

## II. Le muscle lisse

### 2.1. Définition

Le muscle lisse (absence de striation) est constitué de cellules (fibres) fusiformes, allongées, mononuclées organisées en fuseaux (Cloarec et al., 1992), de diamètre de 100  $\mu\text{m}$  et de longueur de 5 mm maximum (Wehner et Gehring, 1999). Ces cellules sont plus petites que les fibres squelettiques (Calas et al., 1997), contiennent moins de mitochondries que le muscle strié, de glycogène en abondance et pas de myoglobine qui donne la couleur blanche du muscle lisse. Les cellules musculaires sont réunies entre elles par des jonctions lacunaires (Gap-Jonction) (Rieutort, 1998), formant ainsi des unités fonctionnelles. Sa commande motrice est dite involontaire, car elle dépend du système nerveux végétatif (Calas et al., 1997) et des hormones, et échappent à un contrôle volontaire (sauf la vessie) (Eckert et al., 1999). La plupart des muscles lisses font partie de la paroi des viscères creux et des organes tubulaires (Sherwood, 2000). Ils constituent les parois des artères, des voies aériennes du tube digestif et de l'appareil reproducteur, d'où leur nom de muscles viscéraux (Calas et al., 1999).

A l'échelle ultra-structurale, les myofilaments du muscle lisse sont rassemblés en faisceaux de filament épais et fins (Eckert et al., 1999), dont l'intégration lors de la contraction est soutenue par un type de filaments intermédiaires qui forment des corps denses, là où ils s'entrecroisent aux points d'attachement à la face cytoplasmique du sarcolemme (Gartner et Hiatt, 1997). Ces plaques contiennent l'actinine  $\alpha$  qui est présente dans le disque Z du muscle squelettique et une protéine la vinculine, qui n'existe pas dans le disque Z. Dans ces fibres, la vinculine se lie à l'actinine  $\alpha$  et accroche les filaments d'actine au sarcolemme (Eckert et al., 1999).

Le réticulum sarcoplasmique est composé uniquement de vésicules lisses près de la face interne de la membrane plasmique (Eckert et al., 1999), car le sarcolemme du fait du rapport: surface/volume élevé de la cellule peut assurer lui-même la fonction de régulation des ions  $\text{Ca}^{2+}$ , réalisé ailleurs par les membranes du réticulum sarcoplasmique (Rieutort, 1998; Wehner et Gehring, 1999).

Les filaments contractiles d'actine et de myosine étant disposés de manières moins ordonnées que les muscles striés (Nielsen, 1998), mais peuvent, cependant, constituer des ponts: la proportion relative d'actine et de myosine est supérieure à celle du muscle squelettique de telle sorte que pour chaque filament épais de myosine, il peut y avoir une dizaine de filaments minces d'actine. Par ailleurs, les limites de longueur réglant la tension du muscle lisse sont beaucoup plus grandes du fait notamment de l'absence du disque Z et de l'agencement des filaments (Calas et al., 1997). Les muscles lisses ne présentent pas des

bandes transversales du système tubulaire, ni de faisceaux réguliers de myofilaments caractéristiques du muscle strié. Le sarcolemme présente de nombreuses invaginations semblables à des vésicules de pinocytoses qui possèdent un aspect fonctionnel, même, si elles n'ont pas de structure de tubule T (Gartner et Hiatt, 1997).

L'actine et la myosine présents dans le muscle lisse sont des isoformes différents de cellules des muscles. Les isoformes d'une protéine diffèrent entre eux par les séquences d'acides aminés, mais les séquences ont des stimuli très forts qui permettent de dire que ne sont pas des variantes d'une même protéine (Nielsen, 1998). Alors que les filaments épais et fins du muscle lisse ne sont pas arrangés en myofibrilles, ils sont organisés de manière à avoir un alignement oblique par rapport à l'axe longitudinal de la cellule. Les molécules de la myosine du muscle lisse sont inhabituelles puisque la forme légère de la méromyosine est repliée de telle manière que son extrémité libre se relie à une région fine de la portion globulaire (Gartner et Hiatt, 1997).

Les filaments du muscle lisse sont attachés aux corps denses dans le cytosol et aussi à la membrane plasmique (Freeman, 2000). Il y a trois types de filaments dans la cellule du muscle lisse:

1. Les filaments épais de myosine: ils sont plus longs que dans le muscle squelettique (Scherwood, 2000) et possèdent une activité ATPasique bien plus faible que celles des fibres striés, mais ils ont une activité kinase spécifique que ne possède pas la myosine des fibres striés (Rieutort, 1998).

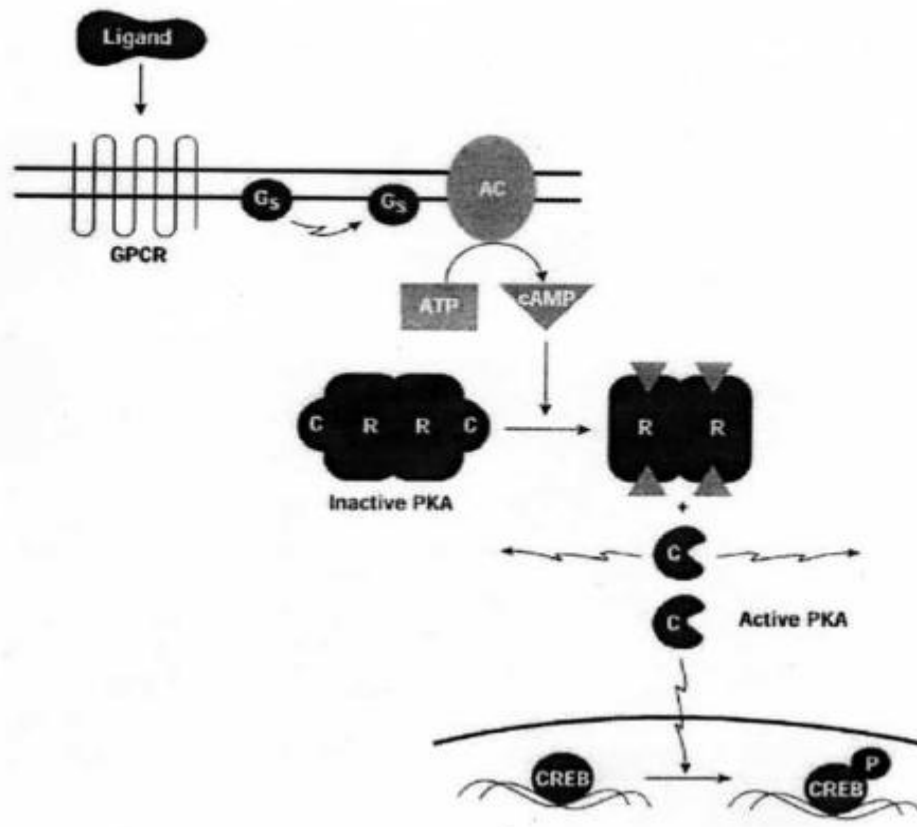
2. Les filaments fins d'actine: ils sont dépourvus de troponine (Rieutort, 1998).

3. Les filaments de taille intermédiaire: ils sont propres aux muscles lisses qui ne semblent pas intervenir directement dans la contraction, mais font partie du cytosquelette responsable de la conservation de la forme de la cellule (Sherwood, 2000).

## **2.2. Mécanisme d'action de la PKA**

### **a. Activation**

Chaque PKA est une holoenzyme qui est constituée de deux sous unités catalytiques et deux sous unités régulatrices (Walter et Boron, 1997). La PKA est activée selon la teneur de l'AMP<sub>c</sub>. Si la teneur est basse, la PKA devient intacte et catalytiquement inactive (Rang, 2003). Si la concentration de l'AMP<sub>c</sub> augmente, la PKA est activée par l'adénylate cyclase, les récepteurs couplés aux protéines G et par l'inhibition de l'enzyme PDE qui dégrade l'AMP<sub>c</sub> (Mahesh et al., 2003). Donc l'AMP<sub>c</sub> se lie aux deux sites de la sous unité régulatrice qui provoque un changement de la conformation et libère la sous unité catalytique (Walter et Boron, 1997; Rang, 2003;) (Fig. 3).



**Figure 03:** La cascade de la PKA. La fixation du ligand au récepteur couplé à la protéine G active la protéine G stimulatrice (Gs). La protéine G<sub>s</sub> activée interagit avec l'adénylate cyclase ; ce qui provoque l'accumulation de l'AMP<sub>c</sub>. La fixation de l'AMP<sub>c</sub> sur les sous unités régulatrices de la PKA induit la libération des sous unités catalytiques. Ces dernières phosphorylent plusieurs protéines dans le cytoplasme et le noyau. Parmi ces protéines, les CREB (cAMP Response Element Binding Protein) qui augmente l'activation de la transcription (Tasken et al., 1995).

## **b. Catalysation**

Les sous unités catalytiques libérées sont capables de transférer le phosphate terminal de l'ATP vers la sérine ou la thréonine du substrat (Walter et Boron, 1997). Cette phosphorylation résulte d'un changement de l'activité du substrat (Walter et Boron, 1997). Du fait que, les PKA sont présentes dans une variété de cellule et interagissent avec différents substrats. La PKA et la régulation de l'AMP<sub>c</sub> sont impliquées dans différentes voies (Rang, 2003). Les mécanismes qui ont des effets sont divisés en phosphorylation directes et synthèse des protéines (Walter et Boron, 1997).

Dans la phosphorylation directe des protéines, la PKA augmente ou diminue l'activité des protéines (Rang, 2003) et dans la synthèse des protéines, la PKA active directement les protéines de liaison à l'élément de réponse à l'AMP<sub>c</sub> (CREB), en altérant la transcription et par conséquent la synthèse des protéines (Walter et Boron, 1997). Ce mécanisme prend généralement beaucoup de temps (une heure ou une journée) (Walter et Boron, 1997).

## **c. Inactivation**

La PKA est contrôlée par l'AMP<sub>c</sub> et la sous unité catalytique. Elle est capable d'être réguler elle-même par la phosphorylation (Mahesh et al., 2003). L'un des substrats activés par la kinase est la PDE qui convertit l'AMP<sub>c</sub> en AMP et réduit la quantité de l'AMP<sub>c</sub> qui peut activer la PKA (Mahesh et al., 2003).

## **d. Ancrage**

Les deux sous unités régulatrices de la PKA sont importantes pour localiser la kinase à l'intérieur de la cellule à l'aide de la protéine ancrant la kinase A (AKAP) (Mahesh et al., 2003; Rang, 2003). L'AKAP se lie à la sous unité régulatrice et aux composés de la structure du cytosquelette ou aux membranes des organites ancrants le complexe de l'enzyme à un compartiment subcellulaire particulier (Walter et Boron, 1997). La fonction catalytique de la PKA peut être couplée avec l'AKAP, reliant la PKA et la PDE pour former un complexe qui fonctionne comme un signal. Par exemple, une AKAP localisée à côté du noyau des cellules musculaires cardiaques peut se lier à la PKA et à la PDE qui hydrolyse l'AMP<sub>c</sub> (Mahesh et al., 2003). La PDE contribue à la concentration faible et stable de l'AMP<sub>c</sub> dans les cellules non stimulées. Dans les cellules stimulées, la PKA est responsable de l'activation de la phosphodiesterase (adjacente à la PKA) pour diminuer la concentration de l'AMP<sub>c</sub> (Walter et Boron, 1997).

### 2.3. Les fonctions de la PKA

La PKA est une enzyme dépendante d'un second messager (Smith et al., 1997); elle est impliquée dans plusieurs processus cellulaires incluses dans la transcription (Huggenvik, 1991), le métabolisme (Hubbard et Chen, 1993), le cycle de progression cellulaire (Matten et al., 1994) et l'apoptose (Gjersten et Doskeland, 1995). La PKA est une enzyme qui contrôle la croissance, la mémoire et le métabolisme.

A leur tour les PKA ont des fonctions variées: mobilisation du glycogène, modification de la perméabilité membranaire, sécrétion de nouveaux constituants, prolifération cellulaire et traduction aux niveau des ribosomes (Pelmont, 1993). Elles phosphorylent aussi d'autre protéines (Walter et Boron, 1997).

La voie de la PKA contrôle de nombreuses fonctions incluant la biogénèse des ribosomes, la réponse au stress (Zurita- Martinez et Cardenas, 2005), le contrôle de la transcription et le métabolisme (Pedruzzi et al., 2003) et la régulation de l'expression des gènes (Schnelzle et al., 2004).

### 2.4. Rôle de la PKA dans la relaxation du muscle lisse

La relaxation musculaire implique l'AMP<sub>c</sub> et le GMP<sub>c</sub> qui induisent la diminution de la concentration du Ca<sup>2+</sup> intracellulaire et par l'activation de la MLCP (Tajimi et al., 1995). Les kinases agissent par:

- 1 – Inhibition du métabolisme du phosphoinositide et de la libération du Ca<sup>2+</sup> intracellulaire.
- 2 – Augmentation du potentiel membranaire qui induit la stimulation des canaux K<sup>+</sup> et l'inhibition des canaux Ca<sup>2+</sup>.
- 3 - Diminution de la sensibilité des protéines contractiles au Ca<sup>2+</sup> (Murthy et al., 1993).

La stimulation du récepteur adrénergique par l'adrénaline augmente la concentration de l'AMP<sub>c</sub> dans les cellules musculaires et active la PKA. Dans les cellules du muscle lisse un des substrats de cette enzyme est la MLCK (Karakaki et al., 1997). La phosphorylation de la MLCK par la protéine kinase affaiblit sa liaison au complexe Ca<sup>2+</sup>/ Calmoduline (Ca<sup>2+</sup>/CAM), ce qui inactive cette enzyme (Darnell et al., 1989). La déphosphorylation de la MLCK par la phosphatase transforme la kinase en une forme qui lie fortement le complexe Ca<sup>2+</sup>/CAM. Donc, la phosphorylation de la MLCK entraîne la déphosphorylation d'une chaîne légère de myosine, ce qui produit la relaxation du muscle lisse (Aldestein et Eisenberg, 1980).

La relaxation du muscle lisse se fait par deux manières, la relaxation passive avec l'isolement des agents contractiles et la relaxation active qui résulte de l'activation de la PKA et aussi la PKG en présence des agents de contraction (Abdelatif, 2001).

La PKA provoque la phosphorylation de plusieurs substrats qui induisent la relaxation du muscle lisse avec diminution de la concentration du  $\text{Ca}^{2+}$  et la phosphorylation de la MLC (Abdelatif, 2001).

La contraction du muscle lisse est terminée spontanément par des mécanismes qui ciblent des récepteurs ou la protéine G, ou directement par l'exposition à des agonistes relaxants (Murthy, 2006). Les mécanismes initiés par ces agonistes sont éventuellement orientés vers la déphosphorylation de la MLC et peuvent être la cible d'un ou de plusieurs stades de la voie de signalisation (médiateur initial ou terminal de la phosphorylation de la MLC) (Murthy, 2006).

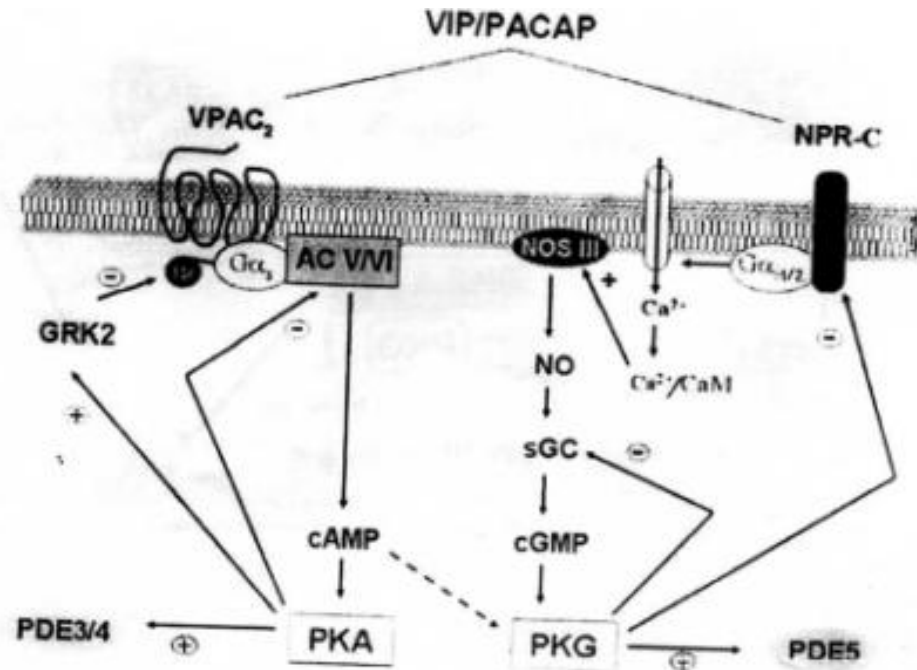
La relaxation du muscle lisse dans les viscères reflète le jeu combiné entre la monoxyde d'azote synthase (NOS) et le neurotransmetteur peptidique vasoactif intestinal (VIP) et leur homologue, le peptide pituitaire activant l'adénylate cyclase (PACAP), qui est un processus identique dans le muscle lisse (Murthy, 2006).

Le NO formé dans le nerf terminal par la NOS neuronale régule le "VIP" libre, qui stimule la NOS III du muscle et génère le NO (Murthy, 2006). Le NO dérivant du nerf et les muscles lisses stimulent l'activité de la guanylate cyclase et la formation du  $\text{GMP}_c$  (Grider et al., 1992; Teng et al., 2001). En addition, le VIP interagit avec les récepteurs VPAC2 pour stimuler l'activité de l'adénylate cyclase et la formation de l' $\text{AMP}_c$  (Murthy, 2006).

La génération de l' $\text{AMP}_c$  et du  $\text{GMP}_c$  et l'activation de la PKA et de la PKG sont la norme physiologique (Murthy, 2006); ce qui augmente considérablement la teneur en nucléotide cyclique, l'activité des cyclases et des PDE, et l'activité de la PKG (Murthy, 2006). La PKA et/ou la PKG induisent la désensibilisation des récepteurs et inhibent l'activité de l'adénylate ou de la guanylate cyclase et la stimulation de la PDE3 et de la PDE4 spécifiques de l' $\text{AMP}_c$  et la PDE5 spécifique du  $\text{GMP}_c$  (Murthy et al., 1993; Francis et al., 2001) (Fig.04). Les kinases induisent la relaxation du muscle lisse par l'inhibition de la mobilisation du  $\text{Ca}^{2+}$ , la phosphorylation de la MLC, et inhibe la MLCP (Murthy, 2006) (Fig. 05).

La PKA et la PKG induisent la relaxation du muscle par la déphosphorylation de la MLC. Les deux kinases phosphorylent les RGS4 et stimulent la désactivation de la protéine  $\text{G}_{\alpha q}$ , ce qui provoque l'inhibition de la  $\text{PLC-}\beta_1$  et la formation de l' $\text{IP}_3$ . La PKG phosphoryle les récepteurs de l' $\text{IP}_3$  ( $\text{IP}_3\text{R-I}$ ) et la pompe  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase du réticulum sarcoplasmique, en inhibant la libération du  $\text{Ca}^{2+}$  et stimule le recaptage du  $\text{Ca}^{2+}$ . Les deux kinases inhibent la mobilisation du  $\text{Ca}^{2+}$  dans les muscles longitudinaux par inhibition de la phospholipase  $\text{A}_2$  cytosolique et les récepteurs ryanodine. Tous ces mécanismes réduisent le taux du  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire et inhibent la MLCK et la phosphorylation de la MLC et par conséquent la

contraction. La PKA et la PKG inactivent la RhoA par phosphorylation de la RhoA active au niveau de la sérine 188 et provoque sa translocation vers le cytosol. Elles peuvent aussi phosphoryler la MYPT1 au niveau de la sérine 695. Un mécanisme indépendant de la RhoA implique la stimulation de la phosphorylation des télokines, un activateur endogène de la MLCP, par la PKA et la PKG (Murthy, 2006). Ils activent aussi les récepteurs natriurétiques du peptide C (NPRC) couplés aux protéines  $G_{\alpha 1}$  et  $G_{\alpha 2}$  par l'influx du  $Ca^{2+}$  en activant le complexe  $Ca^{2+}/CAM$  d'une part et la NOS III d'autre part qui génère le NO et active la guanylate cyclase soluble produisant le GMPc et l'activation de la PKG. L'activation de la protéine  $G_{\alpha 1/2}$  est médiée par une séquence de 17 acides aminés dans la région médiane de NPR-C. La PKA et la PKG font séparément la désensibilisation des récepteurs VPAC<sub>2</sub> et NPR-C en inhibant l'adénylate cyclase et la guanylate cyclase, et activant la PDE<sub>3</sub> A, la PDE<sub>4</sub> spécifique pour l'AMP<sub>c</sub> et la PDE<sub>5</sub> spécifique pour le GMP<sub>c</sub> (Murthy, 2006).



**Figure 04:** Initiation de la voie de signalisation par les neuropeptides relaxants VIP et PACAP et l'initiation par la PKA et la PKG. Le VIP et le PACAP activent les récepteurs VPAC<sub>2</sub> couplés à la protéine G<sub>s</sub> ; ce qui active l'adénylate cyclase et augmente le taux d'AMP<sub>c</sub> et par conséquent l'activation de la PKA. Ils activent aussi les récepteurs (NPR-C) couplés aux protéines G<sub>ai1</sub> et G<sub>ai2</sub> ; ce qui provoque l'influx du Ca<sup>2+</sup> et par conséquent l'activation de la NOS III par le complexe Ca<sup>2+</sup> / CaM. Ce qui induit l'activation de la guanylate cyclase soluble-NO-dépendante. Cette dernière active la PKG par élévation du taux de GMP<sub>c</sub>. La PKA et la PKG agissent séparément en inhibant l'adénylate cyclase et la guanylate cyclase soluble et active les PDE 3, 4 et 5 (Murthy, 2006).

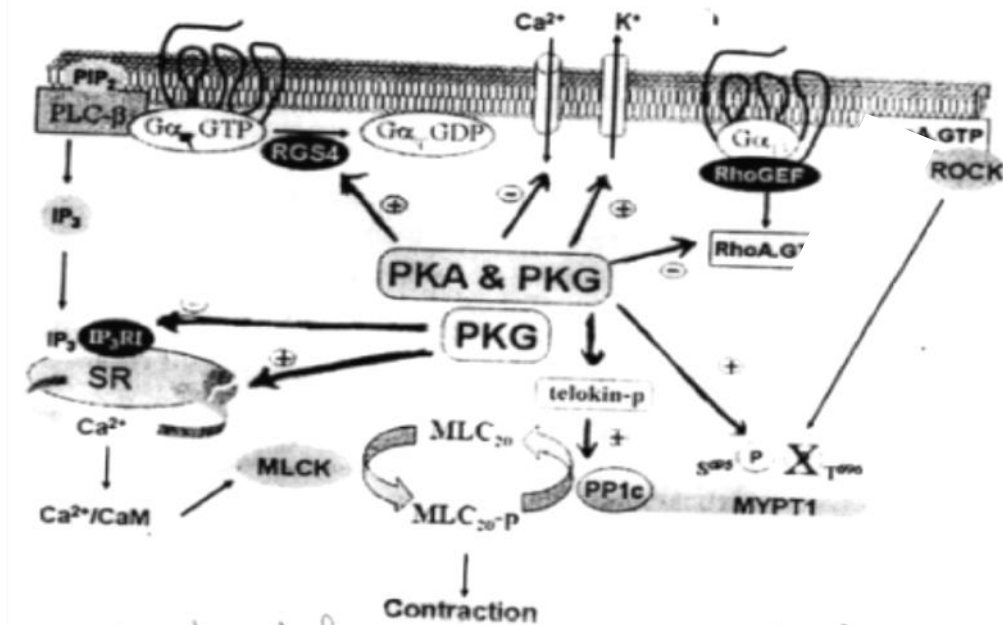
(+): stimulation; (-): inhibition

PACAP: Pituitary Adenylate Cyclase –Activating Peptide

VPAC<sub>2</sub>: Vasoactive Pituitary Adenylate Cyclase-2

NPRC: Natriuretic Peptide Receptor C

GRK<sub>2</sub>: G protein Coupled Receptor Kinases 2



**Figure 05:** Le rôle de la PKA et la PKG dans la relaxation du muscle lisse (Murthy, 2006).

(+): stimulation; (-): inhibition.

PLC-β1: Phospholipase C-β<sub>1</sub>

IP3R-I: Inositoltriphosphate Receptor