

Contractures cholinergiques, ou : le médiateur chimique dans le couplage entre cellules excitables

Manipulation de physiologie permettant de mettre en évidence la notion de médiateur chimique au niveau d'une synapse neuromusculaire et de donner un exemple de relation Effet-Dose.

► On trouvera le principe de cette manipulation, les résultats et conclusion dans l'article : « Contractures cholinergiques » de ce même Bulletin 4-1986.

MATERIEL

- un *Lombric*
- un poste de myographie isométrique
- un corps de seringue de 20 ml en *altuglass*
- une pipette pasteur coudée selon le modèle (figure 1)
- un bulleur à aquarium
- du tuyau de *rhodorsil*, un prince de Mohr et une seringue de 20 ml.

SOLUTIONS

1. Solution physiologique de référence : Solution de Ringer

| | |
|-----------------------------|--|
| NaCl | : 102,4.10 ⁻³ M soit 5,984 g |
| KCl | : 2,5.10 ⁻³ M soit 0,186 g |
| CaCl ₂ (anhydre) | : 1,8.10 ⁻³ M soit 0,199 g |
| NaHCO ₃ | : 2,4.10 ⁻³ M soit 0,201 G pour un pH de 7,4. qsp 1 l d'eau désionisée. |

2. Solution de Ringer éseriné

Ajouter 1,54.10⁻³ M d'éserine (soit 1 mg) dans 1 l de solution de Ringer.

3. Solutions de contraction (Ringer + Ach)

Le Ringer éseriné est additionné de chlorure d'acétylcholine (disponible en ampoules ou en poudre). Les concentrations s'étagent de 5,5.10⁻³ moles/l à 5,5.10⁻⁹ moles/l sont obtenues par dilutions successives avec du Ringer éseriné d'une solution de chlorure d'acétylcholine de 5,5.10⁻³ moles/l (soit 1 g/l).

Exemples de fournisseurs :

- Seringues, pipette pasteur : Poly-Labo, BP 36, 67023 Strasbourg Cedex
- Chlorure d'acétylcholine (PM = 181,67)
 - en ampoules (0,20 g pour une ampoule de 1 ml) : Laboratoire Lematte et Boinot.
 - en poudre : Prolabo, 261, rue Jean-Jaurès, 59650 Villeneuve d'Ascq.
- Sulfate d'éserine (Physostigmine) (PM = 648,78) : Prolabo.

PRÉPARATION

Le *Lombric* non anesthésié (si possible), placé dans une cuve à dissection contenant du liquide physiologique (de Ringer), est tronçonné par ablation céphalique et caudale (fig. 1). Le tronçon ainsi isolé est tendu en épinglant ses deux extrémités. Il est sectionné latéralement et longitudinalement sur toute sa longueur (selon les pointillés, voir fig. 2) à l'aide de ciseaux fins. Des deux moitiés, seule sera conservée la partie dorsale, celle qui ne comporte pas la chaîne nerveuse.

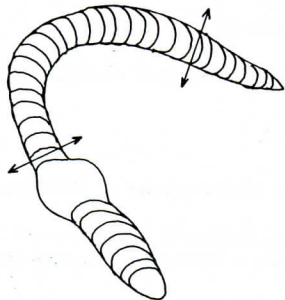


Fig. 1. — Prélèvement de la préparation (*Lombric*)

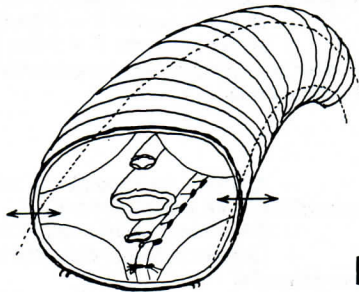


Fig. 2. — Isolement de la musculature dorsale

La face interne est dégagée à la pince des restes du tube digestif, du vaisseau dorsal et du conjonctif. Chacune des deux extrémités est ligaturée solidement à l'aide d'un fil de couturière. Avant d'être utilisée, la préparation est conservée dans du liquide physiologique constamment renouvelé.

MONTAGE

Le lambeau musculaire est introduit dans la cuve à organe isolé remplie au préalable de liquide physiologique éseriné. L'une des extrémités est fixée au bulleur placé dans la cuve. L'autre extrémité est reliée au myographe par l'intermédiaire du fil. Un allongement du muscle (de l'ordre de 20 à 25 p. 100 de sa longueur de repos) sera réalisé par déplacement du myographe (voir schéma fig. 3).

L'oxygénation du bain est réalisée grâce à une pompe à aquarium par exemple (quelques bulles/sec).

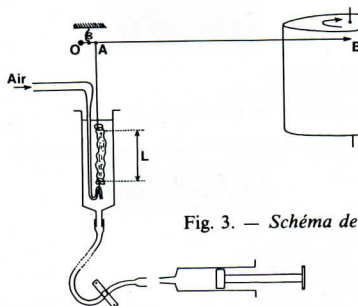


Fig. 3. — Schéma de montage

MANIPULATION

Avant expérimentation, la préparation est maintenue pendant une dizaine de minutes dans la cuve contenant du Ringer éseriné, temps suffisant pour inhiber l'action éventuelle de l'acétylcholinestérase.

Le phénomène mécanique est enregistré en continu (vitesse lente du cylindre enregistreur) lors de l'introduction dans la cuve des milieux additionnés d'acétylcholine. L'introduction de ces milieux dans la cuve (au préalable vidée de son contenu) est réalisée assez rapidement à l'aide d'une seringue tout en évitant les « turbulences ». Lorsque la tension mécanique s'est stabilisée, vider, puis rincer deux fois de suite. Attendre une dizaine de minutes avant de tester un autre milieu de contraction (si une seule série expérimentale est prévue, tester les solutions par ordre croissant de concentration).

Étalonner le myographe à l'aide de masses marquées.

RÉSULTATS

- Tracer la courbe d'étalonnage
 - Mesurer le déplacement maximum du stylet pour chaque valeur de concentration d'Ach ([Ach])
 - A l'aide de la courbe d'étalonnage, déterminer la force (F) développée par la musculature dorsale du *Lombric* pour chaque valeur de [Ach]
 - Tracer la courbe $F = f([Ach])$ (F en N; [Ach] en moles/l)
 - Tracer la courbe $F = f(\log [Ach])$.
- Voir les exemples de myogrammes obtenus, dans ce *Bulletin* 4-1986, dans l'article : « Contractures cholinergiques ».

ANALYSE

- Analyser cet exemple de relation Effet (contracture cholinergique) — Dose (concentration extracellulaire en Acétylcholine)
- Déterminer [Ach] seuil, [Ach] optimum, F maximum, [Ach] pour F maximum/2
- Dégager la notion d'association Substrat (Acétylcholine) — Récepteur (récepteur cholinergique membranaire)
- Dégager la notion de médiateur chimique dans la transmission synaptique (motoneurone — cellule musculaire). ■