paralysie puis la mort par asphyxie de l'individu. Nous étudierons ici trois des principaux cas de figure possible.

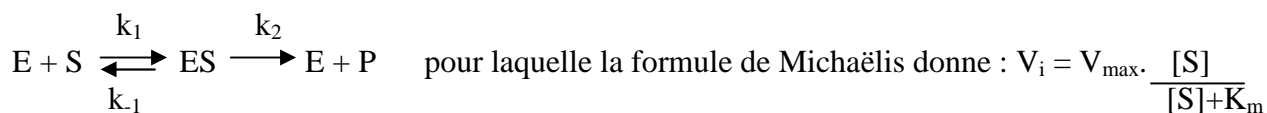
A) Principes généraux

1 - Inhibiteurs

Les enzymes, qui forment normalement un complexe avec leur substrat, peuvent être soumises à l'action d'inhibiteurs qui ralentissent, voire annulent totalement la réaction avec le substrat. Il en existe plusieurs sortes : compétitifs, incompétitifs, non-compétitifs, suicides.

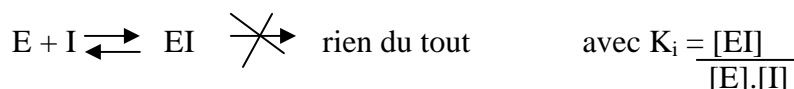
Les inhibiteurs compétitifs présentent en général une ressemblance structurale avec le substrat normalement associé à l'enzyme. Ils agissent en se fixant sur le site de l'enzyme, prenant ainsi la place du substrat, mais forment avec elle un complexe stérile, qui ne produit rien.

Ainsi au lieu d'avoir la réaction :



(pour laquelle on suppose que la 2^{ème} étape est cinétiquement déterminante, et qu'il n'y a pas de réaction inverse)

on a la réaction :



Les deux réactions entrent alors en compétition (d'où le nom).

On a alors, en notant :

$e = [E] + [ES] + [EI]$ la concentration totale en enzyme

$v = k_2[ES]$

$$\frac{v}{e} = \frac{k_2[ES]}{[E] + [ES] + [EI]} \quad \text{or } K_s = \frac{[ES]}{[E] \cdot [S]} \quad \text{d'où } [ES] = K_s \cdot [E] \cdot [S] \quad \text{et d'autre part } [EI] = K_i \cdot [E] \cdot [I]$$

d'où

$$\frac{v}{e} = \frac{k_2 [S]}{\frac{1}{K_s} + [S] + [I] \frac{K_i}{K_s}}$$

À V_{\max} on a $[ES] = e$ car toutes les enzymes sont occupées par le substrat (qui est alors en concentration saturante), donc $V_{\max} = k_2 \cdot e$.

De plus on considèrera qu'on est dans une phase stationnaire ($[ES]$ constante), donc

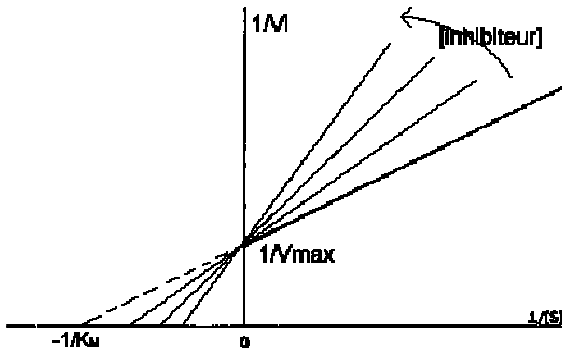
$$K_m = [E][S]/[ES] = 1/K_s$$

On trouve donc :

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m (1 + [I] K_i) + [S]} \quad \text{qui donne donc une formule de Michaëlis avec un } K_m \text{ apparent} \quad K_m' = K_m(1 + [I] K_i)$$

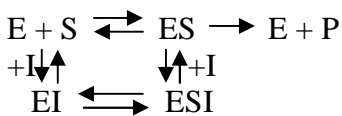
Or on a vu que plus la constante de Michaëlis était grande, plus il fallait ajouter de substrat pour obtenir la même vitesse (égale à $V_{\max}/2$), on voit donc que plus la constante K_i de l'inhibiteur est grande (note : le K_i utilisé ici, est l'inverse des K_i tabulés utilisés pour les molécules, qui correspond à la constante de dissociation de l'inhibiteur), plus lente deviendra la réaction, donc moins efficace sera l'enzyme.

Sur le graphique de Lineweaver et Burk, cela se traduit par un décalage des courbes, qui gardent la même abscisse à l'origine (en effet V_{\max} n'est pas modifiée par un inhibiteur compétitif), mais dont le coefficient directeur augmente : $1/K_m$ diminue (en valeur absolue), donc K_m augmente.

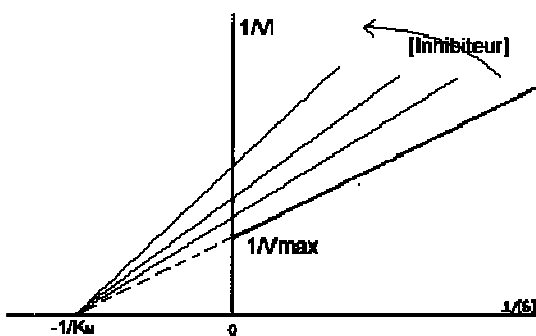


Les inhibiteurs non compétitifs peuvent se fixer à la fois sur l'enzyme libre et sur le complexe enzyme-substrat. Ils n'entrent pas en compétition avec le substrat puisqu'ils se fixent sur un autre site que celui occupé par le substrat. Cependant, ils entraînent par leur fixation une modification dans la conformation du site actif, ce qui entraîne l'inactivité de l'enzyme.

On a schématiquement :

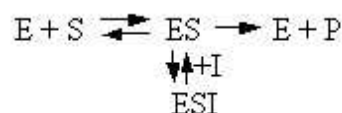


Ces inhibiteurs ne modifient donc pas l'affinité de l'enzyme pour le substrat mais diminuent la vitesse maximale, cela se traduit sur les graphiques de Lineweaver et Burk par un décalage de la courbe, qui passe par le même point en $y = 0$, mais voit son coefficient directeur augmenter : $1/V_{\max}$ augmente donc V_{\max} diminue.

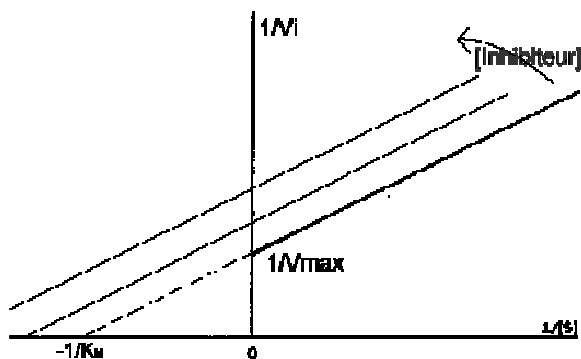


Les inhibiteurs incompétitifs, quant à eux, ne peuvent se fixer sur l'enzyme qu'après que le substrat s'y est lui-même fixé, entraînant généralement un changement de conformation de l'enzyme (qui permet donc à l'inhibiteur de s'y fixer à son tour, mais sur un autre site que celui du substrat). La fixation de l'inhibiteur entraîne à son tour une autre modification de la conformation de l'enzyme, qui la rend inactive.

On a schématiquement :



Ces inhibiteurs diminuent donc la vitesse maximale de réaction, mais diminuent également le K_m (donc augmentent l'affinité de l'enzyme pour le substrat) en déplaçant l'équilibre vers la formation du complexe ES (puisqu'ils « consomment » un produit en formant ESI). Cela se traduit sur le graphique de Lineaweaver et Burk par une translation vers le haut de la courbe, qui garde même coefficient directeur : $1/V_{max}$ augmente, donc V_{max} diminue et $1/K_m$ augmente (en valeur absolue) donc K_m diminue.



Enfin les inhibiteurs « suicides » sont cause d'une inhibition irréversible, ils se lient avec une liaison covalente à un site actif d'une enzyme, la rendant définitivement inactivée. Dans la pratique, des inhibiteurs avec une constante K_i (constante de dissociation du complexe « enzyme-inhibiteur ») très faible (inférieure à 1 nanomole), formera avec l'enzyme un complexe dont la demi-vie sera tellement longue qu'il se comportera alors comme un inhibiteur irréversible.

2 - Agonistes, antagonistes

Pour les récepteurs, on ne parle pas d'inhibiteurs, mais comme pour les enzymes, ils reconnaissent une gamme plus ou moins grande de composés qui agissent, soient comme agonistes, soit comme antagonistes. Les agonistes, provoquent en se fixant sur le site du récepteur, le même effet (à des degrés divers) que le substrat normal. Les antagonistes au contraire provoquent l'effet inverse. Il existe de même différentes affinités entre les récepteurs et les agonistes/antagonistes qui peuvent ou non être plus fortes que celle avec le substrat.

Tableau non exhaustif des agonistes et antagonistes (qui sont le plus souvent des alcaloïdes) de l'acétylcholine pour les deux types de récepteurs (dont nous parlerons dans la suite pour certains) :

Récepteurs nicotiniques		Récepteurs muscariniques	
Agonistes	Antagonistes	Agonistes	Antagonistes
Acétylcholine	d-Tubocurarine	Acétylcholine	Atropine ($C_{17}H_{23}NO_3$)
Nicotine ($C_{10}H_{14}N_2$)	(composé actif du curare)	Muscarine ($C_9H_{20}NO_2^+$)	(produite entre autres par la mandragore)
Carbachol ($C_6H_{15}N_2O_2^+$)	Succinylcholine ($C_{14}H_{30}O_4N_2^{2+}$)	(notamment produite par l'amanite tue-mouche)	Scopolamine ($C_{17}H_{21}NO_4$)
Arécoline ($C_8H_{12}NO_2$) (naturellement contenue dans les noix d'arec)	Gallamine ($C_{24}H_{45}N_3O_3$)	Carbachol ($C_6H_{15}N_2O_2^+$)	Benzotropine
Tétraméthylammonium ((CH_3) $_4$ NOH)	Mecamylamine ($C_{11}H_{21}N$)	Methalcholine ($C_8H_{18}NO_2^+$)	Pirenzipine ($C_{19}H_{21}N_5O_2$)
Subéryldicholine	Hexamethonium	Pilocarpine ($C_{11}H_{16}O_2N_2$) (extraite des feuilles de jaborandi)	
Anatoxine A (alcaloïde extrait du <i>Anabaena</i>)	α -Bungarotoxine		

B) Trois sites d'actions possibles

Il y a, dans le fonctionnement de l'acétylcholine, trois sites principaux où des perturbations peuvent intervenir : les vésicules synaptiques qui contiennent l'acétylcholine, les récepteurs à l'acétylcholine, et enfin l'acétylcholine estérase.

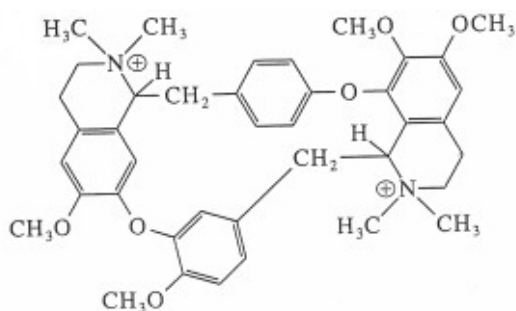
1 - Les vésicules synaptiques

Les vésicules synaptiques contenant entre 4000 et 10000 molécules d'acétylcholine en moyenne, et étant plusieurs centaines de milliers, il est évident que toute molécule qui provoquerait leur ouverture brutale, ou au contraire empêcherait l'ouverture normale, provoquerait des modifications importantes.

On peut par exemple citer l' α -latrotoxine (secrétée par l'araignée appelée « veuve noire »), d'environ 130 kDa (soit environ $2,18 \cdot 10^{-19}$ g) qui provoque une libération massive d'acétylcholine dans la jonction neuromusculaire, provoquant de spasmes musculaires, une tachycardie puis une paralysie musculaire avec défaillance respiratoire. Ainsi que la toxine botulinique composée de huit protéines allant de 135 à 170 kDa ($2,51 \cdot 10^{-19}$ g en moyenne), produite par la bactérie *Clostridium Botulinum* responsable du syndrome d'intoxication alimentaire mortel appelé botulisme, qui provoque elle une forte inhibition de la libération d'acétylcholine et dont la dose létale 50 (LD₅₀) est d'environ 1 ng/kg de souris (ce qui en fait l'un des poisons les plus violents connus à ce jour).

2 - Les récepteurs

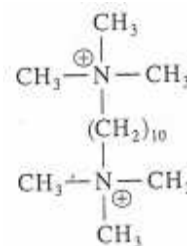
Les récepteurs sont eux sujets à l'action d'antagonistes ou agonistes de l'acétylcholine. On peut par exemple citer la d-Tubocurarine, l'espèce active du curare (poison utilisé par les indiens d'Amérique du Sud pour enduire les pointes de leur flèches) d'environ 8 kDa (soit environ $1,34 \cdot 10^{-20}$ g), qui empêche l'ouverture du canal ionique et donc la dépolarisation de la membrane post-synaptique qui entraîne une contraction musculaire.



Structure de la d-tubocurarine.

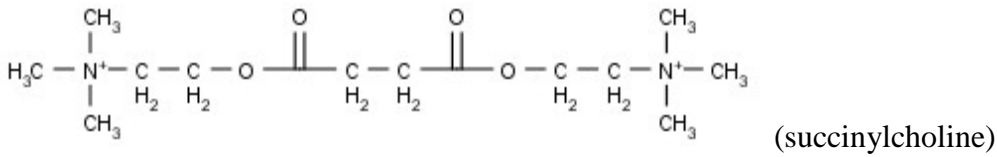
On trouve également dans le venin de serpents de puissants antagonistes à l'acétylcholine, comme par exemple l' α -cobratoxine (secrétée par le cobra royal des Indes) dont la constante de dissociation avec le récepteur est de l'ordre de $K_{\text{diss}} = 10^{-11}$, ce qui fait une liaison neurotoxique (entre la sous-unité α du récepteur et la toxine) extrêmement solide.

A l'inverse, certains agonistes en se fixant sur le récepteur provoquent une dépolarisation permanente de la membrane post-synaptique (provoquant sensiblement les mêmes effets paralytiques au final), comme par exemple le décamméthonium (ci-contre).



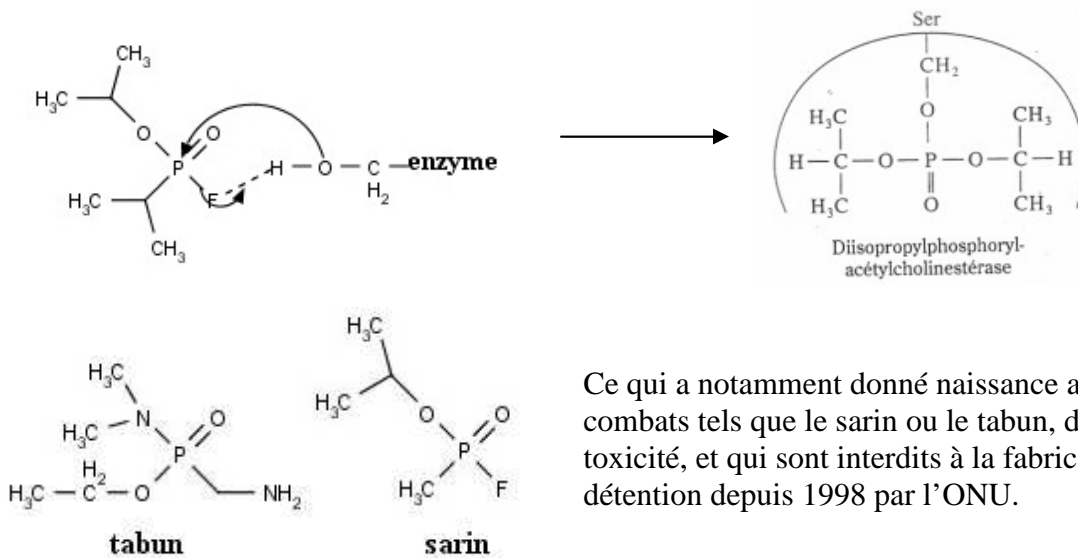
3 – L'acétylcholine estérase

L'acétylcholine estérase peut quant à elle, être inhibée de façon réversible par la succinylcholine qui est un agoniste de l'acétylcholine, mais ne s'hydrolyse que très lentement, et qui est utilisée comme relaxant musculaire lors d'opérations chirurgicales.



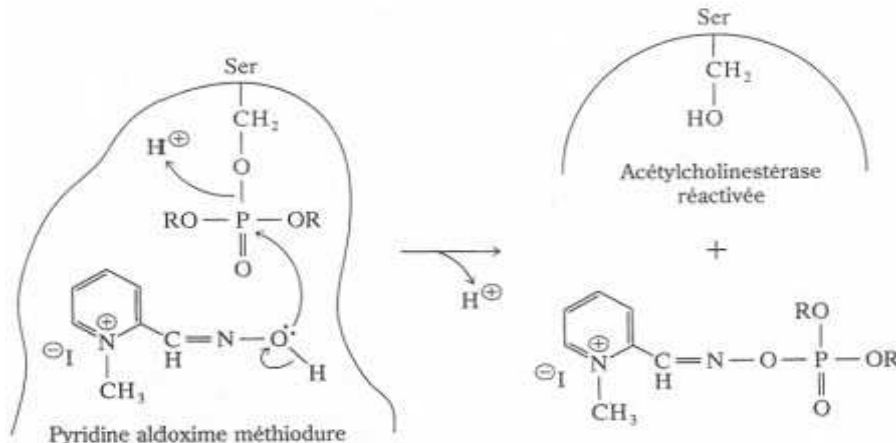
Cependant la succinylcholine a un effet de courte durée car elle est rapidement hydrolysée par la butyrylcholinestérase, enzyme non spécifique que l'on trouve dans le plasma et le foie.

En revanche, l'acétylcholine estérase, comme toutes les protéinases à sérine peut-être inhibée de manière irréversible par des alkylphosphofluoridates, tels que le diisopropylfluorophosphate (DIFP) qui forme une liaison covalente avec le groupement sérine en raison du caractère électrophile de son atome de phosphore.



Ce qui a notamment donné naissance aux gaz de combats tels que le sarin ou le tabun, de très forte toxicité, et qui sont interdits à la fabrication et à la détention depuis 1998 par l'ONU.

Cependant, il existe des molécules capables de détacher le groupement organophosphate et de libérer l'acétylcholine estérase. Par exemple l'hydroxylamine (NH_2OH) mais qui ne peut être utilisée comme antidote en raison de sa toxicité, ou bien le pyridine aldoxime méthiodure (PAM) dont l'ion ammonium quaternaire qui possède une affinité élevée pour le site de l'acétylcholine estérase « attire » la molécule près du site, avant que le groupement hydroxylamine attaque le groupe phosphoryle entraînant la libération du complexe PAM-DFP et libérant l'acétylcholine estérase.



Conclusion :

Nous avons vu, au travers de l'étude du fonctionnement de l'acétylcholine et des protéines qu'il fait intervenir, que la connaissance des mécanismes chimique internes au cerveau a permis d'expliquer l'action de substances dont on ne faisait jusqu'alors que constater les effets, et permet également de prédire l'action potentielle de nouvelles protéines, provoquant ainsi une avancée conséquente dans le domaine médical. Il existe bien entendu de nombreux autres neurotransmetteurs dont l'action précise reste encore à déterminer, et de nombreux antidotes à mettre au point contre des poisons déjà connus. La chimie du cerveau a encore un large champ d'action devant elle.

Bibliographie :

Biochimie (traité de)

Rawn (J. David Towson State University)

Éditions Universitaire

Traduit de l'anglais par Camille François Université de Liège, 1990

Biochimie

Donald Voet et Judith G. Voet

De Boeck Université.

Enzymes (catalyseurs du monde vivant)

Jean Pelmont

Collection Grenoble Sciences

Dirigée par Jean Bornarel, 1995.

Biochemistry (the chemical reactions of Living Cells)

David E. Metzler

Academic Press

Second Edition.

Remerciements à la photocopieuse de la bibliothèque de l'université Paris VI Jussieu.

Internet :

<http://atchimiebiologie.free.fr/marvin/doc/dev/oli.html> (logiciel permettant de dessiner des molécules)

<http://fr.wikipedia.org/> et <http://fr.wikipedia.org/> (notamment pour la structure de certaines molécules aux noms barbares, et l'équation de Michaëlis-Menten).

<http://www.biochimie.univ-montp2.fr/licence/enzymo/enzym1.htm> (pour l'équation de Michaëlis-Menten).

http://stl_bjb.ac-dijon.fr/bioch/begraphi.htm (pour images de représentations de Lineweaver et Burk)

<http://www.uco-bn.fr/dummy->

[3.6.2/fileadmin/template/main/Recherche%20et%20Documentation/Cours_Ph_Collas_pdf/Enzymologie%20th%20E9orique%20Bio%202%20M1.pdf](http://www.uco-bn.fr/dummy-3.6.2/fileadmin/template/main/Recherche%20et%20Documentation/Cours_Ph_Collas_pdf/Enzymologie%20th%20E9orique%20Bio%202%20M1.pdf)

(pour les constantes de catalyse)

<http://www.expasy.ch/sw3d/> (pour l'image de l'acétylcholine estérase)

<http://www-peda.ac-martinique.fr/svt/bs00c.shtml> (pour nous apprendre que la subéryldicholine pouvait s'écrire SubCh...)

<http://www.google.fr> et <http://www.yahoo.fr> pour trouver tout ce qui précède.