

Ryr

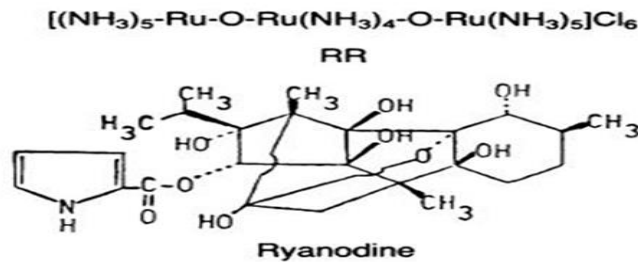
INTRODUCTION

Dans le domaine de la recherche sur le récepteur de la ryanodine **l'étude commence vraiment en 1984** par une meilleure connaissance de la préparation et l'isolation du réticulum sarcoplasmique. Une analyse poussée en microscopie électronique permet chez le lapin de mieux définir la citerne terminale du réticulum sarcoplasmique. Ainsi chronologiquement on va découvrir l'histoire de la découverte du Ryr.

On trouve alors une méthode de [préparation et des images sur la morphologie des citernes terminales du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique de lapin](#). Il est mis au point une procédure pour isoler, à partir de muscles squelettiques, des citernes terminales enrichies du réticulum sarcoplasmique (SR), qui conservent des structures de "pieds" de jonction morphologiquement intactes, similaires à celles observées in situ. La fraction est largement dépourvue de tubules transversaux, de membrane plasmique, de mitochondries, de triades (tubules transversaux associés de manière jonctionnelle à des citernes terminales) et de citernes longitudinaux, comme le montre la microscopie électronique en coupe fine d'échantillons représentatifs. **Les vésicules des citernes terminales ont des caractéristiques morphologiques distinctes qui diffèrent des citernes longitudinales isolées** (SR légers) obtenus à partir du même gradient.

En 1985, il existe alors une [localisation plus précise des canaux de libération du calcium avec la ryanodine dans les citernes terminales jonctionnelles du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique rapide](#). Il est alors question de l'étude du processus de libération du calcium a consisté à isoler et à caractériser des fractions membranaires purifiées se rapportant à des segments définis du système sarcotubulaire du muscle squelettique de lapin, y compris le plasmalemme, les triades - c'est-à-dire l'association jonctionnelle du tubule transverse avec les citernes terminales- et les citernes terminales jonctionnelles et longitudinales du SR. Une caractéristique unique des citernes terminales jonctionnelles est qu'ils ont un faible taux de chargement en calcium, qui peut être multiplié par 5 ou plus par l'ajout [de rouge de ruthénium \(RR\)](#). Le colorant inorganique oxychlorure de ruthénium ammonié, également connu sous le **nom de rouge de ruthénium**, est utilisé en histologie pour colorer les mucopolysaccharides fixés par des aldéhydes. Cette étude décrit l'action **médicamenteuse de la ryanodine sur les citernes terminales jonctionnelles en bloquant l'action du RR**. La formule de la ryanodine est présentée ci-contre.

Formule de la ryanodine utilisée dans l'étude sur les citernes terminales jonctionnelles et qui bloque l'action du Rouge de ruthénium (RR).



En référence à l'étude menée par
Fleicher et al., Proc Natl Acad Sci U S A , 1985 Nov;82(21):7256-9.

L'utilisation de la ryanodine fournit des preuves que l'action de la ryanodine est sur le mécanisme de libération de calcium et soutient l'idée que la libération de calcium est localisée dans les citernes terminales du réticulum sarcoplasmique (SR).

La même année une autre étude révèle des données sur [le complexe récepteur de la ryanodine et du calcium dans le muscle squelettique et cardiaque](#). La [3H]Ryanodine se lie avec une grande affinité à des sites saturables et dépendants du Ca^{2+} dans des préparations de réticulum sarcoplasmique (SR) lourd provenant de muscles squelettiques et cardiaques de lapin. Le rouge de ruthénium, connu pour interférer avec la libération de Ca^{2+} induite par le Ca^{2+} à partir des vésicules du RS, inhibe la liaison spécifique de la [3H] ryanodine dans les préparations squelettiques et cardiaques, tandis que Mg^{2+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} et La^{3+} inhibent sélectivement la préparation squelettique. La pertinence toxicologique du site de liaison de la [3H] ryanodine est établie par la corrélation entre l'inhibition de la liaison et la toxicité de sept ryanoides, dont deux insecticides botaniques. **Ces résultats fournissent une preuve directe de l'existence de complexes Ca^{2+} -récepteur de la ryanodine qui pourraient jouer un rôle dans le couplage excitation-contraction.**

En 1987, la recherche porta sur le récepteur de [la ryanodine purifié du réticulum sarcoplasmique des muscles squelettiques qui figure comme un pore perméable au calcium et forme ainsi un canal de libération du calcium](#). Le récepteur de la ryanodine du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique de lapin a été purifié par chromatographie d'immunoaffinité **sous la forme d'un polypeptide unique d'environ 450 000 Da**. Il a été démontré qu'il médiait une activité de canal unique identique à celle du canal de libération du calcium du réticulum sarcoplasmique traité par la ryanodine. Le canal du récepteur de la ryanodine d'environ 450 000 Da représente donc l'état ouvert à long terme "altéré par la ryanodine" du canal de libération du calcium du réticulum sarcoplasmique. Il est alors proposé que le récepteur de la ryanodine constitue le pore physique qui permet la libération du calcium du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique.

Puis la même année une autre équipe de recherche décrivait une méthode d'[isolation du récepteur de la ryanodine du réticulum sarcoplasmique cardiaque et son identification comme situé dans les structures baptisées « feet structures »](#). Cette étude indique en particulier qu'il existe des différences distinctes : 1) le M_r du récepteur est légèrement plus grand pour le muscle squelettique (M_r approximativement 360 000) ; 2) **le récepteur purifié du cœur présente deux affinités différentes** pour la liaison à la ryanodine avec des valeurs de K_d

variants de nanomolaire à micromolaire, contrastant avec celui du muscle squelettique au niveau du réticulum sarcoplasmique (SR) qui ne montre que la liaison à haute affinité ; 3) l'affinité du récepteur cardiaque purifié pour la ryanodine était 4-5 fois plus élevée que celle du muscle squelettique, mesurée dans des conditions identiques. La plus grande sensibilité à la ryanodine dans le cœur intact peut être directement expliquée par la liaison plus étroite du récepteur de la ryanodine du cœur. La présente étude suggère qu'un mécanisme fondamentalement similaire (le récepteur de la ryanodine et la structure baptisée « feet structures ») est impliqué dans le déclenchement de la libération de calcium à partir du SR du muscle cardiaque et du muscle squelettique, **bien qu'il existe des différences distinctes dans la sensibilité à la ryanodine et à d'autres ligands dans le cœur par rapport au muscle squelettique.**

Puis la même année, une nouvelle étude [confirme la preuve de l'existence d'un complexe jonctionnel pieds-récepteurs de la ryanodine provenant du réticulum sarcoplasmique](#). Des vésicules lourdes du réticulum sarcoplasmique, marquées avec la sonde du canal de libération du calcium, le [3H]ryanodine, ont été solubilisées dans un détergent, puis centrifugées sur des gradients de saccharose. Un pic unique d'activité de liaison à la ryanodine a été observé avec un coefficient de sédimentation apparent de 30S. La microscopie électronique de la fraction du pic a montré des structures en disque de 25-28 nm de diamètre et de 10 nm d'épaisseur. Les protéines spécifiquement enrichies dans la fraction de pointe étaient les protéines Mr 160 000 et 260 000 et les protéines pieds jonctionnelles (Mr 320 000 et 300 000). **Ceci suggère que les protéines pieds et le récepteur de la ryanodine peuvent être spécifiquement associés dans un grand complexe oligomérique comprenant des sous-unités de Mr 160 000-320 000.**

En 1988, c'est alors une étude qui permet l'[identification et la purification d'une protéine de couplage des tubules transversaux qui se lie au récepteur de ryanodine au niveau des citernes terminales à la jonction triadique dans le muscle squelettique](#). Dans les muscles squelettiques à contraction rapide, le signal de couplage excitation-contraction est transféré du tubule transverse à travers la jonction triadique ; le calcium est ainsi libéré de la citerne terminale du réticulum sarcoplasmique, déclenchant la contraction musculaire. Récemment, les structures des pieds des citernes terminales, qui comblent l'espace à la jonction triadique, ont été identifiées comme le récepteur de la ryanodine et, à leur tour, comme **les canaux de libération du calcium du réticulum sarcoplasmique. et se sont révélées équivalentes aux structures présentes et baptisées « feet structures ».**

Puis l'étude suivante montre que [la reconstitution du canal de libération du calcium du muscle cardiaque purifié \(récepteur de la ryanodine\) est possible dans des bicouches planaires](#). Les caractéristiques du canal de libération du calcium du muscle squelettique et du cœur sont similaires en ce qu'elles : 1) sont constitués d'un oligomère d'un seul polypeptide de haut poids moléculaire (Mr 360 000 pour le muscle squelettique et 340 000 pour le cœur) ; 2) existent morphologiquement sous la forme d'une structure de pied ; 3) sont activés (ATP, Ca²⁺, ryanodine) et inhibés (rouge de ruthénium et Mg²⁺) par un certain nombre des mêmes ligands. Les différences importantes sont les suivantes : 1) l'activation par le Ca²⁺ à une

concentration plus faible de Ca^{2+} pour le cœur ; 2) une stabilisation plus spectaculaire par la ryanodine de l'état ouvert pour le canal du muscle squelettique ; et 3) des perméabilités relatives différentes (PCa/PK).

En 1989, dans cet article il est rapporté de nouvelles informations sur [le récepteur de ryanodine du muscle et son activité intrinsèque de canal calcique](#). En utilisant la ryanodine, une sonde spécifique de la libération de calcium un complexe protéique 30 S composé de quatre polypeptides de Mr approximativement 400 000 a été isolé. La reconstitution des complexes 30 S purifiés des muscles squelettiques et cardiaques dans des bicouches lipidiques planaires a induit des courants de canaux calcium uniques avec une conductance et une cinétique de déclenchement similaires à celles des canaux natifs de libération du calcium. **La microscopie électronique a révélé une similitude structurelle avec les ponts protéiques (" pieds ") qui enjambent la jonction entre les tubules transversaux et le réticulum sarcoplasmique.** Ces résultats suggèrent que le muscle strié contient un canal intracellulaire de libération du calcium qui est identique au récepteur de la ryanodine et aux structures des pieds qui enjambent les tubules transversaux et le réticulum sarcoplasmique.

Avec de plus la même année des données sur [les états de conductance multiples du complexe de canaux de libération du calcium purifié du réticulum sarcoplasmique squelettique](#). Le canal purifié était perméable aux ions monovalents comme le Na^+ , avec un rapport de perméabilité PCa/PNa d'environ 5, et était hautement sélectif pour les cations par rapport aux anions. Le canal purifié présentait également au moins quatre niveaux de conductance distincts pour les ions conducteurs Na^+ et Ca^{2+} , le principal niveau de sous-conduction dans les tampons NaCl possédant la moitié de la valeur de conductance de l'état de conductance principal. Ces niveaux peuvent être produits par des sous-conductances intrinsèques présentes dans l'oligomère du canal. Plusieurs de ces conductances peuvent être couplées de manière coopérative pour produire la conductance Ca^{2+} unitaire caractéristique de 100 ± 10 pS du canal natif.

En 1990, une étude découvre [le gène du récepteur de la ryanodine humain : sa cartographie à 19q13.1](#), son placement dans un groupe de liaison du chromosome 19 et son exclusion comme gène causant la dystrophie myotonique. Des études avec des hybrides supplémentaires contenant des délétions ou des translocations dans le chromosome 19 nous ont permis de localiser RYR à 19q13.1 dans une région distale à GPI/MAG et proximale à D19S18/DNF11. En partant du principe que le locus de la dystrophie myotonique (DM) est localisé près de cette région et que la myotonie pourrait résulter d'un défaut du récepteur de la ryanodine, il a été examiné la liaison entre le locus DM et RYR. Nos résultats, montrant plusieurs recombinants DM-RYR, excluent un défaut du RYR comme cause de la DM. Cependant, **la localisation du RYR dans une région du chromosome 19** humain qui est synténique à une région du chromosome 6 du porc contenant le gène HAL responsable de l'hyperthermie maligne porcine soutient la candidature du RYR pour ce trouble.

Et il faudra attendre de nouvelles études pour obtenir des informations sur le [gène du récepteur de la ryanodine qui se présente comme un candidat pour la prédisposition à l'hyperthermie maligne \(HM\)](#). Dans ce travail il est indiqué que récemment fut cloné l'ADN complémentaire et l'ADN génomique codant pour le récepteur de la ryanodine humain (le

canal de libération du Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique). Il a été possible ainsi de cartographier le gène du récepteur de la ryanodine (RYP) dans la région q13.1 du chromosome 19 humain, à proximité immédiate des marqueurs génétiques qui se sont avérés être cartographiés près du locus de susceptibilité à l'HM chez l'homme et du gène de sensibilité à l'halothane chez le porc. Pour vérifier de manière plus définitive si le gène RYP est un gène candidat pour le phénotype humain de l'HM, nous avons réalisé une étude de liaison avec des familles d'HM pour déterminer si le phénotype de l'HM ségrège avec les marqueurs du chromosome 19q, y compris les marqueurs du gène RYP. La co-ségrégation de l'HM avec les marqueurs RYP, qui se traduit par un score lod de 4,20 à une distance de liaison de zéro centimorgans, indique que l'HM est probablement causée par des mutations dans le gène RYP.

Puis on aura la découverte simultanée de données précises sur la version du récepteur de la ryanodine dans la muscle cardiaque. Ce sera une [étude sur le clonage moléculaire de l'ADNc codant pour le canal de libération du \$\text{Ca}^{2+}\$ \(récepteur de la ryanodine\) du réticulum sarcoplasmique du muscle cardiaque de lapin](#). Dans ce travail il a été cloné et séquencé l'ADNc codant pour le canal de libération du Ca^{2+} (récepteur de la ryanodine) du réticulum sarcoplasmique du muscle cardiaque de lapin. L'ADNc, d'une longueur de 16 532 paires de bases, code pour une protéine de 4 969 acides aminés avec un Mr de 564,711. La séquence d'acides aminés déduite est identique à 66 % à celle du récepteur de la ryanodine des muscles squelettiques, mais l'analyse des structures secondaires prédites et des tracés d'hydropathie suggère que les deux isoformes présentent la même topologie dans les domaines transmembranaires et cytoplasmiques. Un domaine potentiel de liaison à l'ATP a été identifié aux résidus 2619-2652, un site potentiel de phosphorylation au résidu 2809, et des sites potentiels de liaison à la calmoduline aux résidus 2775-2807, 2877-2898, et 2998-3016. Il fut alors suggéré qu'un domaine de liaison du modulateur dans la protéine se situait entre les résidus 2619 et 3016. L'analyse par transfert de Nord de l'ARNm provenant de divers tissus a démontré que l'isoforme cardiaque est exprimée dans le cœur et le cerveau, tandis que l'isoforme des muscles squelettiques est exprimée dans les muscles à contraction rapide et lente. Aucun ARNm du récepteur de la ryanodine n'a été détecté dans les extraits de muscles lisses ou dans tout autre tissu non musculaire examiné. Les deux récepteurs sont clairement les produits de gènes distincts, et le gène codant pour le récepteur de la ryanodine du **muscle cardiaque a été localisé sur le chromosome 1**

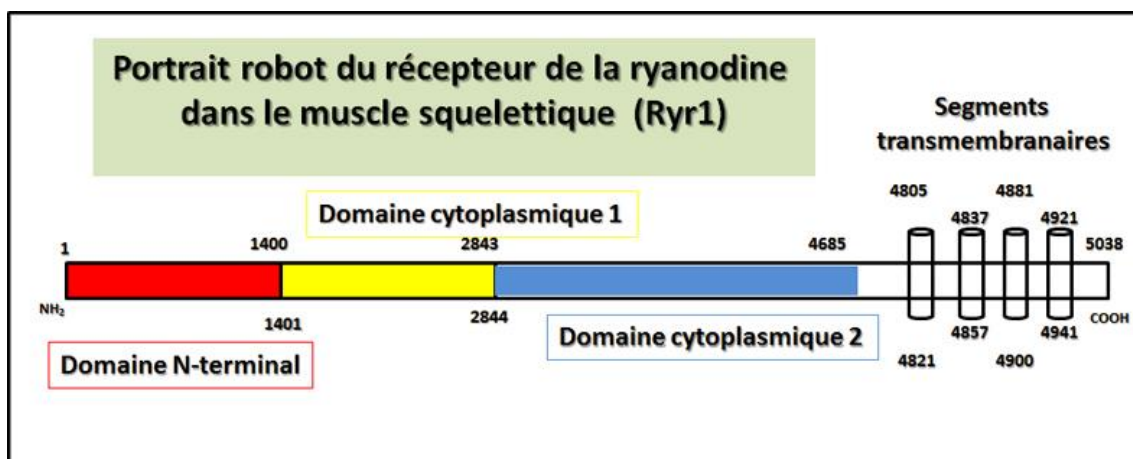
Simultanément une étude rapporte le [clonage moléculaire de l'ADNc codant pour les formes humaines et lapines du canal de libération du \$\text{Ca}^{2+}\$ \(récepteur de la ryanodine\) du réticulum sarcoplasmique des muscles squelettiques](#). Clonage moléculaire de l'ADNc codant pour les formes humaine et lapine du canal de libération du Ca^{2+} (récepteur de la ryanodine) du réticulum sarcoplasmique des muscles squelettiques. L'ADNc humain code pour une protéine de 5032 acides aminés, avec un poids moléculaire de 563 584, qui est faite sans séquence signal NH₂-terminale. Des substitutions d'acides aminés entre les séquences du lapin et de l'homme ont été notées en 163 positions et des délétions ou insertions dans huit régions expliquent les différences de séquence supplémentaires entre les deux protéines. Un motif de 114-120 acides aminés est répété quatre fois dans la protéine, dans les résidus 841-954, 955-1068, 2725-2844, et 2845-2958 et une partie de 16 acides aminés du motif est répétée deux fois de plus dans les résidus 1344-1359 et 1371-1386. Bien que le canal soit modulé par le Ca^{2+} , l'ATP et la calmoduline, aucun domaine clair de liaison au Ca^{2+} de haute affinité du type main EF et aucun domaine clair de liaison à l'ATP de haute affinité

n'ont été détectés dans la séquence primaire. Une séquence acide dans les résidus 1872-1923 contient 79% de résidus glutamate ou aspartate et cette séquence est un site potentiel de liaison au Ca^{2+} de faible affinité. Plusieurs sites potentiels de liaison à la calmoduline ont été observés dans la séquence, dans la région 2800 à 3050.

Tableau récapitulatif des différentes séquences du récepteur de la ryanodine			
Protéine	PM	Locus gène	Distribution
Ryr1	565 kDa	19q13.1	Muscles et non Musculaire
Ryr2	565 kDa	1q42.1-q43	Cardiaque
Ryr3	552 kDa	15q14-q15	Système Nerveux

On trouvera dans le tableau suivant présenté ci-dessus des informations complémentaires sur les détails de structures de la version du [muscle squelettique](#) mais aussi parfois [aussi dans le système nerveux](#) et du [muscle cardiaque](#) pour ce qui concerne la version humaine.

L'ensemble des données va permettre d'obtenir un portrait-robot comparatif de ces diverses versions du récepteur de la ryanodine chez l'homme pour la version dans le muscle squelettique et dans le muscle cardiaque. Une première version du portrait-robot du récepteur de la ryanodine fut alors proposé comme présenté ci-dessous.



En 1991, une étude porte sur la [quantification du récepteur de la ryanodine du muscle squelettique, du cœur et du cerveau de lapin](#). Dans les trois tissus, au moins 80 % de la liaison de la $[^3\text{H}]$ ryanodine a été récupérée dans la fraction de la membrane totale (MT) obtenue par centrifugation entre 650 g pendant 10 min et 120 000 x g pendant 90 min. Le muscle squelettique présentait un contenu plus élevé de sites RyR de haute affinité (environ 49 pmol/g de poids humide) que le cœur et le cerveau (environ 12 pmol et 3,5 pmol/g de poids humide, respectivement). L'affinité pour la ryanodine, ainsi que l'affinité pour le Ca^{2+} , en l'absence ou en présence de médicaments libérant du Ca^{2+} (caféine et doxorubicine) de la

MT du muscle squelettique, se sont avérées identiques à celles des citernes terminales purifiées. Une quantité aussi faible que 1 g de tissu était suffisante pour réaliser plusieurs expériences.

En 1992, il apparait qu'il existe [des isoformes du récepteur de la ryanodine des amphibiens sont apparentées à celles des muscles squelettiques ou cardiaques des mammifères](#). Les résultats présentés dans cet article, suggèrent que le muscle squelettique des amphibiens exprime deux isoformes distinctes de RyR qui partagent des épitopes communs avec le RyR squelettique ou cardiaque des mammifères.

Par ailleurs il est rapporté dans une autre étude que des [canaux calciques sont aussi exprimés dans le muscle lisse vasculaire](#). Deux grandes classes de canaux calciques sont exprimées dans les cellules du muscle lisse vasculaire : les canaux calciques voltage-dépendants sur le plasmalemme et les canaux de libération du calcium intracellulaire sur le réticulum endoplasmique. Le canal calcique voltage-dépendant est activé par la dépolarisation du plasmalemme. Ce canal calcique appartient à la super famille de gènes qui comprend les canaux potassiques et sodiques voltage-dépendants. Ces trois canaux cationiques partagent une topographie transmembranaire commune. Le principal canal intracellulaire de libération du calcium dans le muscle lisse vasculaire est le récepteur de l'inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3R) sur le réticulum endoplasmique. L'IP3R est activé par l'IP3, un second messenger généré au niveau du plasmalemme, qui intervient dans de nombreuses réponses cellulaires, dont la contraction du muscle lisse. **Le récepteur de la ryanodine (RYR)/canal de libération du calcium du réticulum sarcoplasmique est également présent dans les cellules musculaires lisses.**

On va aussi découvrir que la [protéine de liaison du FK506 est associée au canal de libération du calcium \(récepteur de la ryanodine\)](#). Il est ainsi identifié que FKBP12 et le RyRec sont étroitement associés dans le muscle squelettique SR sur la base de : 1) la copurification par des colonnes séquentielles d'héparine-agarose, d'hydroxylapatite et de chromatographie d'exclusion de taille ; 2) **la co-immunoprécipitation du RyRec et du FKBP12 avec des anticorps anti-FKBP12** ; et 3) la localisation subcellulaire des deux protéines dans les citernes terminales du SR, et non dans les tubules longitudinaux du SR, dans le muscle squelettique à contraction rapide. Le rapport molaire entre FKBP12 et RyRec dans les préparations de RyRec hautement purifiées est d'environ 1:4, ce qui indique qu'une molécule de FKBP12 est associée à chaque structure de canal de libération de calcium/pied.

Puis de nouvelles données concernant [le canal de libération du Ca²⁺ du muscle squelettique du homard 30 S](#) (récepteur de la ryanodine) a des propriétés fonctionnelles distinctes des protéines de canal des mammifères. Ces résultats suggèrent que chez le homard et dans le muscle de mammifère **il y a bien expression des complexes protéiques de canaux de libération du Ca²⁺ SR immunologiquement et fonctionnellement distincts.**

En 1993, une nouvelle donnée apparait concernant [l'adaptation des récepteurs de la ryanodine au cours du mécanisme de contrôle de la libération de calcium induite par le calcium dit](#)

["encagé" dans le cœur](#) L'adaptation de canaux uniques de récepteurs de la ryanodine (RyR) cardiaques a été démontrée par l'application de la méthodologie de l'**ion calcium encagé (Ca²⁺)**. Contrairement à la désensibilisation conventionnelle trouvée dans les canaux ancrés à la surface de la membrane, les canaux RyR cardiaques uniques se sont adaptés à des stimuli de calcium maintenus, préservant leur capacité à répondre à un second stimulus calcique (plus important). L'adaptation des RyR **peut représenter un mécanisme de contrôle moléculaire pour la libération de calcium** induite par le Ca(2+) en douceur dans le cœur et peut être une caractéristique fondamentale des canaux, y compris le récepteur de l'inositol triphosphate, qui sont impliqués dans la signalisation intracellulaire du calcium dans de nombreux types de cellules.

Une autre étude rapporte l'interaction de [l'isothiocyanate de fluorescéine avec le récepteur de ryanodine/canal de libération de calcium au niveau du réticulum sarcoplasmique](#). La modification covalente par le FITC a considérablement affecté l'activité des canaux de libération du calcium incorporés dans des bicouches lipidiques planaires. Le FITC a provoqué une augmentation marquée de la probabilité d'ouverture des canaux, principalement vers un état de subconductance bruyant d'environ 60 %. Les canaux modifiés par le FITC n'étaient plus affectés par la ryanodine mais étaient toujours abolis par le Mg²⁺ et le rouge de ruthénium. **Il est ainsi suggéré selon cette étude que le FITC modifie les résidus de lysine réactifs impliqués dans l'activation du canal** par un mouvement de charge transmembranaire dans le système t-tubulaire.

Au cours de cette analyse il est question de [l'incapacité à fabriquer un récepteur alpha ryanodine normal ce qui est un évènement précoce associé à la mutation « crooked neck dwarf \(cn\) » chez le poulet](#). En résumé, l'incapacité à fabriquer un récepteur alpha RyR normal semble être un évènement étroitement associé à la **mutation cn** et qui pourrait être largement responsable du développement du **phénotype cn/cn** dans le muscle squelettique embryonnaire.

Ce nouveau travail porte plus précisément sur la [localisation immunohistochimique différentielle des canaux de libération du Ca²⁺ sensibles à l'inositol 1,4,5-trisphosphate et à la ryanodine dans le cerveau du rat](#). La microscopie électronique dans l'hippocampe révèle la présence de RyR dans les axones, les épines dendritiques et les tiges dendritiques près des épines dendritiques, tandis que IP3R est principalement identifié dans les tiges dendritiques et les corps cellulaires. Ces résultats suggèrent que les réserves de Ca²⁺ sensibles à l'IP3 et à la ryanodine ont des rôles largement distincts dans le contrôle des niveaux de Ca²⁺ intracellulaires, bien que dans certains sites ils puissent interagir à des degrés divers.

Les principaux résultats présentés dans cette étude sont les suivants : [Les canaux de libération de Ca²⁺ sensibles à la ryanodine provenant de trois régions différentes du cœur canin](#) ont présenté les **mêmes caractéristiques de liaison à la [3H]ryanodine et de canal unique**. Les conclusions sont les suivantes : La paroi libre du ventricule gauche, le septum et l'oreillette du cœur canin peuvent exprimer des canaux de libération de Ca²⁺/récepteur de la ryanodine fonctionnellement apparentés, sinon identiques.

En 1994 , une étude porte sur [la régulation du récepteur de la ryanodine du réticulum sarcoplasmique par le phosphate inorganique](#). La stimulation de la liaison de la ryanodine au sein du réticulum sarcoplasmique (SR) du muscle squelettique était maximale en présence de Ca^{2+} micromolaire et était associée à une affinité accrue du RyR pour la ryanodine ($K_d = 204$ nM en l'absence, contre 107 nM en présence de 10 mM P(i)). Le P(i) (10 mM) a également augmenté de 50 % la vitesse de libération du Ca^{2+} des vésicules SR des muscles squelettiques remplies de $^{45}\text{Ca}^{2+}$ en présence de Ca^{2+} micromolaire. Inversement, l'arséniate et le sulfate (10 mM) n'ont eu aucun effet sur la liaison à la ryanodine ou la libération de Ca^{2+} induite par le Ca^{2+} , ce qui démontre la spécificité de l'effet P(i). **Des enregistrements à canal unique de RyR au sein du SR purifié de muscle squelettique incorporé dans des bicouches lipidiques planaires ont montré que l'ajout de 10 mM de P(i) à la chambre cis augmentait la probabilité d'ouverture du canal de 91 %**. Ces résultats démontrent que les concentrations de P(i) qui se produisent in vivo pendant l'exercice stimulent de manière significative l'activité in vitro du canal de libération du Ca^{2+} du muscle squelettique RyR.

Cette analyse porte sur le [réticulum sarcoplasmique jonctionnel étendu \(RSJE\) du muscle cardiaque aviaire qui contient des récepteurs de ryanodine fonctionnels](#). Les résultats présentés suggèrent que le cœur aviaire contient une seule population de RYRs, et soutiennent ainsi **l'hypothèse que le EJSR (=extended junctional sarcoplasmic reticulum) aviaire contient des canaux fonctionnels de libération de calcium** qui, en raison de l'absence de tubules transversaux, peuvent être situés à des micromètres de la membrane de surface dans le cœur aviaire.

Une nouvelle recherche localise précisément [les sites de liaison du \$\text{Ca}^{2+}\$ au niveau du récepteur de la ryanodine](#)/canal de libération du Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique. En particulier, il y a identification des site(s) de liaison de faible affinité sondé(s) par fluorescence au terbium La reconstitution de vésicules du réticulum sarcoplasmique dans une membrane lipidique bicouche plane a montré que le canal de libération du Ca^{2+} **était activé par des concentrations submicromolaires et inhibé par des concentrations micromolaires de Tb^{3+} et La^{3+}** . Le canal activé par le Tb^{3+} a montré une augmentation du temps de séjour ouvert du canal. Les résultats suggèrent que le canal de libération de RyR/ Ca^{2+} subit des changements de conformation dus à la liaison du Tb^{3+} au site de liaison du Ca^{2+} de faible affinité, et que cette liaison entraîne la fermeture du canal de libération du Ca^{2+} .

Il est question dans cette étude de [la distribution tissulaire des isoformes et des allèles du récepteur de la ryanodine déterminée par la réaction en chaîne par polymérase à transcription inverse](#). Les allèles du Ryr1 normal (Arg615) et mutant (Cys615) ont été exprimés dans le cerveau de porcs normaux et sensibles à l'hyperthermie maligne, respectivement. Ces résultats démontrent donc l'expression de deux isoformes de Ryr dans chaque type de muscle strié, et de toutes les isoformes de Ryr dans un certain nombre de régions du système nerveux. **La large distribution de Ryr1 dans le cerveau** fournit une étiologie neurogène possible de l'hyperthermie maligne.

Le sujet de cette analyse est [l'activation du canal de libération du calcium du muscle squelettique par une boucle cytoplasmique du récepteur de la dihydropyridine](#). Il y est montré que deux peptides spécifiques n'ont pas activé le canal de libération du Ca^{2+} du muscle

cardiaque. D'autres protéines (polylysine, albumine sérique) ont également augmenté la liaison à la [3H]ryanodine et l'activité du canal de libération du Ca²⁺, mais leurs mécanismes d'activation étaient distincts de ceux des DCL. Ces résultats montrent que la boucle cytoplasmique II-III de la sous-unité alpha 1 de la DHPR squelettique et cardiaque interagit fonctionnellement avec le canal de libération du Ca²⁺ du muscle squelettique, mais pas du muscle cardiaque. De plus, ces études suggèrent qu'en plus du DHPR, le canal de libération du Ca²⁺ du réticulum sarcoplasmique peut déterminer le type de couplage E-C qui existe dans le muscle.

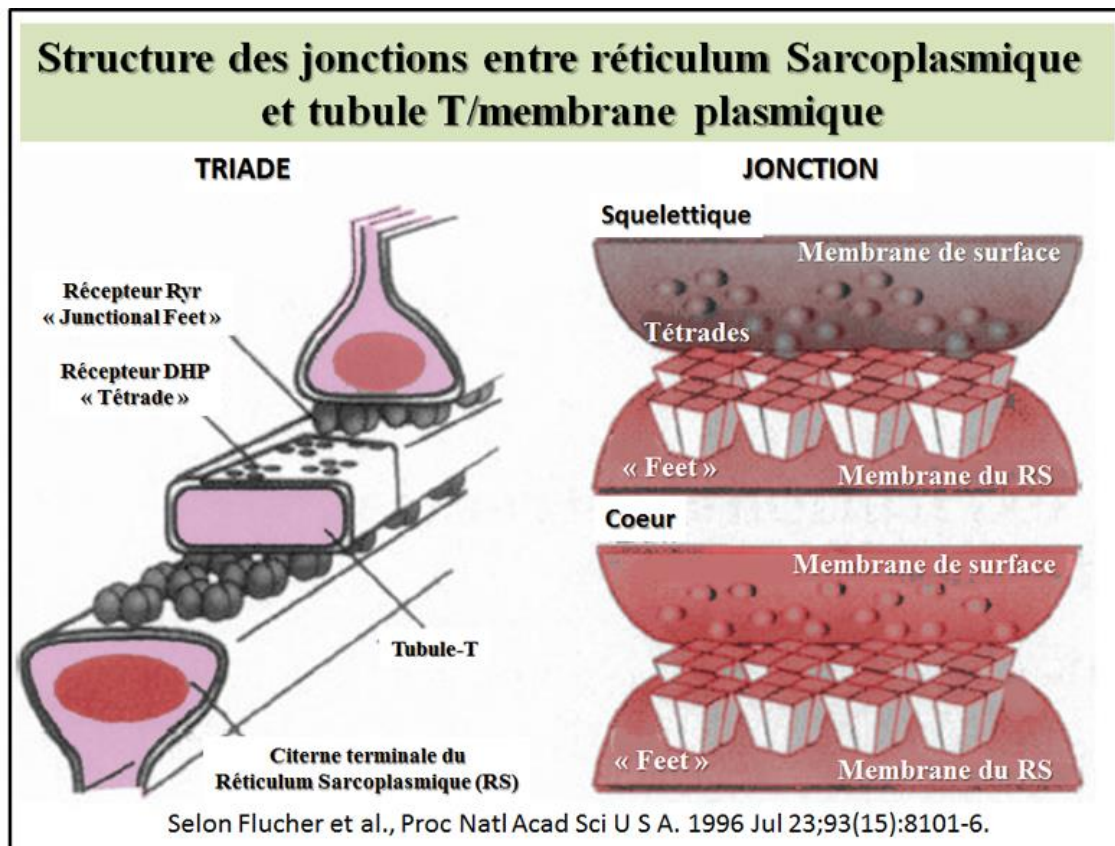
Par ailleurs une étude utilisant [la microscopie cryo-électronique permet une reconstruction tridimensionnelle du canal de libération du calcium/récepteur de la ryanodine du muscle squelettique](#). Le canal de libération du calcium (CRC) du muscle squelettique est un canal ionique tétramérique exceptionnellement grand du réticulum sarcoplasmique, et il est un composant majeur de la jonction triadique, le site du couplage excitation-contraction. Le CRC est constitué d'un grand assemblage cytoplasmique (29 x 29 x 12 nm) et d'un assemblage transmembranaire plus petit qui fait saillie de 7 nm sur l'une de ses faces. Une région cylindrique de faible densité, de 2 à 3 nm de diamètre apparent, s'étend au centre de l'assemblage transmembranaire, et correspond probablement à la voie transmembranaire de conduction du Ca(2+). A son extrémité cytoplasmique, cette caractéristique de type canal semble être bouchée par une masse globulaire de densité. **L'assemblage cytoplasmique est apparemment construit à partir de 10 domaines ou plus qui sont lâchement emballés ensemble de sorte que plus de 50% du volume enveloppé par l'assemblage est occupé par le solvant.** L'assemblage cytoplasmique évoque un échafaudage et semble bien adapté pour maintenir l'intégrité structurelle de la jonction triadique tout en permettant aux ions de diffuser librement vers et depuis l'assemblage transmembranaire.

Dès 1995, il est question d'une mise à jour des [données sur les récepteurs de la ryanodine dans le système nerveux central](#). Ainsi dans le système nerveux central où l'IP3R est beaucoup plus abondant que le RyR, la principale isoforme du RyR est le Ryr2, qui est spécifique du muscle ventriculaire cardiaque. Récemment, le Ryr3 a été détecté dans des régions spécifiques du cerveau. Dans cet article, la distribution et la localisation hétérogènes des isoformes de RyR dans le cerveau sont résumées. La discussion s'étend sur leurs fonctions putatives, en particulier leur implication potentielle dans la plasticité neuronale.

Cette analyse propose l'étude d'une [architecture tridimensionnelle du récepteur de ryanodine du muscle squelettique](#). Les progrès récents dans la détermination de l'architecture tridimensionnelle du récepteur de la ryanodine/canal de libération du calcium (RyR) des muscles squelettiques par **microscopie cryo-électronique et reconstruction tridimensionnelle sont discutés. Le récepteur tétramérique est caractérisé par un grand assemblage cytoplasmique quadri-symétrique** qui consiste en de nombreux domaines séparés par des fissures et des trous contenant des solvants. Des preuves expérimentales suggèrent qu'au moins un ligand régulateur, la calmoduline, se lie à des sites sur l'assemblage cytoplasmique qui sont au moins à 10 nanomètres du canal transmembranaire.

Une nouvelle étude précise les interactions entre [les récepteurs de la dihydropyridine et les récepteurs de la ryanodine dans le couplage excitation-contraction des muscles squelettiques](#). Des expériences avec des cellules musculaires mutantes ont indiqué que les isoformes DHPR

et RyR spécifiques des muscles squelettiques sont nécessaires au couplage E-C des muscles squelettiques. Une interaction fonctionnelle et structurale directe entre un peptide dérivé du DHPR et le RyR a été décrite. L'interaction entre le DHPR et le RyR peut être stabilisée par d'autres protéines telles que la triadine (une protéine de jonction SR) et modulée par la phosphorylation du DHPR.



Dès 1996, on va disposer de plus d'[informations sur la formation des jonctions impliquées dans le couplage excitation-contraction dans les muscles squelettiques et cardiaques](#) Les mécanismes impliqués dans la formation des jonctions et une participation potentielle des DHPRs et RyRs dans ce processus ont fait l'objet d'études intensives au cours des 5 dernières années. Dans cette revue, il est discuté des avancées récentes dans la compréhension de l'organisation de ces molécules dans les muscles squelettiques et cardiaques, ainsi que de leur assemblage simultané et indépendant au cours du développement du muscle normal et mutant. A partir de ces informations, figure la description d'un modèle pour l'assemblage des jonctions et l'établissement de la relation structurale précise entre les DHPRs et les RyRs qui sous-tend leur interaction dans le couplage excitation/contraction (E/C). Un schéma récapitulatif est présenté ci-contre sur la structure des jonctions entre SR et tubule T/membrane plasmique. Une vue schématique de la triade (gauche) montre la position du domaine cytoplasmique des RyRs (pieds) dans **l'espace de jonction entre le tubule T et les deux citernes SR terminales et la position des DHPRs (tétrades) dans la face protoplasmique de la membrane du tubule T de jonction**. Une représentation de l'espace de jonction - comme si les membranes adjacentes étaient détachées - montre la disposition correspondante des pieds et des tétrades dans les jonctions squelettiques (à droite, en haut) et

les particules DHPR regroupées de façon irrégulière en face des pieds dans les jonctions cardiaques (à droite, en bas). Notez que les tétrades dans les jonctions squelettiques correspondent en taille et en orientation aux quatre sous-unités des pieds, mais que seul un pied sur deux est associé à une tétrade.

Il existe alors des données sur [les canaux de libération de Ca²⁺ des récepteurs de la ryanodine : Et il se pose la question de savoir si la diversité de la forme équivaut-elle à la diversité de la fonction ?](#) Cela inclut une étude poussée sur la distribution des RyRs entre les espèces, les tissus et les cellules, ainsi que les mécanismes d'activation, de désactivation et d'inactivation des événements de libération de calcium des RyRs. En outre, comme cela a été observé pour la première fois dans les muscles squelettiques des vertébrés non mammifères, il est maintenant clair que plus d'une isoforme de RyR est fréquemment coexprimée dans de nombreux types de cellules. On ne sait pas comment les multiples canaux de libération des récepteurs de la ryanodine sont utilisés pour générer des transitoires de calcium intracellulaire. Par conséquent, **l'objectif principal de cette revue est de comprendre pourquoi plus d'un RyR est nécessaire à cette fin, en particulier dans un tissu**, comme les muscles squelettiques à contraction rapide des vertébrés, où un changement relativement simple et direct du calcium semble être nécessaire pour déclencher une contraction. Enfin, les rôles des isoformes de RyR et les événements de libération de calcium qu'ils médient dans le développement du muscle squelettique embryonnaire sont examinés.

En 1997, diverses études portent sur [la pharmacologie de la ryanodine et des composés apparentés](#) De nouveaux congénères naturels de la ryanodine ont été identifiés, et des progrès significatifs ont été réalisés dans le développement d'approches chimiques permettant de dériver la structure de la ryanodine de manière sélective. En outre, plusieurs de ces modifications ont donné lieu à des composés qui diffèrent par leurs affinités de liaison et par leur capacité à modifier les propriétés des canaux RyR. Ces avancées laissent entrevoir la possibilité de concevoir les agents pharmacologiques requis à partir de modifications rationnelles de la structure de la ryanodine.

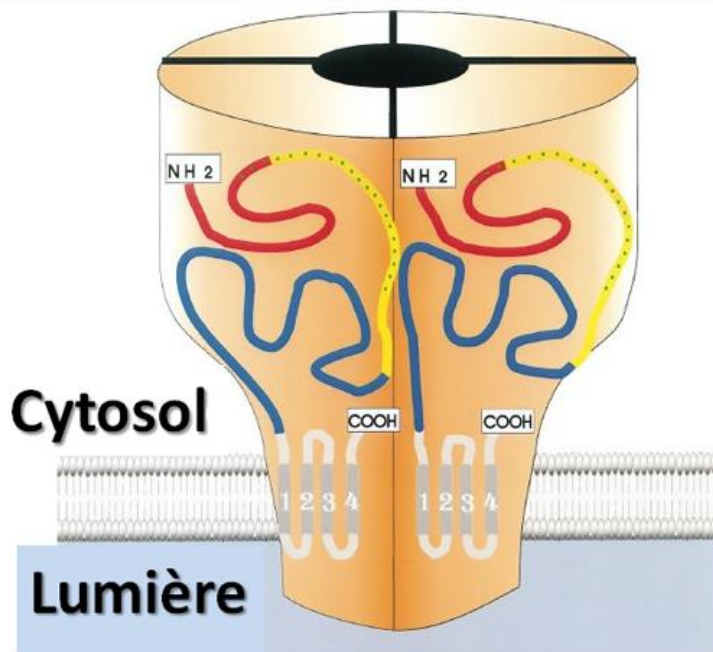
Puis il sera abordé la question [des récepteurs de la ryanodine quant à la structure et les interactions macromoléculaires de ces diverses versions](#). Ainsi de plus en plus de preuves suggèrent que l'ensemble cytoplasmique communique avec les régions transmembranaires sur des distances de 100 ou plus. **Les RyRs jouent un rôle central dans le couplage excitation-contraction**, qui se produit dans des régions spécialisées où le réticulum sarcoplasmique, contenant les RyRs, et la membrane plasmique/système de tubules transversaux forment des jonctions. De nombreuses protéines sont présentes à ces jonctions, dont certaines interagissent directement avec les RyR.

Une autre étude porte sur la [conformation du récepteur de la ryanodine et effets fonctionnels de la ryanodine](#) sur le muscle squelettique. Des études biochimiques ont révélé que le RyR possède quatre sites de liaison dans lesquels l'état de conductance dépend du nombre de sites occupés par la ryanodine. La compréhension actuelle du canal calcique activé par le RyR est le résultat d'une approche interdisciplinaire dans laquelle chaque discipline (anatomie, physiologie, biophysique et biochimie) contribue à notre connaissance de l'action pharmacologique de la ryanodine.

Pour autant il apparait bien que dans le [domaine de l'hyperthermie maligne \(MH\) au cours de la régulation du canal de libération du calcium cela semble bien confirmer un certain rôle pour le récepteur de la ryanodine](#). À ce jour, huit mutations ponctuelles dans le gène du récepteur de la ryanodine, impliqué dans le canal de libération du calcium du réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique, ségrègent avec le phénotype MH, mais des preuves directes reliant l'homéostasie altérée du $[Ca^{2+}]_i$ à la mutation du RYR recombinant n'ont été obtenues que pour une seule de ces mutations. La plupart de ces mutations apparaissent dans un " domaine MH " qui est localisé à l'extrémité NH(2) du canal Ca^{2+} du récepteur de la ryanodine des muscles squelettiques. Dans cette revue, il est fait mention des données disponibles concernant le rôle du domaine MH dans les fonctions altérées du canal Ca^{2+} du récepteur de la ryanodine.

En 1998, progressivement les données s'accumulent sur les [interactions fonctionnelles des domaines cytoplasmiques du canal de libération du \$Ca^{2+}\$ du muscle squelettique](#). La régulation de l'activité du canal doit donc impliquer une modulation allostérique à longue distance résultant de changements dans les interactions intersous-unités et intrasous-unités au sein du domaine cytoplasmique du tétramère RYR1. Des études biochimiques commencent à élucider certains des sites du domaine cytoplasmique importants pour la modulation de l'activité du canal dans le domaine membranaire. Cette revue résume ces découvertes et présente un modèle de travail pour la régulation du canal par les interactions de ses domaines cytoplasmiques. Comme résumé illustré de cette étude un modèle pour les domaines d'interaction de RYR1 est présenté ci-contre. Le domaine N-terminal (domaine 1) est rouge, le premier domaine cytoplasmique central (domaine 2) est jaune, et le second domaine cytoplasmique central (domaine 3) est bleu. Les domaines qui sont impliqués dans la signalisation antégrade et rétrograde dans le couplage excitation-contraction (E-C) du squelette sont indiqués par des points verts.

Modèle pour les domaines d'interaction de RYR1

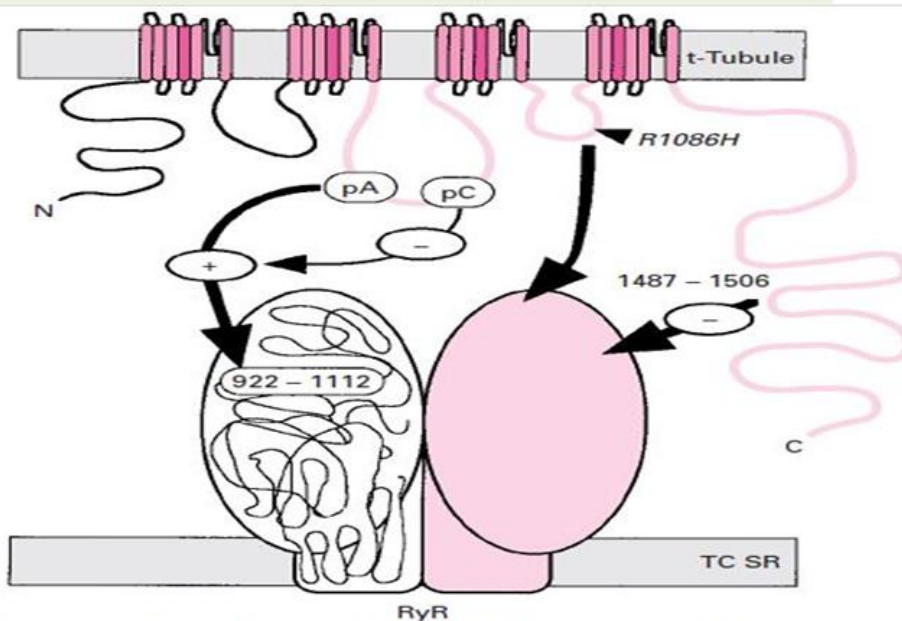


Selon Wu et al., Trends Cardiovasc Med 1998 Oct;8(7):312-9.

Cette même année il y a identification [d'un domaine de liaison du calcium au niveau de deux structures dites en mains EF dans le canal récepteur de ryanodine/libération de Ca²⁺ du muscle squelettique chez le homard](#). Similairement aux résultats précédemment rapportés pour les RyRs de mammifères, le RyR de homard a été activé par le Ca²⁺ micromolaire et inhibé par le Ca²⁺ millimolaire, comme déterminé dans les mesures de canal unique et de liaison à la [3H]ryanodine. Ces résultats suggèrent que le domaine de liaison au Ca²⁺ à deux mains EF du canal de libération du Ca²⁺ du homard ainsi que les régions correspondantes des canaux des mammifères peuvent jouer un rôle dans l'inactivation par le Ca²⁺ de la libération du Ca²⁺ du réticulum sarcoplasmique.

En 1999, dans cette étude il est question [de l'étincelle de Ca²⁺, baptisée « spark of calcium » comme régulateur de l'activité des canaux ioniques](#). Dans plusieurs types de cellules musculaires lisses, dont l'excitabilité membranaire est relativement élevée, un potentiel d'action (PA) provoque 5 à 20 points chauds de Ca²⁺ (spark = étincelles évoquées à longue durée de vie) au stade précoce par l'intermédiaire du CICR dans des éléments superficiels discrets du SR et active un courant de canal K(Ca) hautement responsable de la repolarisation du PA et de la post-hyperpolarisation. Le CICR disponible pour la contraction peut se produire plus lentement par la propagation du CICR des SR superficiels vers les SR plus profonds. Le mécanisme de régulation de l'activité des canaux ioniques sur la membrane plasmique par les SR superficiels via la génération d'étincelles de Ca²⁺ dans les cellules musculaires lisses peut être analogiquement commun à plusieurs types de cellules, y compris les neurones.

interactions entre les boucles cytoplasmiques de la sous-unité $\alpha 1$ de la DHPR du muscle squelettique et le RyR de type 1

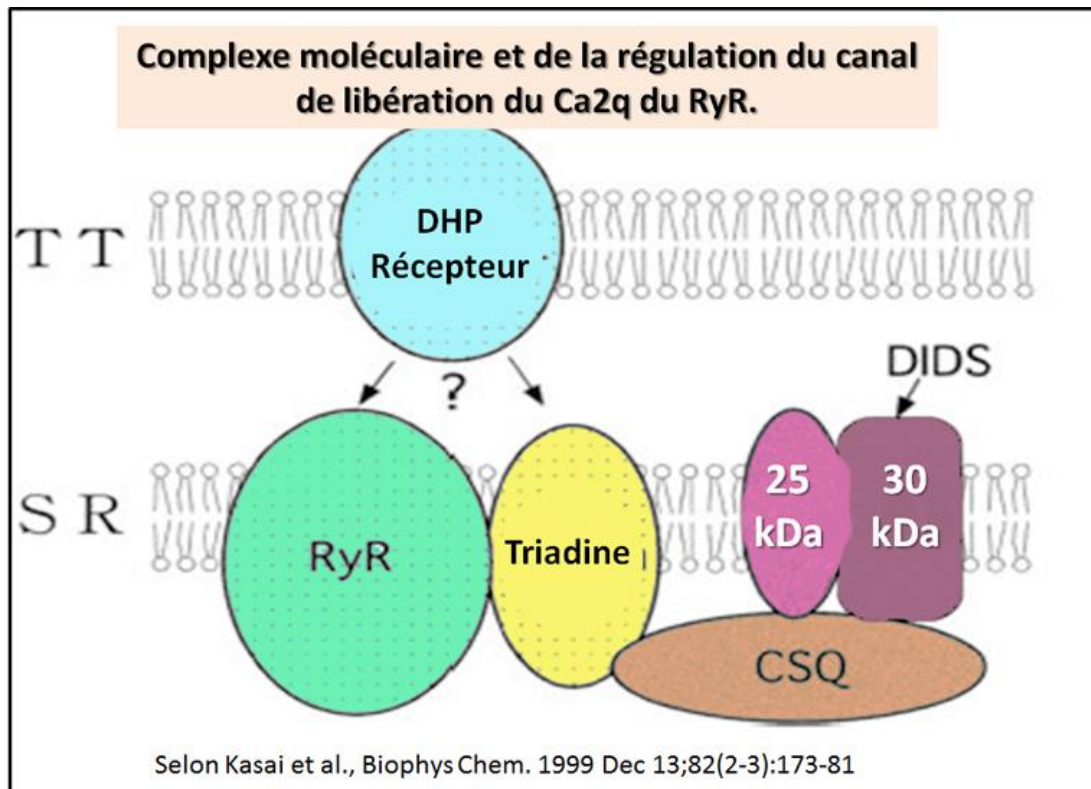


Selon MacKrell et al., Biochem J. 1999 Feb 1;337 (Pt 3)(Pt 3):345-61.

Selon cette nouvelle analyse il est confirmé l'[existence d'interactions protéine-protéine dans la fonction du canal intracellulaire de libération du \$\text{Ca}^{2+}\$](#) . Certaines protéines accessoires modulent l'activité des canaux de tous les sous-types de CRC caractérisés, tandis que d'autres ont des effets spécifiques à une classe, voire à une isoforme. Certaines protéines accessoires exercent à la fois des formes directes et indirectes de régulation sur les CRC, avec parfois des effets opposés. D'autres sont elles-mêmes modulées par des changements de la concentration en Ca^{2+} , participant ainsi à des mécanismes de rétroaction agissant sur l'activité des InsP3R et des RyR. Les CRC sont donc capables d'intégrer de nombreux événements de signalisation au sein d'une cellule grâce à ces interactions protéine-protéine. Par conséquent, les propriétés fonctionnelles des InsP3Rs et des RyRs dans des cellules et des domaines subcellulaires particuliers sont "personnalisées" par les protéines accessoires présentes. Il y a bien comme illustré ci-contre des **interactions entre les boucles cytoplasmiques de la sous-unité $\alpha 1$ de la DHPR du muscle squelettique et le RyR de type 1 avec participation de la sous-unité $\alpha 1$ de la DHPR t-tubulaire du muscle squelettique.**

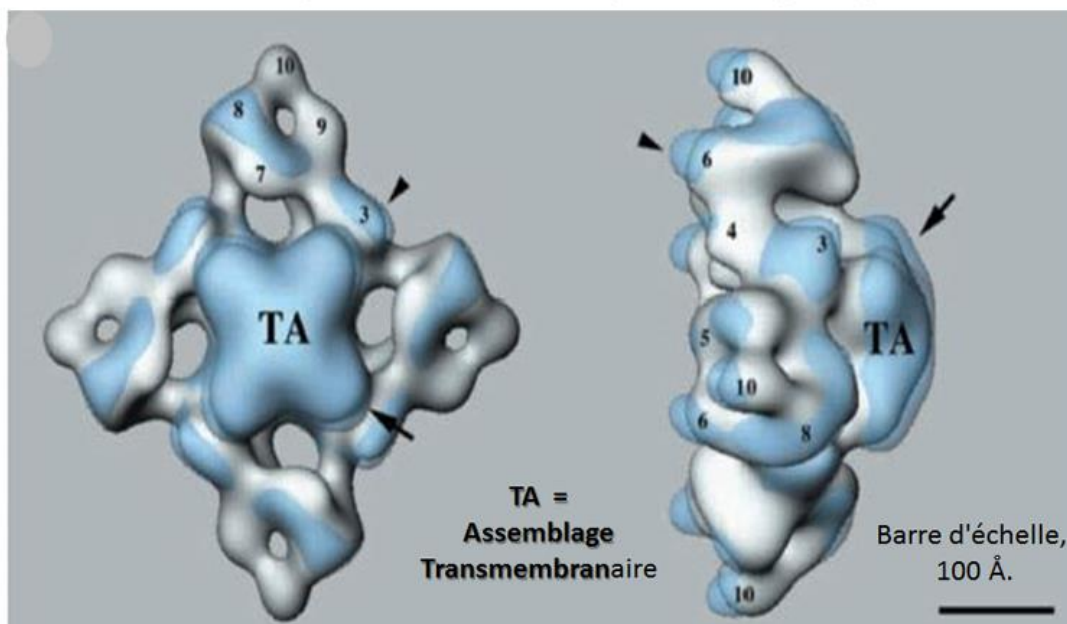
On va alors observer une [régulation des récepteurs de la ryanodine par les espèces d'azote réactif. Des preuves récentes suggèrent que l'oxyde nitrique \(NO\) et les molécules apparentées peuvent être des régulateurs endogènes des RyRs des muscles squelettiques et cardiaques.](#) Les deux tissus expriment des synthases d'oxyde nitrique (NOS), et il a été démontré que le NO ou les espèces liées au NO affectent directement les activités des canaux de libération du Ca^{2+} via des modifications covalentes des groupes thiol. Une modification oxydative et nitrosative des RyR a été décrite, entraînant une altération réversible ou irréversible de l'activité du canal ionique RyR. D'autres mécanismes de régulation peuvent inclure des voies de signalisation dépendantes du GMP cyclique et **la modification par le NO des protéines régulatrices des RYR, telles que le canal Ca^{2+} de type L de la membrane de surface.** La modification des RyR par le NO peut influencer une variété de

fonctions physiologiques telles que la libération d'insuline, le contrôle vasomoteur et la contraction musculaire.



Par ailleurs il y a aussi selon ce travail, [une régulation du canal de libération du calcium du récepteur de la ryanodine : un système moléculaire complexe.](#) Ce résultat montre que l'AAT est bifonctionnelle et fonctionne comme une protéine de transport dans les mitochondries et comme un régulateur de la libération de Ca(2+) dans le SR. À partir de ces résultats, il est proposé un modèle dans lequel la calsequestrine, la protéine de 30 kDa se liant à la DIDS et la junctine forment un complexe ternaire qui régule le canal de libération du Ca(2+) du RS par des interactions avec la triadine. Ci-dessus est présenté un modèle schématique du complexe moléculaire et de la régulation du canal de libération du Ca²⁺ du RyR. La protéine de 25 kDa junctine, la protéine de 30 kDa DIDS-binding. et CSQ forment le complexe ternaire et régulent le RyR par des interactions avec la triadine

**Schéma des entités RyR3 à l'état ouvert (en bleu transparent)
et leRyR3 à l'état fermé (en blanc plein)**



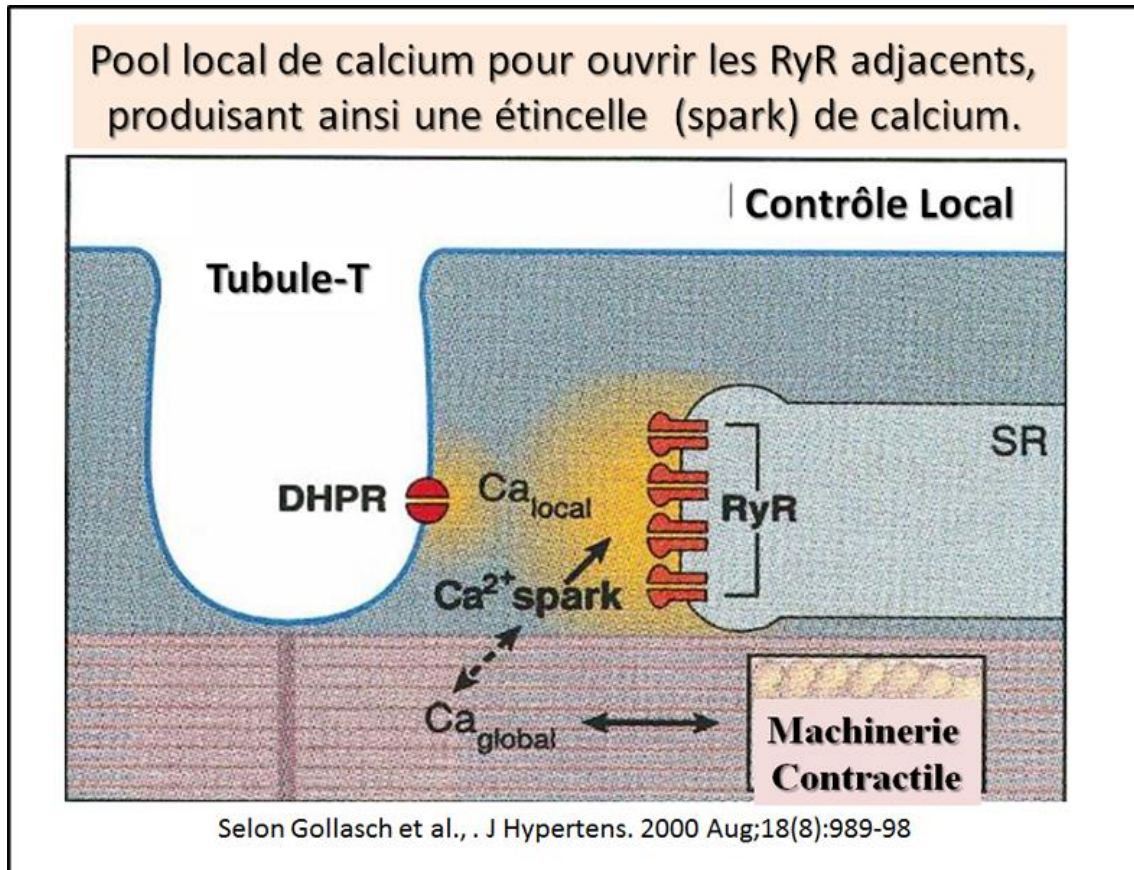
Selon Sharma et al. JBC Vol. 275, No. 13, Issue of March 31, pp. 9485–9491, 2000

En 2000, une étude porte sur la [structure tridimensionnelle de l'isoforme 3 du récepteur de la ryanodine dans deux états conformationnels, visualisée par microscopie cryo-électronique](#). Bien que les isoformes présentent des similitudes structurales, ce qui est cohérent avec l'identité de séquence globale d'environ 70 % des isoformes, des comparaisons détaillées de RyR3 avec RyR1 ont montré une région de différence hautement significative entre eux. Cette différence indique une masse supplémentaire présente dans RyR1, et elle correspond probablement à une région de la séquence de RyR1 (résidus 1303-1406, connue sous le nom de région de diversité 2) qui est absente de RyR3. Les reconstructions de RyR3 déterminées dans des conditions " ouvertes " et " fermées " étaient similaires l'une à l'autre dans leur architecture globale. Une carte des différences calculée entre les deux reconstructions révèle de subtils changements de conformation à plusieurs endroits très dispersés dans le récepteur, dont le plus important est une rotation d'environ 4 degrés de la région transmembranaire par rapport à l'assemblage cytoplasmique. Un schéma présenté ci-contre résume la situation sur la comparaison de RyR3 dans des conditions ouvertes et fermées. Ici figure deux volumes, RyR3 à l'état ouvert (représenté en bleu transparent) et leRyR3 à l'état fermé (blanc plein) qui ont été superposés de sorte que les deux cartes de densité tridimensionnelles soient parfaitement alignées. La rotation relative de l'assemblage transmembranaire (TA) (représentée par une flèche) et la translocation de masse dans l'assemblage cytoplasmique dans les domaines 6 et 3 sont indiquées par des pointes de flèche.

[Excitation-contraction coupling in skeletal muscle: comparisons with cardiac muscle.](#)

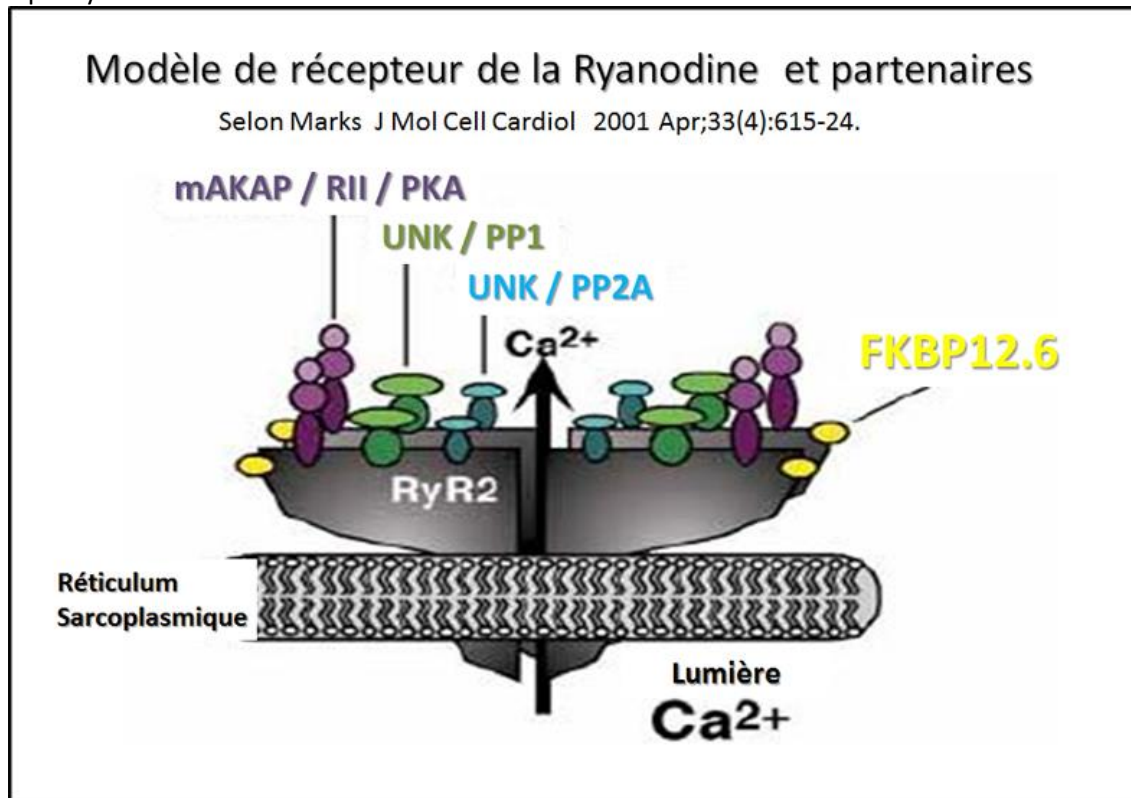
Lamb GD. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2000 Mar;27(3):216-24. doi: 10.1046/j.1440-1681.2000.03224.x. PMID: 10744351 The present review describes the mechanisms involved in controlling Ca²⁺ release from the sarcoplasmic reticulum (SR) of skeletal muscle, which ultimately regulates contraction. 2. Comparisons are made between cardiac and skeletal muscle with respect to: (i) the role of the dihydropyridine receptors (DHPR) as Ca²⁺ channels

and voltage-sensors; (ii) the regulation of the ryanodine receptor (RyR)/Ca²⁺-release channels in the SR; and (iii) the importance of Ca²⁺-induced Ca²⁺ release. 3. It is shown that the key differences of the skeletal muscle Ca²⁺-release channel (RyR1), namely the increase in its stimulation by ATP and its inhibition by Mg²⁺, are critical for its direct regulation by the associated DHPR and, consequently, for the fast, accurate control of skeletal muscle contraction.



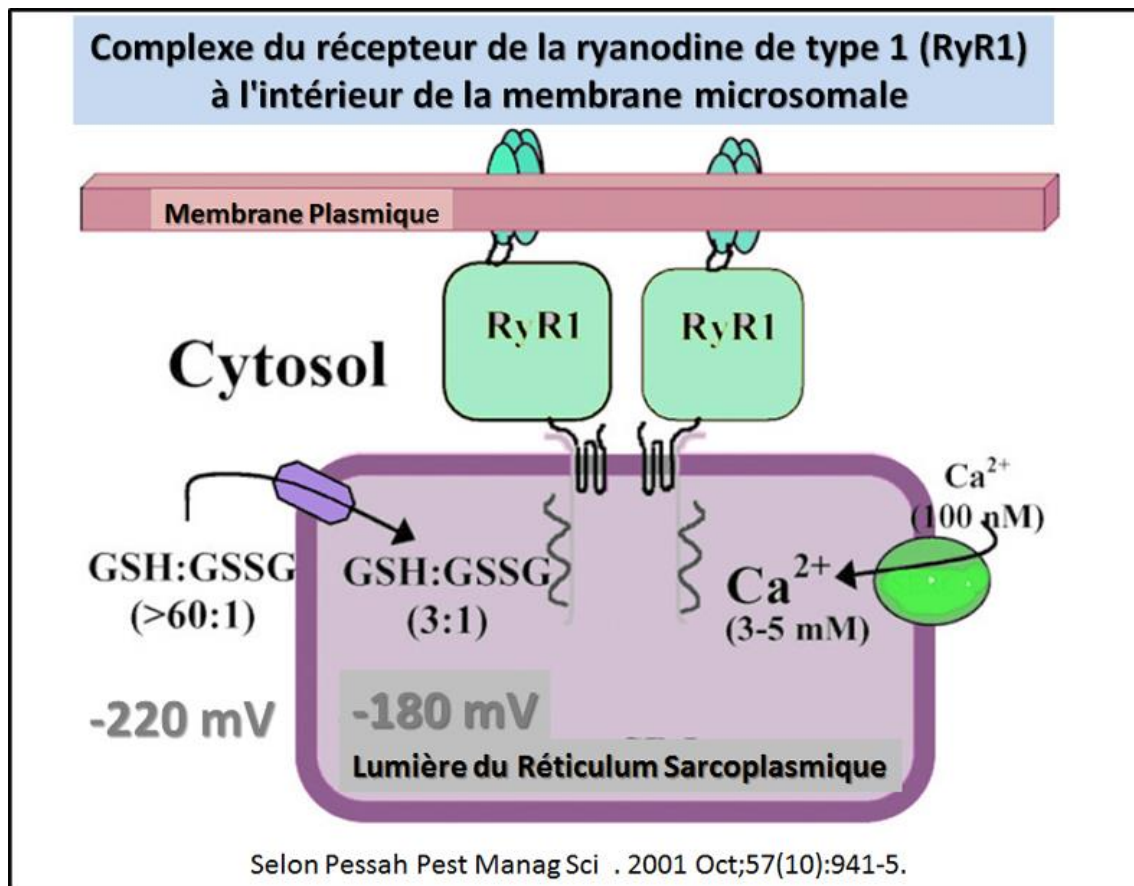
L'analyse porte ici sur [les canaux Ca²⁺, la libération "quantifiée" de Ca²⁺ et la différenciation des myocytes dans le système cardiovasculaire](#). Cette revue démontre que les canaux Ca²⁺ dépendant du voltage et les signaux Ca²⁺ locaux liés au RyR sont importants pour la différenciation, la prolifération et l'expression génétique. Ces résultats suggèrent que les unités "élémentaires" de libération de Ca²⁺ peuvent représenter de nouvelles cibles thérapeutiques puissantes pour réguler la fonction du tissu musculaire lisse artériel intact. Dans la théorie du contrôle local du couplage excitation contraction, la juxtaposition intime des canaux de type L et des RyR dans les t-tubules peut permettre un influx de Ca²⁺ par l'ouverture d'un seul canal de type L pour augmenter suffisamment le **pool local de Ca²⁺ local pour ouvrir les RyR adjacents**, produisant ainsi une étincelle de Ca²⁺. Tout ceci peut se produire localement, sans perturbation appréciable d'un pool global de Ca²⁺ global (Ca_{global}). Si suffisamment de canaux de type L s'ouvrent, plusieurs étincelles de Ca²⁺ sont recrutées pour augmenter Ca_{global}, ce qui entraîne une activation de la machinerie contractile et la contraction comme l'illustre la représentation schématique proposée ci-dessus.

En 2001, une nouvelle revue porte sur [les mécanisme de libération du Ca²⁺ sensible à la ryanodine dans les cellules non excitables](#). La caféine, le nucléotide adénine AMP-PCP, Mg²⁺, le rouge de ruthénium ou le FK506 affectent la liaison. Dans certaines cellules non excitables, l'isoforme du récepteur de la ryanodine (RyR) RyR2 ou RyR3 est exprimée et a été identifiée. Cependant, contrairement aux cellules excitables, on n'a pas encore obtenu d'informations concernant les protéines RyR, y compris les sites de liaison pour les modulateurs comme CaM et les sites de phosphorylation.



Une analyse précise permet d'obtenir des informations nouvelles sur [les récepteurs de la ryanodine/canaux de libération du calcium dans l'insuffisance cardiaque et la mort cardiaque subite](#). Les canaux sont des tétramères composés de quatre sous-unités RyR ou IP3R. RyR2 est nécessaire au couplage excitation-contraction (EC) dans le cœur. En utilisant la co-sédimentation et la co-immunoprécipitation, il est possible alors de définir un complexe macromoléculaire composé de RyR2, FKBP12.6, PKA, les protéines phosphatases PP1 et PP2A, et une protéine d'ancrage mAKAP. Il est ainsi démontré que la phosphorylation de la protéine kinase A (PKA) de RyR2 dissocie FKBP12.6 et régule la probabilité d'ouverture du canal ($P(o)$). Dans les cœurs humains défaillants, RyR2 est hyperphosphorylé par la PKA, ce qui entraîne une fonction défectueuse du canal en raison d'une sensibilité accrue à l'activation induite par le Ca²⁺. Voici un schéma du modèle de récepteur de la Ryanodine qui est présenté dans l'article en référence.

Avec cette nouvelle revue on aborde la [signification de l'hétérogénéité spatiale et temporelle des transitoires calciques dans les muscles lisses](#). Dans ce bref rapport, figure un résumé de la littérature actuelle sur les aspects spatiaux et temporels des étincelles de Ca²⁺ et des oscillations de [Ca²⁺]_i induites par les agonistes. Il y est également proposé un modèle pour l'importance de l'hétérogénéité spatiale et temporelle dans l'établissement du [Ca²⁺]_i global.



Il est aussi fait mention que le [récepteur de la ryanodine agit comme un capteur de stress redox](#). Les ryanodines n'ont pas atteint une grande importance en tant qu'insecticides, mais le nombre croissant d'effecteurs xénobiotiques connus pour influencer la signalisation du Ca^{2+} par interaction avec les récepteurs de la ryanodine (RyRs) peut servir à identifier de nouvelles cibles pour le contrôle des insectes. Une revue historique du contrôle redox du transport microsomal du Ca^{2+} est présentée ici, suivie de preuves récentes indiquant que les résidus Cys hyperactifs sont un composant essentiel d'un capteur redox transmembranaire. L'accent est mis sur le rôle de la chimie sulfhydryle dans la régulation du RyR ; les intermédiaires quinonoïdes métaboliques provenant des pesticides et autres contaminants environnementaux sont intéressants dans ce contexte. Une représentation schématique du complexe du récepteur de la ryanodine de type 1 (RyR1) à l'intérieur de la membrane microsomale figure dans l'article en référence et une version française est proposée ci-contre et résume la situation.

Dans cette analyse il est question de l'[inhibition provoquée par le dantrolène au niveau des canaux de libération du \$\text{Ca}^{2+}\$ des récepteurs de la ryanodine](#). Il y est présenté en détail et en comparaison, le mécanisme moléculaire et la sélectivité des isoformes. Contrairement à l'isoforme RYR1, **l'isoforme RYR2 cardiaque n'a pas été affectée par le dantrolène**, à la fois dans les vésicules SR cardiaques natives et lorsqu'elle est exprimée de manière hétérologue dans les cellules HEK-293. En comparaison, l'isoforme RYR3 exprimée dans les cellules HEK-293 a été significativement inhibée par le dantrolène, et l'étendue de l'inhibition du **RYR3 était similaire à celle affichée par le RYR1 dans les vésicules SR natives**. Nos résultats indiquent donc que le RYR1 et le RYR3, mais pas le RYR2, peuvent être des cibles pour l'inhibition du dantrolène in vivo.

En 2002, un article de fond fait la mise à jour sur les connaissances acquises dans le [domaine des canaux de libération du calcium récepteurs de la ryanodine](#). Les signaux qui modulent

et/ou désactivent les canaux RyR restent ambigus et les mécanismes impliqués peu clairs. Au cours de la dernière décennie, les études sur la libération de Ca^{2+} médiée par les RyR ont pris de nombreuses formes et ont fait progresser nos connaissances de façon constante. Ce domaine robuste n'est cependant pas exempt d'idées controversées et de résultats contradictoires. Les controverses entourant la régulation complexe du Ca^{2+} des canaux RyR uniques font l'objet d'une attention particulière ici. En outre, un grand nombre d'informations est synthétisé dans une perspective ciblée de la fonction des canaux RyR simples. L'état actuel du domaine des canaux RyR uniques et ses orientations futures probables sont également discutés. (voir les illustrations de l'article en référence avec dans la Fig 1. Sur l'environnement du canal du récepteur de la ryanodine dans le muscle squelettique et dans la Fig. 2. Sur l'environnement du canal RyR2 dans le muscle cardiaque).

Par ailleurs il existe de nouvelles données sur les [rôles respectifs de deux isoformes de récepteurs de la ryanodine coexistant dans le muscle squelettique](#). On pense que RyR1 est responsable à la fois du DICR (Depolarization-Induced Calcium Release) et du CICR (Calcium Induced Calcium Release), tandis que RyR3 pourrait fonctionner comme le canal CICR. Des découvertes récentes démontrent que l' α -RyR est sélectivement et nettement supprimé dans l'activité CICR dans le muscle squelettique de la grenouille. Cette suppression sélective de RyR1, bien que dans une moindre mesure, a également été constatée dans le muscle squelettique des mammifères. Cette brève revue décrit les significations biologiques de cette suppression sélective et discute des rôles physiologiques et de la signification des deux isoformes de RyR dans le muscle squelettique des vertébrés.

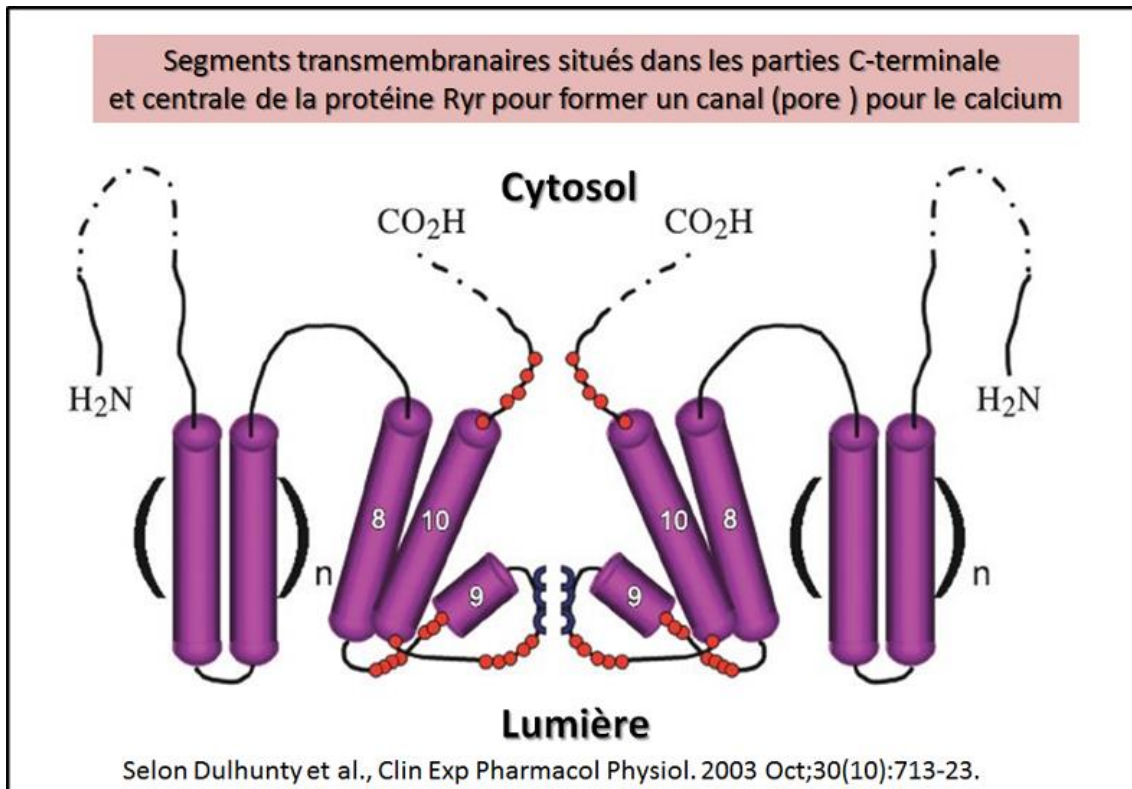
Cette analyse aborde la [génétique moléculaire des canaux de libération de Calcium récepteurs de la ryanodine](#). La structure 3D de ces grandes molécules a été obtenue et certaines régions régulatrices ont été cartographiées dans ces **reconstructions 3D**. Des études récentes ont clarifié le rôle des protéines kinases et phosphatases qui, en interagissant physiquement avec les RyR, semblent jouer un rôle dans la régulation de ces canaux de libération du Ca^{2+} . Ces études et d'autres avancées récentes dans la compréhension de la biologie des RyRs feront l'objet de cette revue.

L'ensemble des protéines indiquées ci-contre va donc former [un complexe supramoléculaire correspondant aux protéines triadiques](#) autour **de la Junctine, la Triadine et le récepteur de la Ryanodine (Ryr)**. Ce complexe évolue légèrement au cours du développement comme indiqué dans l'article en référence. L'augmentation de la calsequestrine et la diminution de l'expression de la junctine au cours du développement postnatal ont entraîné des changements similaires dans l'intensité de la liaison du conjugué calsequestrine à ces composants du réticulum sarcoplasmique. Les fibres musculaires squelettiques vieillies tendent à réduire les interactions protéiques au sein du complexe de la calsequestrine. Ceci est en accord avec le concept physiologique selon lequel les régulateurs clés de l'homéostasie du Ca^{2+} existent dans un assemblage membranaire supramoléculaire et que les interactions protéine-protéine sont affectées par le changement d'isoforme qui sous-tend l'adaptation finement réglée des fibres musculaires à des demandes fonctionnelles modifiées.

En 2003, il est question de [l'oxydation de la calmoduline \(CaM\) et les substitutions de la méthionine à la glutamine qui révèlent des résidus de méthionine critiques pour l'interaction fonctionnelle avec le récepteur de ryanodine-1](#). La CaM mutée au niveau du résidus Met en Gln a démontré que la position Met-109 était nécessaire pour l'activation de RyR1 par l'apo-CaM mais pas pour l'inhibition du canal par le Ca(2+)-CaM. De plus, la substitution de Gln avec Met-124 a augmenté les concentrations d'apo et de Ca(2+)-CaM requises pour réguler RyR1. Ces résultats identifient donc **les résidus Met critiques pour l'association productive de CaM avec les canaux RyR1** et suggèrent que l'oxydation de CaM peut contribuer à la régulation altérée de la libération de Ca(2+) du réticulum sarcoplasmique pendant le stress oxydatif.

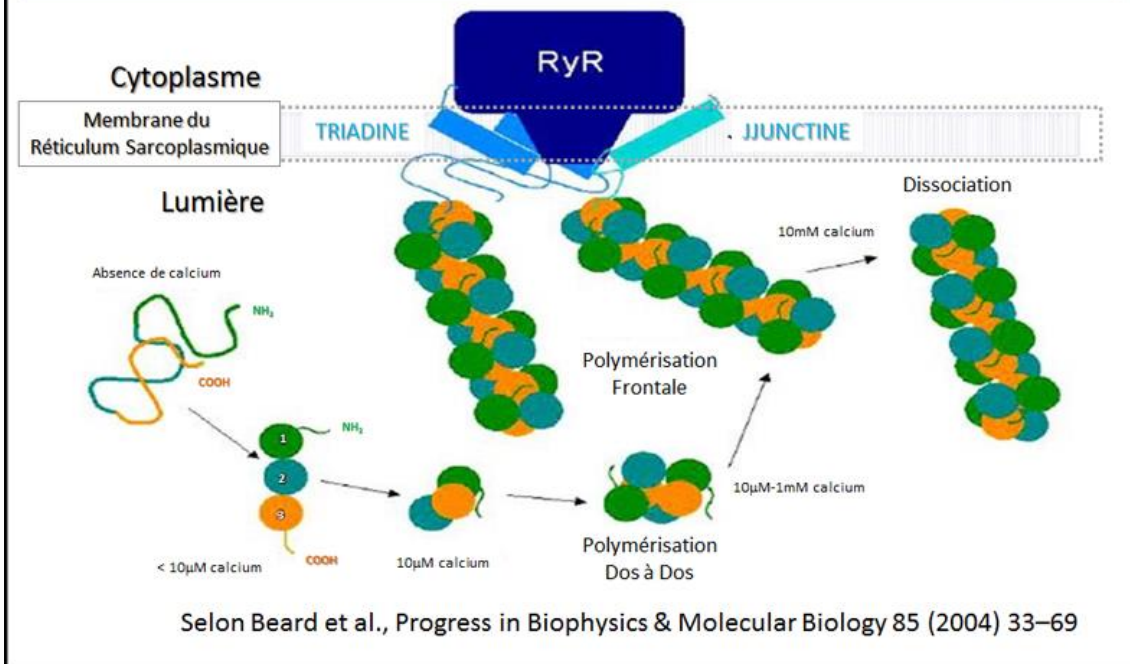
Il se pose alors une question simple **au sujet du récepteur de la ryanodine de type 3 : pourquoi une autre isoforme du récepteur de la ryanodine ?** Le large profil d'expression a été observé par la suite pour les gènes RyR1 et RyR2, qui, en plus de leur expression préférentielle dans les muscles striés, ont été trouvés exprimés également dans plusieurs autres types de cellules, bien qu'à des niveaux plus faibles que dans les muscles striés. Ainsi, un examen plus approfondi révèle que dans plusieurs cellules des vertébrés, deux ou même trois isoformes de RyR peuvent être co-exprimées. Dans ce chapitre, il est passé en revue divers travaux publiés sur le gène RyR3 et une discussion est proposée concernant un modèle dans lequel **la co-expression de différentes isoformes de canaux RyR est interprétée comme une solution évolutive** pour fournir, par des interactions fonctionnelles d'isoformes distinctes de canaux de libération de Ca²⁺, les différents types de cellules de vertébrés avec la machinerie de libération de Ca²⁺ spécifique à la cellule requise pour générer les signaux intracellulaires sophistiqués de Ca²⁺ nécessaires à la régulation optimale de leurs fonctions.

Cette analyse indique que [l'oxyde nitrique est associé avec le couplage excitation-contraction](#) Plus précisément, la NOS1 se localise dans le réticulum sarcoplasmique (SR) à proximité du récepteur de la ryanodine (RYR) et de l'ATPase Ca(2+) du SR (SERCA2a), et la NOS3 se trouve dans les cavéoles sarcolemmales compartimentées avec les récepteurs de surface cellulaire et le canal Ca(2+) de type L. Le NO participe également à la respiration mitochondriale, le processus qui alimente le couplage EC, et la NOS1 ou 3 réside dans les mitochondries cardiaques. Il est ainsi passé en revue ici divers mécanismes biochimiques et cellulaires par lesquels le NO influence le couplage EC. Il existe de plus en plus de preuves que le NO participe à tous les aspects du couplage EC, y compris la transduction du signal des récepteurs, l'activité des canaux Ca(2+) de type L, la libération de calcium SR par le RYR et la respiration mitochondriale. Un schéma récapitulatif est présenté en Fig. 6 du présent travail en référence.

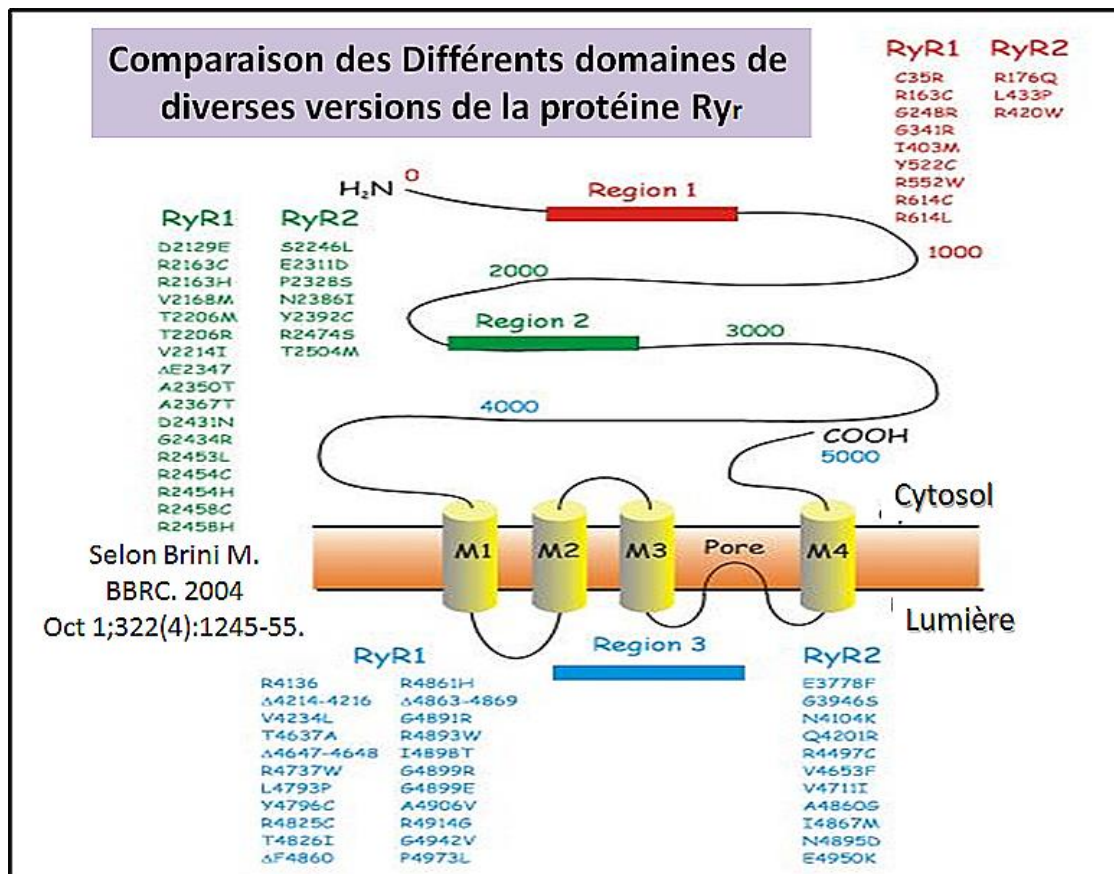


Dans une nouvelle étude figure [ce que nous ne savons pas sur la structure des canaux de libération du calcium des récepteurs de la ryanodine](#). Un modèle populaire montre quatre segments transmembranaires dans le dixième C-terminal de la protéine. Cependant, il existe des preuves substantielles d'un plus grand nombre de segments transmembranaires situés dans les parties C-terminale et centrale de la protéine. **Un modèle du pore du RyR basé sur la structure du canal KcsA de *Streptomyces lividans* est présenté.** Les interactions protéine/protéine entre le RyR et d'autres protéines régulatrices, ainsi qu'au sein de la sous-unité RyR, sont discutées. Une tentative d'ajustement du pore du RyR dans le modèle KcsA est résumée ici. Deux sous-unités du tétramère de RyR sont représentées.

Changement de structure de la calsequestrine en fonction de la concentration en calcium et relation avec RyR



En 2004, il existe bien selon ce travail une relation entre la [calsequestrine et le canal de libération du calcium des muscles squelettiques et cardiaques](#). L'inhibition est levée lorsque la concentration en calcium varie, soit à cause de petits changements dans la conformation de la calsequestrine, soit à cause de sa dissociation de la membrane de la face jonctionnelle. Ces changements dans l'association de la calsequestrine avec le RyR amplifient les effets directs de la concentration luminale en calcium sur l'activité du RyR. **De plus, la calsequestrine active les RyR purifiés dépourvus de triadine et de junctine.** D'autres rôles de la calsequestrine sont indiqués par l'activité kinase de la protéine, sa structure semblable à celle de la thiorédoxine et son influence sur l'entrée du Ca^{2+} dans les réserves. Il est clair que la calsequestrine joue un rôle majeur dans l'homéostasie du calcium qui va bien au-delà de sa capacité à tamponner les ions calcium. Un modèle est présenté ci-contre et illustre des changements qui peuvent se produire dans la structure de la calsequestrine en fonction de la concentration en calcium. En l'absence de calcium, la calsequestrine est dépliée. Avec une augmentation modeste de la concentration de calcium à 0,10 mM, la structure aléatoire de la bobine se condense en trois domaines de type thiorédoxine qui se condensent ensuite en un monomère compact lorsque la concentration de $[\text{Ca}^{2+}]$ augmente.

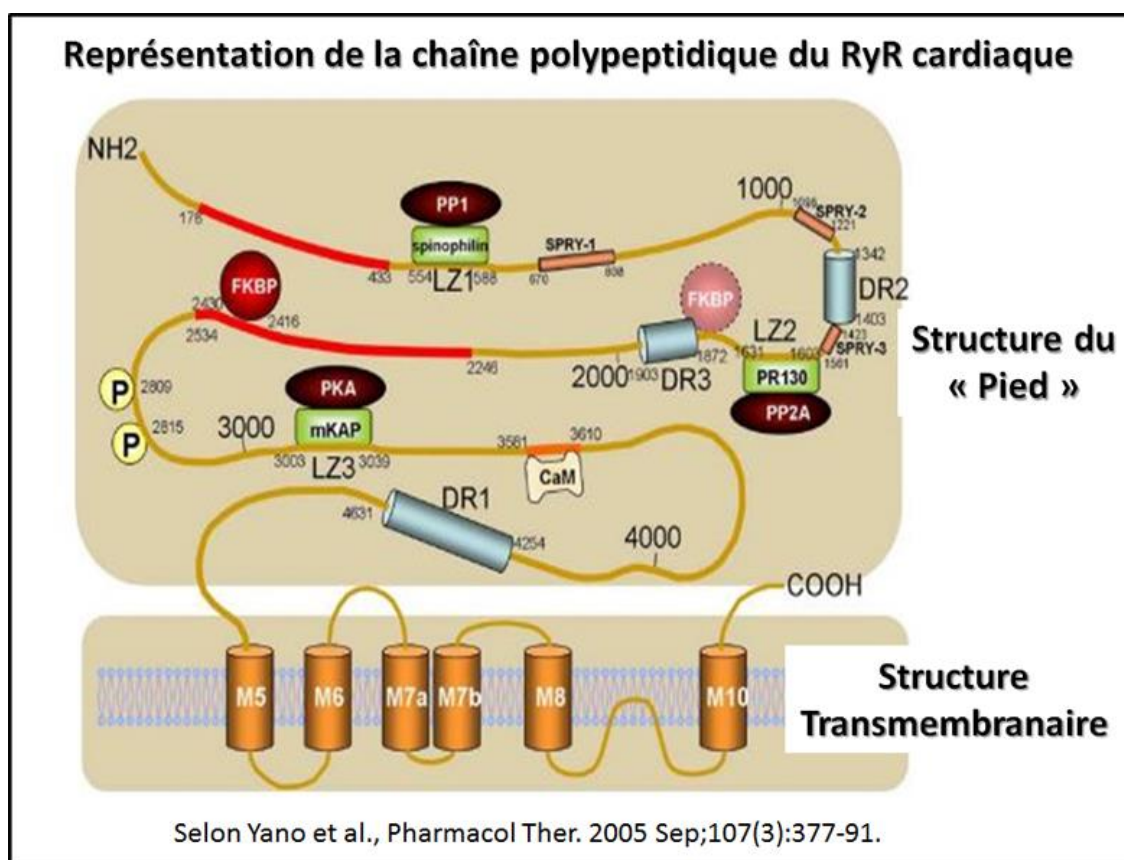


Avec cette étude on dispose des [défauts potentiels des récepteurs de la ryanodine dans les maladies génétiques musculaires](#). Un certain nombre d'études sur des modèles cellulaires ont tenté d'élucider les défauts moléculaires associés aux différentes mutations, mais le problème de la compréhension de la façon dont les mutations d'un même gène génèrent un tel éventail de traits pathologiques divers et de maladies de degrés de gravité très différents reste entier. Cette revue examinera les effets moléculaires et cellulaires des mutations des RyR, en résumant les données récentes de la littérature sur la dysrégulation du Ca²⁺, ce qui pourrait conduire à une meilleure compréhension du fonctionnement des RyRs . une illustration présente un schéma de la protéine RyR montrant les domaines transmembranaires prédits (cylindres jaunes) et les grands domaines N-terminaux. Les trois régions hotspot et les différentes mutations de RyR sont indiquées. Région 1 (acides aminés 0-1000), région 2 (acides aminés 2000-3000), et région 3 (acides aminés 4000-5000).

De nouveau il est par ailleurs confirmé un [rôle de la calsequestrine\(CSQ\), de la triadine et de la junctine pour conférer la réactivité du récepteur de la ryanodine cardiaque au calcium luminal](#). Lorsque la triadine 1 et la junctine ont été ajoutées au côté luminal des canaux purifiés, la probabilité d'ouverture du canal (Po= open channel probability) de RyR a augmenté de manière significative ; cependant, les canaux sont restés insensibles aux changements du [Ca] luminal. Dans les RyRs réassociés avec la triadine 1 et la junctine, l'ajout de CSQ luminal a produit une diminution significative de l'activité. Après réassociation avec les trois protéines, les RyRs ont répondu aux augmentations du [Ca] luminal en augmentant leur Po. **Ces résultats suggèrent qu'un complexe de CSQ, de triadine 1 et de junctine confère aux RYR une sensibilité lumineuse au Calcium.** La CSQ sert apparemment de capteur luminal de Ca qui inhibe le canal lorsque le [Ca] luminal est faible, tandis que la

triadine 1 et/ou la junctine peuvent être nécessaires pour assurer la médiation des interactions entre la CSQ et le RYR.

En 2005, cette nouvelle analyse révèle que le « [Myocyte enhancer factor 2](#) » active les [séquences promotrices du locus humain AbetaH-J-J, codant pour l'aspartyl-bêta-hydroxylase, la junctine et le junctate](#). La caractérisation fonctionnelle du promoteur minimal dans les cellules C2C12 et dans le modèle in vivo du muscle soléaire de rat indique l'existence d'éléments cis ayant des effets positifs et négatifs sur la transcription. De plus, ces données démontrent que dans les cellules musculaires striées, le facteur de transcription MEF-2 dépendant du calcium est crucial pour l'activité de transcription dirigée par le promoteur P2. La transcription dirigée par le promoteur P2 de l'AbetaH-J-J est induite par une expression élevée de MEF-2, puis stimulée par la calcineurine et la protéine kinase I dépendante de la Ca²⁺/calmoduline, et inhibée par l'histone désacétylase 4.



Ce travail porte sur la [fonction anormale des récepteurs de la ryanodine dans l'insuffisance cardiaque](#). Les connaissances acquises grâce à la littérature récente concernant les protéines critiques et les modifications de leurs propriétés dans des conditions pathologiques permettent de mieux se positionner pour développer de nouvelles stratégies pharmacologiques ou génétiques pour le traitement de l'insuffisance cardiaque ou de l'arythmie cardiaque. Un ensemble considérable de données examinées ici indique que la fonction anormale des RyR joue un rôle important dans la pathogenèse de l'insuffisance cardiaque. Cette revue couvre également certaines questions controversées dans la littérature concernant l'implication de la phosphorylation et du FKBP12.6. Différents domaines du récepteur de la ryanodine cardiaque. Un schéma récapitulatif permet d'obtenir une image de la chaîne polypeptidique du RyR cardiaque et les domaines de liaison de PP1, PP2, PKA, CaM et FKBP12.6 sont indiqués. PP1, PP2, et PKA se lient au RyR cardiaque par

l'intermédiaire de leurs protéines adaptatrices spécifiques. Trois motifs Leu zipper (LZ1, LZ2, et LZ3) sur le RyR2, qui forment des sites de liaison pour les protéines adaptatrices spécifiques, sont également indiqués. Les trois principales régions divergentes (non homologues) (DR1, DR2 et DR3) sont également indiquées.

De plus dans cette étude de nouvelles données figurent concernant [les récepteurs de la ryanodine, canaux de libération du Calcium](#) avec la question suivante: capteurs cellulaires de redox ? Les effets des modifications redox endogènes de RyR sur le préconditionnement cardiaque seront également analysés. Dans l'hippocampe, l'activation séquentielle de ERKs (extracelular signal-regulated kinase) et de CREB (cAMP/Ca²⁺ response element binding protein) est une condition nécessaire à l'expression génique Ca²⁺-dépendante associée à une plasticité synaptique de longue durée. **Les résultats montrent que les espèces réactives d'oxygène/azote modifient les canaux RyR des neurones** et l'activation séquentielle médiée par RyR des ERKs et CREB neuronaux produite par le peroxyde d'hydrogène et d'autres stimuli seront également discutés.

En 2006, Cette analyse conforte les précédent résultats sur [les isoformes de RyR et l'expression spécifique au type de fibre des protéines contrôlant la concentration de calcium intracellulaire dans les muscles](#) squelettiques. Cette brève revue a pour but de discuter la base moléculaire de cette corrélation, afin de parvenir, sur la base de la littérature disponible, à une réponse à la question de savoir s'il existe une corrélation dans l'expression des protéines déterminant la vitesse de raccourcissement, les isoformes de myosine en premier lieu, et les protéines contrôlant la concentration de calcium cytosolique et ses variations au repos ou pendant la contraction. Bien que **les isoformes de RyR, les canaux de libération du calcium sarcoplasmique, ne montrent pas une expression étroitement coordonnée avec les isoformes de myosine**, d'autres protéines impliquées dans le contrôle du calcium intracellulaire le font. Ceci est probablement suffisant pour garantir la corrélation entre la vitesse maximale de raccourcissement et la vitesse de contraction isométrique.

Il est découvert selon ce travail [l'existence de nouveaux régulateurs des canaux de libération du Ca²⁺ des RyR](#). Cet analyse présente un aperçu des changements moléculaires dans les myopathies génétiquement liées. Il est ainsi discuté des preuves soutenant l'hypothèse selon laquelle les mutations dans chacune de ces situations modifient les interactions protéine-protéine au sein du complexe RyR ou entre le RyR et ses protéines associées. La perturbation de ces interactions protéine-protéine peut entraîner soit une libération excessive de Ca²⁺, soit une libération réduite de Ca²⁺ et donc une homéostasie anormale du Ca²⁺. Une grande partie des preuves de la perturbation des interactions protéine-protéine a été fournie par les actions d'un groupe de nouveaux régulateurs du RyR, des peptides de domaine dont les séquences correspondent aux séquences du RyR et qui entrent en compétition avec les résidus endogènes pour leurs sites d'interaction. Comme le montre la figure 1, une fibre musculaire squelettique, montrant la membrane de surface s'invaginant en tubules transversaux (t-) qui contiennent des canaux Ca²⁺ de type L DHPR. Quatre DHPR forment une tétrade qui s'oppose à un canal RyR sur deux dans les citernes terminales des SR.

Il est question dans cette étude de la [régulation des récepteurs de ryanodine des muscles squelettiques et cardiaques pendant le repos et l'excitation](#). Le présent article passe en revue les facteurs contrôlant l'activité des RyRs dans les muscles squelettiques et cardiaques en

mettant l'accent sur les connaissances mécanistiques dérivées des méthodes d'enregistrement à canal unique. 4. En outre, la nature du **contrôle des récepteurs de la dihydropyridine (DHPR) sur les RyRs dans le muscle squelettique, dérivée d'expériences avec des fragments peptidiques de la boucle II-III du DHPR, est examinée.** 5. Enfin, des expériences récentes sur les RyRs couplés dans des bicouches lipidiques et leur potentiel pour résoudre les mécanismes insaisissables contrôlant la libération de calcium pendant la contraction cardiaque sont discutés.

On va alors établir qu'une protéine de liaison du Calcium est riche en histidine. Cela représente un régulateur de la séquestration du calcium du réticulum sarcoplasmique et de la fonction cardiaque. Les niveaux d'expression de la protéine baptisée la triadine et la densité de courant du canal Calcique de type L ont augmenté, alors que la cinétique d'inactivation du canal n'a pas été modifiée. **L'altération de l'absorption de Ca par le SR et les taux de déclin de Ca retardés ont déclenché l'hypertrophie et compromis les réponses du cœur à un stress accru par une surcharge hémodynamique ou par le processus de vieillissement.** À l'âge de 18 mois, le remodelage cardiaque s'est détérioré jusqu'à l'insuffisance cardiaque congestive chez les souris transgéniques. Collectivement, ces données suggèrent que le HRC peut être une protéine régulatrice intégrale impliquée dans l'absorption du Ca par le SR du muscle cardiaque et dans l'homéostasie du Ca.

Une régulation particulière pour la régulation du calcium au sein du Réticulum Sarcoplasmique semble indiquer la participation conjointe de la Triadine et de la Junctine avec la protéine liant le calcium dite riche en Histidine (HRC).

En 2007, il est découvert que la surcharge calcique du réticulum sarcoplasmique est impliquée dans la déficience en junctine ce qui améliore la contractilité cardiaque mais augmente l'automatisme ventriculaire. Le gène de la junctine a été ciblé dans des cellules souches embryonnaires, et une souris déficiente en junctine a été générée. L'ablation de la junctine a été associée à une amélioration de la fonction cardiaque in vivo, et les cardiomyocytes déficients en junctine ont présenté des paramètres contractiles et de cycle Ca plus élevés. La stimulation à court terme par l'isoprotérénol a provoqué des arythmies, notamment des contractions ventriculaires prématurées, un bloc cardiaque auriculo-ventriculaire et une tachycardie ventriculaire. La perfusion d'isoprotérénol à long terme a également induit des contractions ventriculaires prématurées et un bloc cardiaque auriculo-ventriculaire chez les souris dépourvues de junctine. Un examen plus approfondi de l'activité électrique a révélé une augmentation significative de l'occurrence des post-dépolarisations retardées. De manière cohérente, **25 % des souris junctine-null sont mortes à l'âge de 3 mois avec des cœurs structurellement normaux.** En conclusion de toutes ces données, la junctine est à considérer comme un régulateur essentiel de la libération de Calcium du réticulum sarcoplasmique et de la contractilité dans les cœurs normaux. L'ablation de la junctine est associée à **une homéostasie aberrante du Calcium, ce qui entraîne des arythmies fatales.** Ainsi, le cycle normal du Calcium intracellulaire dépend du maintien des niveaux de junctine et d'un équilibre complexe entre les composants du complexe quaternaire de signalisation du Ca du réticulum sarcoplasmique.

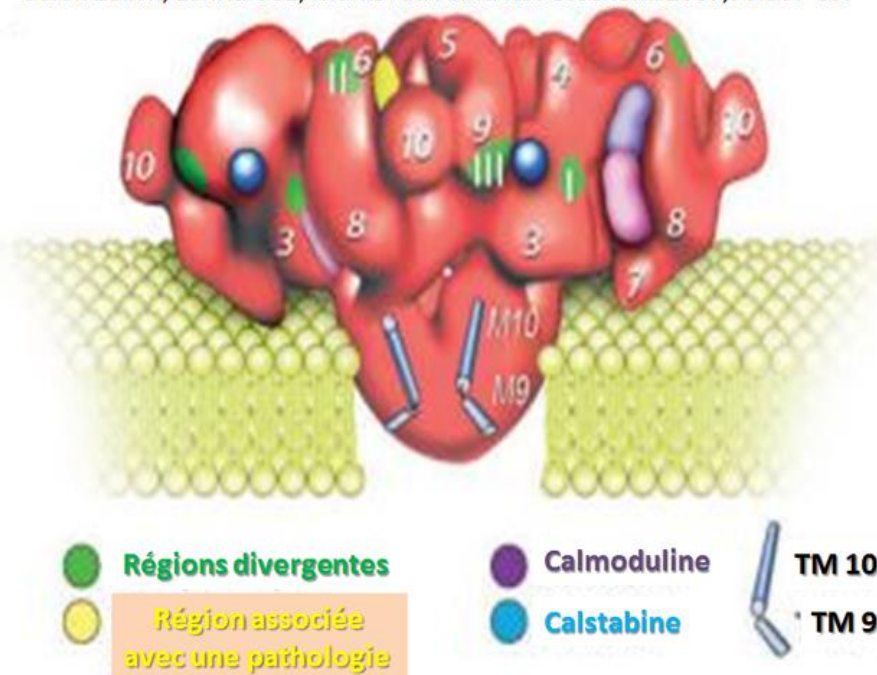
On va impliquer la Junctine dans la [régulation du processus de l'homéostasie calcique](#). Puis on identifia progressivement la Junctine dans un [complexe macromoléculaire autour du récepteur de la Ryanodine](#) (RyR). La Junctine est alors présentée comme un [régulateur important de la contraction](#) au niveau des myocytes cardiaques. Une [mise au point de son point rôle](#) au sein du muscle cardiaque est réalisé en 2007. Mais la situation doit [aussi tenir compte du fait de la présence de diverses versions de cette protéine](#) sous forme d'isoformes, soit 1 longue et plusieurs courtes de la Junctine proprement dite, et de la présence de versions similaires nommées « Junctate ». Des travaux sur le sujet autour des protéines de type Junctine/«Junctate», décrivent [des conditions de stimulations particulières](#) et présentent [divers niveaux de contrôle de l'expression](#) de ces protéines.

Il est par ailleurs décrit l'existence des [Agonistes et antagonistes du récepteur cardiaque de la ryanodine](#). Ces derniers sont-ils des agents thérapeutiques potentiels ? Les composés qui réduisent l'activité de RyR sont potentiellement utiles dans les cas où une activité excessive de RyR déclenche des arythmies ou épuise les réserves de Ca(2+), comme dans l'insuffisance cardiaque terminale. Il a été récemment découvert que l'action cardio-protectrice du médicament JTV519 peut être attribuée en partie à sa capacité à stabiliser l'interaction entre le RyR et la protéine de liaison de 12,6 kDa du médicament immunosuppresseur FK506 couramment utilisé (FKBP12.6, connu sous le nom de tacrolimus). Ceci a établi la crédibilité du RyR comme cible thérapeutique. Il est ainsi exploré la **possibilité que les mutations causant les rares arythmies liées au RyR ouvrent la voie à l'identification de nouveaux agents thérapeutiques basés sur le RyR**. L'utilisation de sites de liaison régulateurs au sein du complexe RyR ou sur ses protéines associées comme modèles pour la conception de médicaments est discutée.

Progressivement c'est la découverte de [nouvelles cibles pour le traitement des maladies cardiaques et musculaires](#). Ces dernières seraient susceptible de favoriser la stabilisation des récepteurs de la ryanodine et la prévention de la fuite de calcium intracellulaire. Un nombre croissant de maladies génétiques et acquises ont été associées à une fuite intracellulaire de Ca(2+). Dans l'insuffisance cardiaque, par exemple, le complexe RyR est altéré, ce qui entraîne un dysfonctionnement chronique des canaux et une fuite chronique de Ca(2+) du réticulum sarcoplasmique. Récemment, et dans l'article en référence il est fait mention de **l'efficacité de nouveaux médicaments stabilisant les canaux de libération du Ca(2+)** comme cela a été démontrée dans des modèles de maladies du muscle cardiaque et du muscle squelettique. (Consulter la figure dans l'article en référence sur l'illustration schématique en 3D du canal RyR et du complexe de signalisation).

Divers domaines de la structure des récepteurs de la ryanodine (RyR)

Selon Zalk R, Lehnart SE, Marks AR. Annu Rev Biochem. 2007;76:367-85.



Il est alors indiqué dans ce travail comment une [modulation du récepteur de la ryanodine et du calcium intracellulaire apparaît possible](#). Il existe un grand domaine cytoplasmique du RyR qui sert d'échafaudage pour les protéines qui se lient et modulent la fonction du canal et qui constituent un complexe de signalisation macromoléculaire. Ces protéines comprennent les calstabines [FK506-binding proteins (FKBPs)], la calmoduline (CaM), la phosphodiesterase, les kinases, les phosphatases et leurs protéines cibles cognates. Cette revue se concentre sur les progrès récents dans la compréhension de la régulation des RyR et des mécanismes pathologiques qui sont associés au dysfonctionnement des canaux. Un schéma présente les divers domaines identifiés dans la **structure des récepteurs de la ryanodine (RyR)**. Cette représentation schématique de la structure globale du RyR, montre la localisation relative de la calmoduline (violet), de l'Apo-calmoduline, de la calstabilité (bleu), des trois régions divergentes (vert), de la région centrale de mutation associée à la maladie (jaune) et des hélices de la région du pore.

Puis on va disposer de diverses données sur les [récepteurs de la ryanodine comme cibles pharmacologiques pour les maladies cardiaques](#). Les changements dans la régulation des canaux et la composition des sous-unités sont censés provoquer une fuite de calcium diastolique du réticulum sarcoplasmique, ce qui pourrait déclencher des arythmies et affaiblir la contractilité cardiaque. Par conséquent, les RyR cardiaques sont apparus comme des cibles thérapeutiques potentielles pour le traitement des maladies cardiaques. Puis finalement, il existe bien un fort désir d'identifier et/ou de développer de nouveaux agents pharmacologiques qui pourraient cibler ces voies de signalisation du Ca^{2+} . Les **agents pharmacologiques connus pour moduler les RyR dans le cœur, et leur application potentielle dans le traitement des maladies cardiaques** sont discutés dans cette revue.

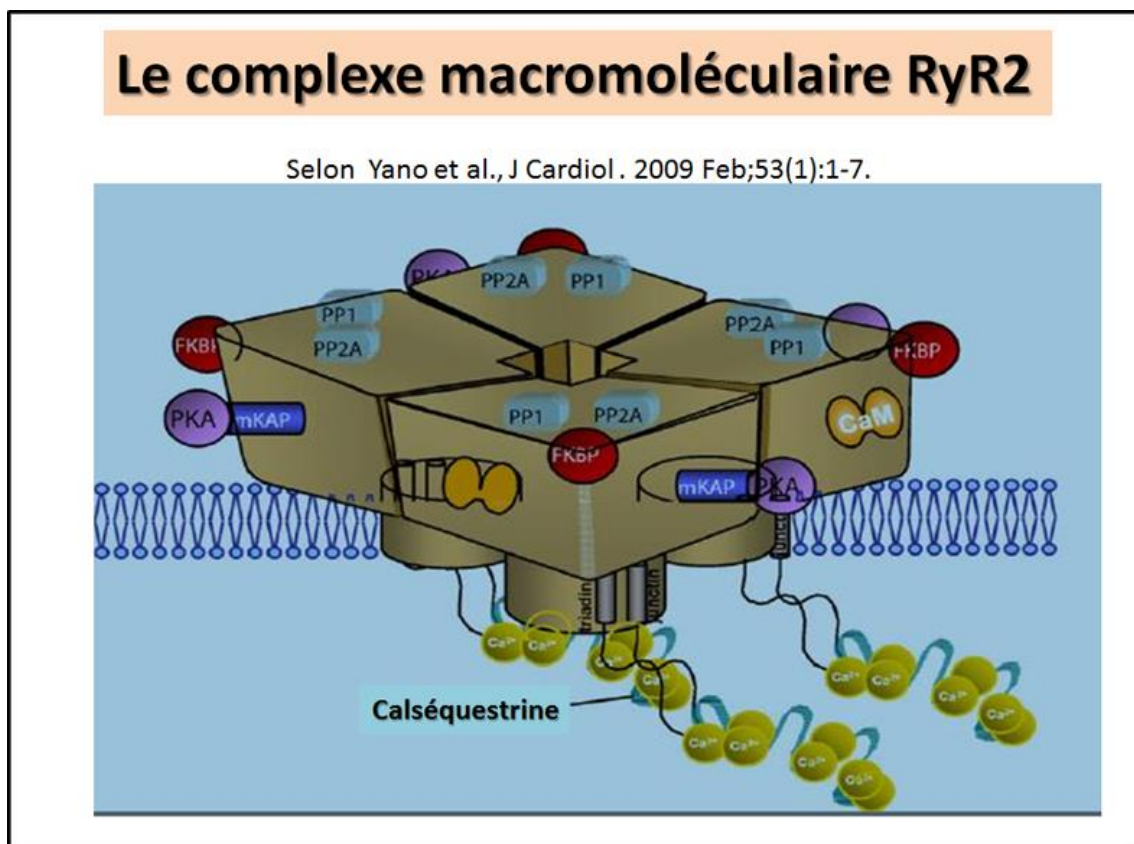
En 2008, cette étude porte sur le [remodelage du complexe des récepteurs de la ryanodine qui ce provoque des canaux " fuyants " = un mécanisme moléculaire pour la diminution de la capacité d'exercice](#). Des souris présentant une délétion de calstabin1 spécifique des muscles squelettiques ou une déficience en phosphodiesterase PDE4D ont présenté une capacité d'exercice significativement réduite. Une petite molécule (S107) qui empêche la déplétion de calstabin1 du complexe RyR1 a amélioré la génération de force et la capacité d'exercice, réduit l'activité de la calpaïne protéase neutre dépendante du Ca^{2+} et les niveaux de créatine kinase plasmatique. L'ensemble de ces **données suggère un mécanisme possible par lequel la fuite de Ca^{2+} via les canaux RyR1 appauvris en calstabin1 conduit à une signalisation défectueuse du Ca^{2+}** , à des dommages musculaires et à une capacité d'exercice réduite.

Il est par ailleurs démontré dans ce travail qu'il existe des [mécanismes distincts pour les dysfonctionnements des isoformes mutées du récepteur de la ryanodine](#). Le récepteur de la ryanodine (RyR) est le canal de libération du Ca^{2+} induit par le Ca^{2+} dans les cellules. RyR1 et RyR2 sont ses isoformes exprimées dans les muscles squelettiques et cardiaques, respectivement. Leurs mutations faux-sens, qui sont regroupées dans trois régions qui se correspondent, provoquent des troubles héréditaires tels que l'hyperthermie maligne et la maladie du noyau central dans le muscle squelettique et la tachycardie ventriculaire polymorphe catécholaminergique dans le muscle cardiaque. Leurs pathogénies, cependant, ne sont pas bien comprises. Les hypothèses suivantes sont favorablement discutées dans cet article : **les phénotypes avec des mutations de RyR1 et RyR2 sont principalement causés par des dysrégulations de leurs fonctions** à travers l'interaction interdomaine et le Ca^{2+} luminal, respectivement.

Dans cette analyse il est fait un bilan sur [la découverte des récepteurs de la ryanodine du muscle](#). Présenté sous forme d'un mini-reportage qui a pour but de présenter un compte rendu personnel, du point de vue du laboratoire qui a mené ces recherches sur le RyR, de la découverte, de l'isolement et de la caractérisation des récepteurs de la ryanodine dans les muscles des mammifères. Il existe trois isoformes : le récepteur de ryanodine 1 (RyR1), isolé pour la première fois du muscle squelettique à contraction rapide de lapin ; le récepteur de ryanodine 2 (RyR2), isolé pour la première fois du cœur de chien ; et le récepteur de ryanodine 3 (RyR3), isolé pour la première fois du muscle diaphragme de bovin. Les récepteurs de la ryanodine sont les plus grandes structures de canaux connues. **Les isoformes de RyR sont très similaires**, bien que présentant des différences importantes. Chez l'homme, des mutations naturelles de ces récepteurs ont déjà été associées à un certain nombre de maladies musculaires.

Il est présenté dans cette revue [un ensemble d'études sur la fonction RyR in situ](#). Les récepteurs de la ryanodine (RyRs) sont des canaux intracellulaires de libération du Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique (SR) impliqués dans de nombreuses réponses cellulaires, notamment le couplage excitation-contraction musculaire. De multiples méthodes biochimiques et biophysiques sont disponibles pour étudier les fonctions des RyRs. Cependant, la plupart d'entre elles sont quelque peu limitées car elles ne peuvent être utilisées que pour examiner des canaux purifiés du RS et non plus dans leur environnement naturel. Dans cette revue, il y est abordé les diverses méthodes optiques permettant d'étudier les fonctions des RyR in situ. Il y est décrit plusieurs techniques d'étude des signaux intracellulaires locaux (microscopiques) de Ca^{2+} (aussi appelés étincelles de Ca^{2+}) au moyen

de la microscopie confocale et de la photolyse flash de composés engagés. La discussion porte sur la manière dont **ces études peuvent et vont continuer à contribuer à notre compréhension de la fonction des RyR** dans des conditions physiologiques et pathologiques.



En 2009, il est possible de mieux comprendre [le rôle du récepteur de la ryanodine comme centre de régulation du Ca²⁺\(+\) dans les cœurs normaux et défaillants](#). La distribution unique des sites de mutation a donné lieu à l'idée que l'interaction entre les domaines de régulation putatifs au sein du RyR pourrait jouer un rôle clé dans la régulation de l'ouverture du canal, et qu'il semble y avoir une anomalie commune dans le trouble du canal entre l'insuffisance cardiaque et la tachycardie ventriculaire polymorphe catécholaminergique (TAVC) ou la cardiomyopathie ventriculaire droite arythmogène de type 2 (CMDA2). Il est ici mis en revue l'ensemble considérable de preuves concernant la défaillance du canal RyR2 dans la pathogenèse de l'insuffisance cardiaque et de l'arythmie létale. Un exemple illustré du **complexe macromoléculaire RyR2** figure dans cette illustration présente ci-contre. Le RyR cardiaque (RyR2) et les protéines satellites sont indiqués. La calmoduline (CaM), FKBP12.6 (calstabin2), la protéine kinase A (PKA), la phosphatase 1 (PP1) et la phosphatase 2A (PP2A) se lient à la région cytoplasmique du RyR. La junctine et la triadine, qui ancrent la calsequestrine au RyR2 en fonction de la concentration de Ca²⁺ dans le SR, se lient au côté luminal du RyR2.

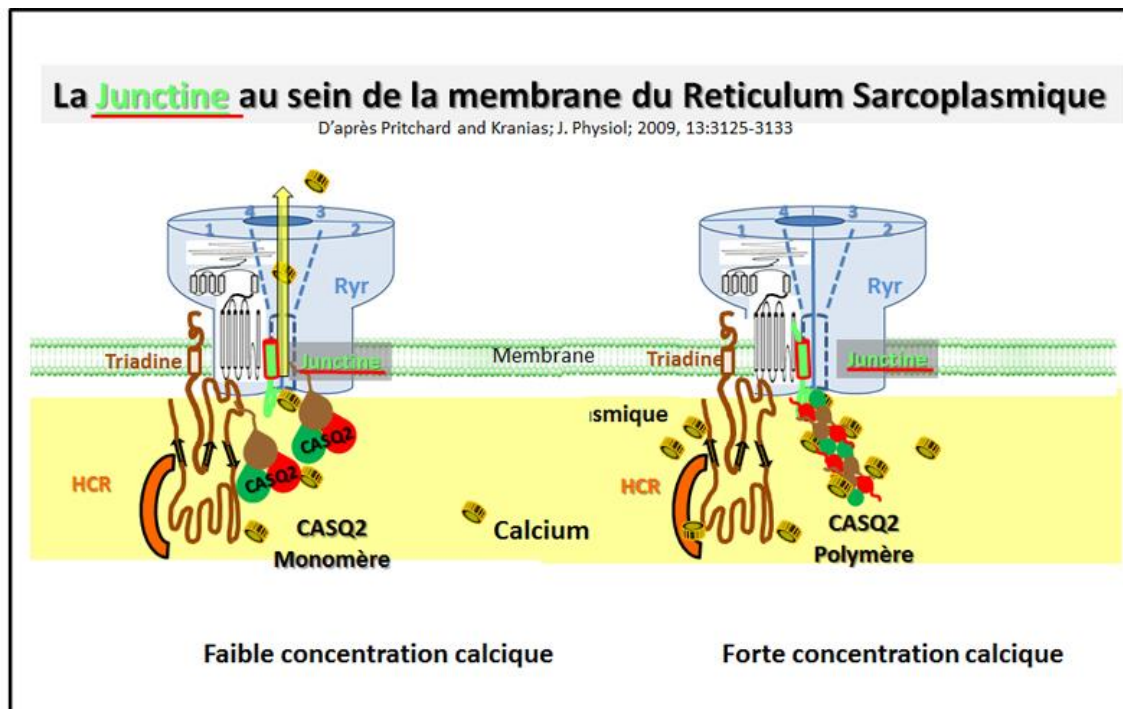
Il apparaît alors dans ce travail qu'il existe une [activation luminale du Ca²⁺\(+\) des récepteurs cardiaques de la ryanodine par les domaines luminaux et cytoplasmiques](#). Les récepteurs de la ryanodine forment le canal de libération du calcium dans la membrane du réticulum sarcoplasmique (RS, le principal réservoir intracellulaire de Ca²⁺). L'importance des récepteurs de la ryanodine (RyR) dans l'organisation et la rythmicité du rythme cardiaque est mise en évidence par plus de 69 mutations, les mutations de RyR, qui sont à l'origine d'arythmies et de mort subite cardiaque. Bien que la plupart de ces mutations se situent dans

des domaines cytoplasmiques, elles provoquent toutes **une activation accrue des RyR par le Ca(2+) dans la lumière du SR**. Il est ainsi présenté ici une revue des mécanismes par lesquels les domaines cytoplasmiques du RyR peuvent déterminer l'activation lumineuse.

Il est alors établi que le [contrôle des canaux de libération du calcium des récepteurs de la ryanodine des muscles](#) est réalisable par des protéines situées dans la lumière du réticulum sarcoplasmique. Ainsi il apparaît que **le statut de phosphorylation de la calsequestrine 1** est jugé important : il influence la capacité de liaison du Ca(2+) de la calsequestrine, la manière dont la calsequestrine 1 régule le RyR1 et la manière dont la calsequestrine 1 interagit avec la protéine d'ancrage clé, la junctine. 5. Dans le muscle squelettique, la junctine joue un rôle plus critique que la triadine dans le mécanisme qui contrôle la libération de Ca(2+) du réticulum sarcoplasmique. 6. La relation étroite entre **l'expression altérée et le dysfonctionnement de la calsequestrine dans plusieurs troubles squelettiques et cardiaques souligne le rôle critique que joue la calsequestrine** dans le maintien de l'homéostasie du Ca(2+) et la régulation de la contraction musculaire.

Par ailleurs il semble que les [protéines baptisées Homer seraient susceptibles d'interactions avec le récepteur de la ryanodine](#). Il existe de nombreuses protéines Homer qui peuvent s'auto-associer grâce à un domaine de type hélice/hélice (coiled-coil) qui permet leur multimérisation. Dans d'autres tissus, en particulier les neurones, une protéine Homer ancre les protéines incorporées dans la membrane de surface au canal de libération du Ca(2+) dans le réticulum endoplasmique et peut ancrer les protéines membranaires ou cytosoliques au cytosquelette. Bien que cet aspect d'ancrage de la fonction d'Homer n'ait pas été étudié de manière approfondie dans le muscle, il existe des séquences consensus pour la liaison d'Homer dans le RyR et sur de nombreuses protéines avec lesquelles il interagit dans le complexe massif du canal ionique RyR. Dans cette revue, il est exploré **le potentiel d'Homer à contribuer à une variété de processus cellulaires dans les muscles et les neurones** qui impliquent également les canaux RyR. (Consulter aussi le schéma de la figure 3).

Cette autre analyse concerne la [libération de calcium induite par une surcharge de stockage comme mécanisme de déclenchement des épisodes de CPVT \(=Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia\) et de MH \(Malignant hyperthermia\) causés par des mutations des gènes RYR et CASQ](#). Pour évaluer les mérites relatifs des hypothèses selon lesquelles les phénomènes de SOICR (store overload-induced Ca²⁺ release) agissent directement par l'intermédiaire de RyR ou par l'intermédiaire d'un complexe RyR-Tri-CASQ, examinons les caractéristiques essentielles des maladies. Tout d'abord, l'hérédité dominante des mutations de RyR dans la CPVT et l'HM est attendue, puisque l'ouverture de canaux anormaux en présence de canaux normaux fermés peut provoquer toutes les manifestations de la maladie. Pourquoi alors tous les cas de TVPC causés par des mutations CASQ2 sont-ils hérités de manière récessive ? Si **le dérèglement d'un complexe CASQ2-Tri-RyR2 était la cause de la maladie, la mutation d'un seul allèle CASQ2 suffirait à déclencher une activation anormale dans des complexes anormaux**, se manifestant par une arythmie - mais ce n'est pas le cas.

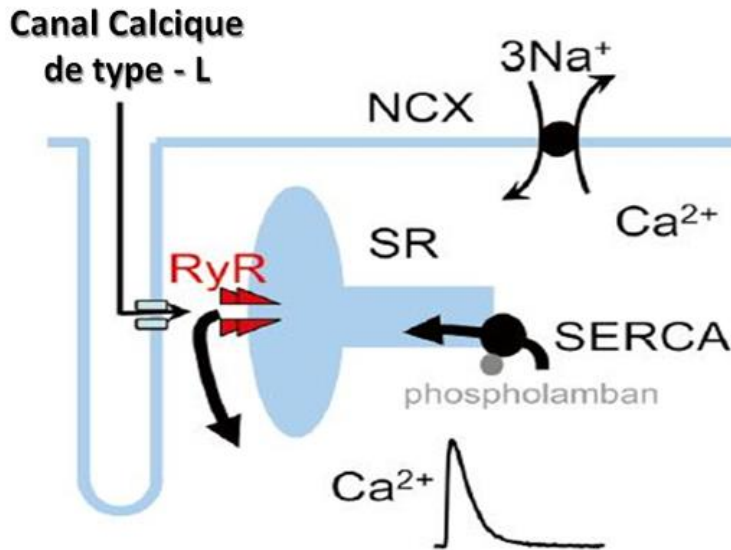


Il apparaît par ailleurs dans [cette revue que la junctine \(JCN\) est bien](#) une protéine de liaison du calcium riche en histidine dont **les rôles potentiels dans l'insuffisance cardiaque et l'arythmogénèse sont illustrés**. Cette revue résume les rôles de la JCN et de la Ryr dans le cycle du Ca^{2+} du SR et leur importance potentielle dans l'insuffisance cardiaque.

L'ensemble de ces données sont réunies dans un schéma où la lumière du réticulum sarcoplasmique est chargée en Calcium (disques jaunes) avec la Junctine et la Triadine qui figurent dans la membrane du RS en association avec le récepteur Ryr. Selon la concentration en calcium (faible ou forte) on a ainsi un assemblage avec une ou plusieurs Calséquestrines formant des polymères et un canal Ryr actif qui laisse passer le calcium ou pas.

Puis il est de nouveau question du [rôle précis des sous-types de récepteurs de la ryanodine dans l'initiation et la formation d'étincelles de calcium mais dans le muscle lisse artériel](#) : une comparaison avec le muscle strié. La régulation négative de RyR2 jusqu'à un certain degré est compensée par une augmentation du contenu calcique du SR pour normaliser les étincelles de calcium. Ce couplage indirect entre Ca^{2+} et RyR dans les cellules de muscle lisse (SMC = smooth muscle cell) artérielles est opposé à celui du muscle strié, où le déclenchement **des étincelles calciques est contrôlé par une communication croisée rapide et directe entre les canaux de type L Ca^{2+} et les RyR**. Nous discutons du rôle des isoformes de RyRs dans l'initiation et la formation des étincelles de calcium dans les SMCs et de leurs partenaires de liaison moléculaire et régulateurs possibles, qui diffèrent par rapport au muscle strié.

Divers événements impliqués dans le couplage excitation-contraction

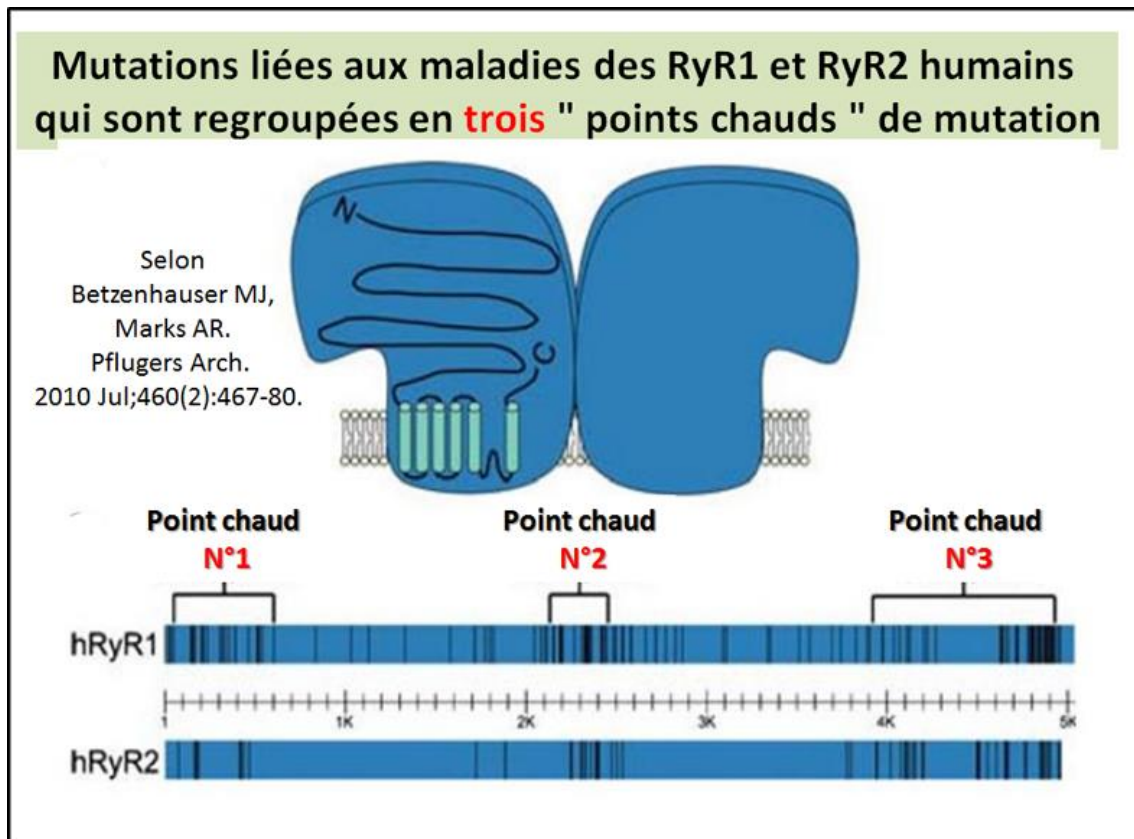


Selon Eisner et al., Circ J. 2009 Sep;73(9):1561-7.

Il est alors fait **un constat de corrélation** entre le [récepteur de la ryanodine et les arythmies cardiaques](#). Il s'agit du mécanisme cellulaire produisant des post-dépolarisations retardées et il est commun aux arythmies produites par la toxicité des digitalines et la tachycardie du canal de sortie du ventricule droit. Plus récemment, il a été suggéré que des ondes Ca^{2+} arythmogènes peuvent également se produire si les propriétés du RyR sont modifiées, entraînant une augmentation de la probabilité d'ouverture du RyR, par exemple par phosphorylation. Cependant, dans cette revue, des preuves expérimentales seront présentées pour soutenir l'idée que de telles arythmies nécessitent toujours un seuil de teneur en Ca^{2+} du SR pour être dépassées et que ce seuil est diminué par l'augmentation de la probabilité d'ouverture du RyR). Un schéma des événements impliqués dans le couplage excitation-contraction est présenté ci-contre. (i) Le calcium entre dans la cellule via des canaux Ca de type L situés dans la membrane de surface et (comme indiqué) dans les tubules transversaux. (ii) Une partie de ce Ca se lie au récepteur de la ryanodine (RyR), ce qui le fait s'ouvrir et libère ainsi beaucoup plus de Ca dans un processus connu sous le nom de libération de calcium induite par le calcium. (iii) La libération de Ca entraîne le transitoire Ca systolique et donc la contraction. (iv) La relaxation se produit lorsque le Ca est réduit à des niveaux de repos par une combinaison d'absorption dans le réticulum sarcoplasmique (SR) via SERCA et d'élimination de la cellule par l'échange Na-Ca électrogène (NCX). La protéine régulatrice phospholamban est également représentée.

En 2010, Il apparaît évident que dans la [cadre de la dystrophie musculaire de Duchenne il y a des fuites de RyR2 qui déclenchent des arythmies ventriculaires](#). Les RyR2 de cœurs mdx ont été S-nitrosylés et appauvris en calstabin2 (FKBP12.6), ce qui a entraîné une " fuite " des canaux RyR2 et une fuite diastolique de Ca^{2+} dans le SR. L'inhibition de la déplétion de calstabin2 du complexe RyR2 avec le stabilisateur de canal Ca^{2+} S107 ("rycal") a inhibé la fuite de Ca^{2+} du RS, a inhibé la dépolarisation aberrante dans les cardiomyocytes isolés et a prévenu les arythmies in vivo. Cela suggère que la fuite diastolique de Ca^{2+} dans le SR via

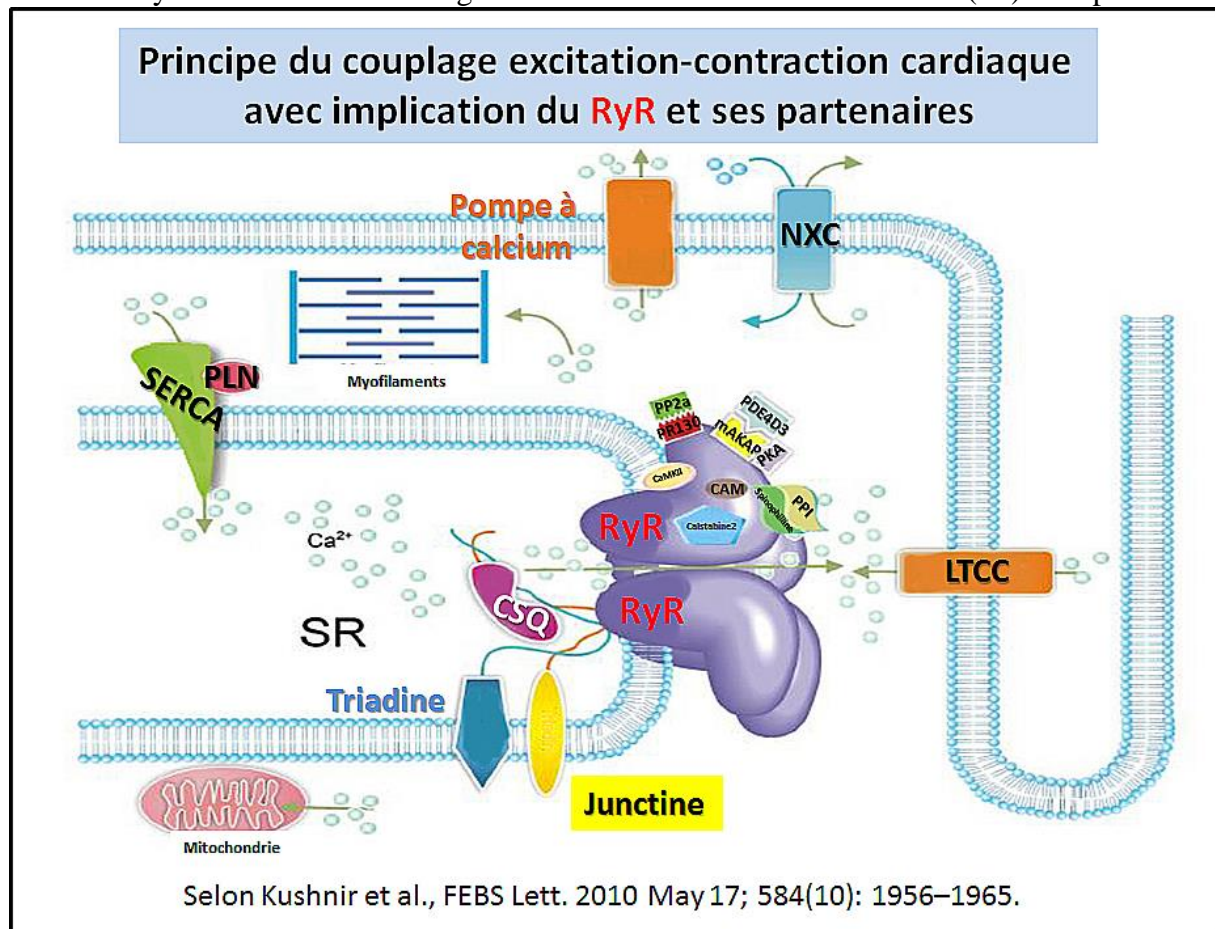
RyR2, due à la S-nitrosylation du canal et à **la déplétion de calstabin2 du complexe du canal, déclenche probablement des arythmies cardiaques**. La normalisation de la fuite diastolique de Ca^{2+} du RS médiée par RyR2 prévient les arythmies cardiaques soudaines et fatales dans la DMD.



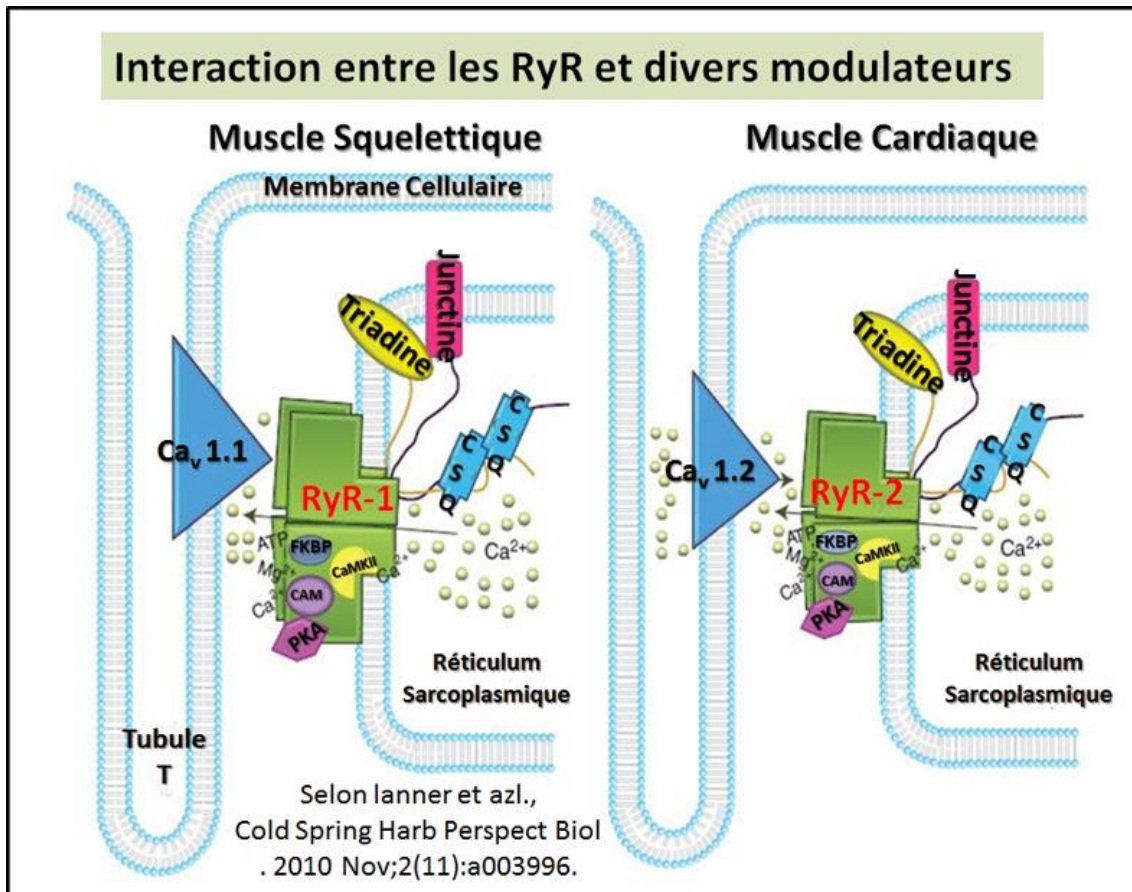
Par ailleurs on parle de « pathologie des canaux calciques= [canalopathies](#) » [impliquant les récepteurs de la ryanodine](#). Au cours des 20 dernières années, de nombreuses mutations des deux isoformes de RyR ont été identifiées et associées à des maladies squelettiques et cardiaques. L'hyperthermie maligne, la maladie du noyau central et la tachycardie ventriculaire polymorphe catécholaminergique ont été génétiquement liées à des mutations dans RyR1 ou RyR2. Ainsi, les canalopathies RyR sont à la fois intéressantes parce qu'elles provoquent des maladies humaines importantes et parce qu'elles fournissent des systèmes modèles qui peuvent être étudiés pour élucider les relations structure-fonction importantes de ces canaux ioniques. **Les mutations liées aux maladies des RyR1 et RyR2 humains sont regroupées en trois " points chauds " de mutation.** Ci-contre figure la représentation de la structure tétramérique des canaux de libération du Ca^{2+} des RyR avec la topologie de la membrane superposée à l'une des sous-unités. Il existe ainsi une distribution de plus de 200 mutations causant l'hyperthermie maligne et la maladie du noyau central dans le RyR1 humain et de plus de 70 mutations associées à la tachycardie ventriculaire polymorphe catécholaminergique dans le RyR2 humain.

Dans cette étude il est abordé les conséquences d'une [ablation de la triadine des muscles squelettiques ce qui altère les interactions entre les canaux FKBP12/RyR1, essentielles au maintien du \$\text{Ca}^{2+}\$ cytoplasmique au repos](#). La surexpression de FKBP12.6 a inversé le phénotype nul, en réduisant l'entrée de Ca^{2+} au repos, en récupérant les niveaux de contenu en Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique et en rétablissant un $[\text{Ca}^{2+}]$ (repos) presque normal. La FKBP12.6 exogène a également réduit le $P(o)$ du canal RyR1 mais n'a pas sauvé le comportement de subconductance. En revanche, le FKBP12 n'a ni réduit la $P(o)$, ni rétabli le

comportement de subconductance multiple. Ces données suggèrent que l'élévation du $[Ca^{2+}]$ (au repos) dans **les myotubes dépourvus de triadine est principalement due à une activité dérégulée du canal RyR1** qui résulte en partie d'interactions fonctionnelles FKBP12/RyR1 altérées et d'une augmentation secondaire de l'entrée de Ca^{2+} au repos.



Cette nouvelle analyse concerne les études [des récepteurs de la ryanodine à l'aide de souris génétiquement modifiées](#). À ce jour, ces modèles ont impliqué les RyRs dans des processus biologiques fondamentaux, notamment le couplage excitation-contraction et la plasticité à long terme, ainsi que dans des maladies telles que l'hyperthermie maligne, les arythmies cardiaques, l'insuffisance cardiaque et les crises d'épilepsie. Dans cette revue, il est résumé l'ensemble des modèles de souris RyR et la façon dont ils ont amélioré notre compréhension des canaux RyR et de leurs rôles dans la physiologie cellulaire et les maladies. En particulier **le principe du couplage excitation-contraction cardiaque est présenté en détail**. L'entrée du Ca^{2+} par le LTCC active le RyR2 pour libérer les réserves de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique (SR) dans le cytosol où le Ca^{2+} se lie aux myofilaments, entraînant un raccourcissement des cellules et une contraction cardiaque. Le Ca^{2+} est ensuite pompé dans le RS par le SERCA, puis évacué de la cellule par l'échangeur sodium-calcium et la pompe à Ca^{2+} plasmalemale. Le RyR2 est un homotétramère régulé par de nombreuses protéines (pour simplifier, ces protéines ne sont représentées ici que sur un seul monomère du RyR).

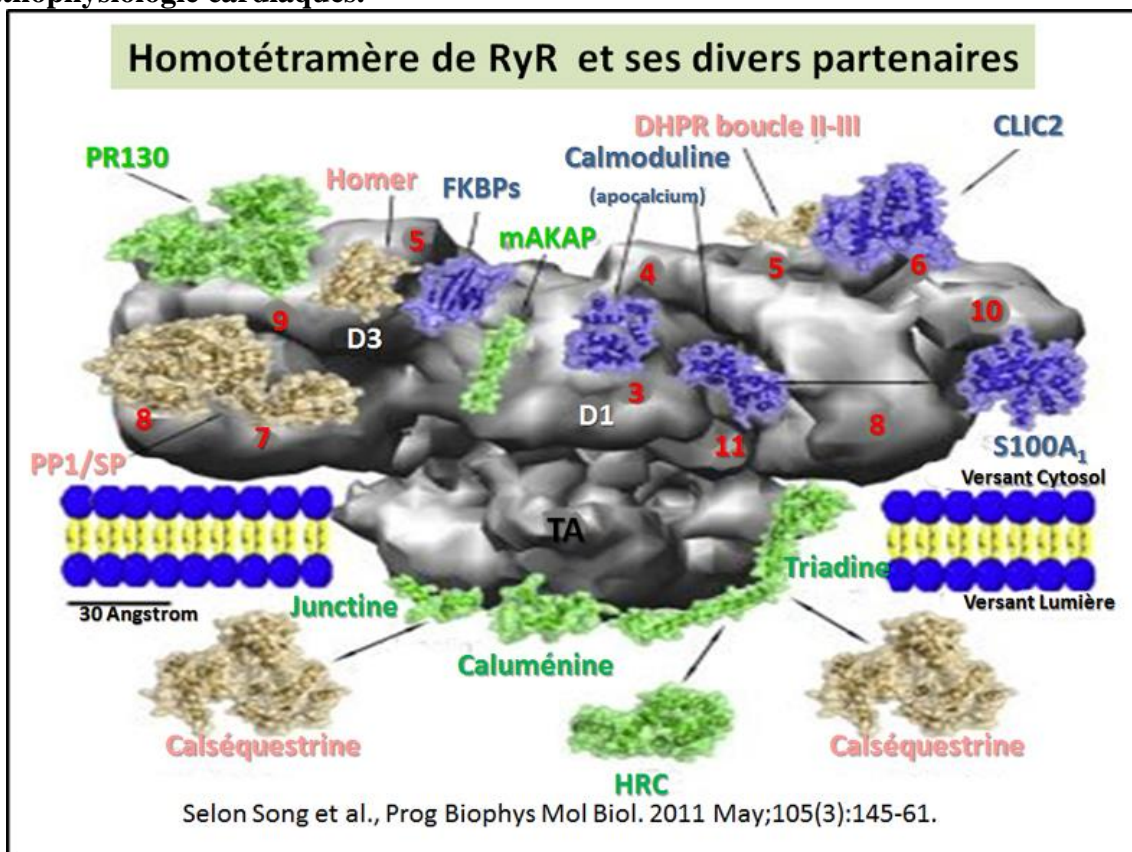


Avec ce travail on va posséder de [nouvelles informations sur les récepteurs de la ryanodine](#) : **structure, expression, détails moléculaires et fonction dans la libération du calcium**. La plupart des modulateurs du canal RyR interagissent avec le grand domaine cytoplasmique tandis que la partie carboxy-terminale de la protéine forme le pore conducteur d'ions. Les mutations du RyR2 sont associées à des troubles humains tels que la tachycardie ventriculaire polymorphe catécholaminergique, tandis que les mutations du RyR1 sont à l'origine de maladies telles que la maladie du noyau central et l'hyperthermie maligne. Ce chapitre examine les concepts actuels de la structure, de la fonction et de la régulation des RyRs et évalue l'état actuel de la compréhension de leurs rôles dans les troubles associés. Une figure schématique de **l'interaction entre les RyR et divers modulateurs** est présentée ci-contre, issue de l'article en référence. Le panneau gauche illustre le muscle squelettique et le panneau droit le muscle cardiaque. Les modulateurs se lient au tétramère de RyR mais, pour simplifier, ils ne sont représentés que sur un seul monomère.

En 2011, cette analyse porte sur [après la fuite des récepteurs de la ryanodine médiée par l'activation de la caspase 8 ce qui entraîne une lésion du ventricule gauche après une ischémie-reperfusion myocardique](#). En utilisant un modèle de rat atteint d'une ischémie/reperfusion cardiaque « d'I/R », il est montré dans cette étude que les niveaux circulants de TNF- α et l'activité de la caspase-8 cardiaque ont augmenté dans les 6 h de la reperfusion, entraînant une production myocardique d'oxyde nitrique et de ROS mitochondriaux. 1 et 15 jours après la reperfusion, l'activation de la caspase-8 a entraîné la S-nitrosylation du RyR2 et la déplétion du calstabin2 du complexe RyR2, ce qui a provoqué une fuite de Ca(2+) du réticulum sarcoplasmique (SR) diastolique. L'inhibition pharmacologique de la caspase-8 avant la reperfusion avec Q-LETD-Oph ou la prévention de la déplétion de calstabin2 du complexe RyR2 avec le stabilisateur de canal Ca(2+) S107 ("rycal") a inhibé la fuite de Ca(2+) du RS, réduit les arythmies ventriculaires, la taille de l'infarctus et le

remodelage du ventricule gauche après 15 jours de reperfusion. L'activation de la caspase-8 induite par le TNF- α entraîne une fuite des canaux RyR2 qui contribue au remodelage myocardique après l'I/R. Ainsi, la prévention précoce de la fuite de Ca(2+) **dans le SR par la normalisation de la fonction RyR2 est cardioprotectrice.**

On va trouver dans cette revue de plus amples informations sur [la protéine de liaison au calcium riche en histidine](#). Elle apparait comme le nouveau régulateur du cycle du calcium du réticulum sarcoplasmique. En fait, des preuves générées in vitro suggèrent que l'HRC (protéine de liaison au calcium riche en histidine) interagit directement avec la Ca(2+)-ATPase2 des SR, ce qui soutient un double rôle de l'HRC dans l'homéostasie du Ca(2+) : régulation de l'absorption du Ca(2+) des SR et de la libération du Ca(2+). En outre, l'HRC joue un rôle important dans la différenciation des myocytes et dans la cardioprotection antiapoptotique contre les lésions cardiaques induites par l'ischémie/reperfusion. Il est intéressant **de noter que le HRC a été associé à une maladie de conduction cardiaque familiale et qu'il a été démontré qu'un polymorphisme du HRC était associé à des arythmies ventriculaires malignes** dans le cadre d'une cardiomyopathie dilatée idiopathique. En conclusion cette revue résume les études qui ont établi le rôle critique du HRC dans l'homéostasie du Ca(2+), **suggérant son importance dans la physiologie et la pathophysiologie cardiaques.**

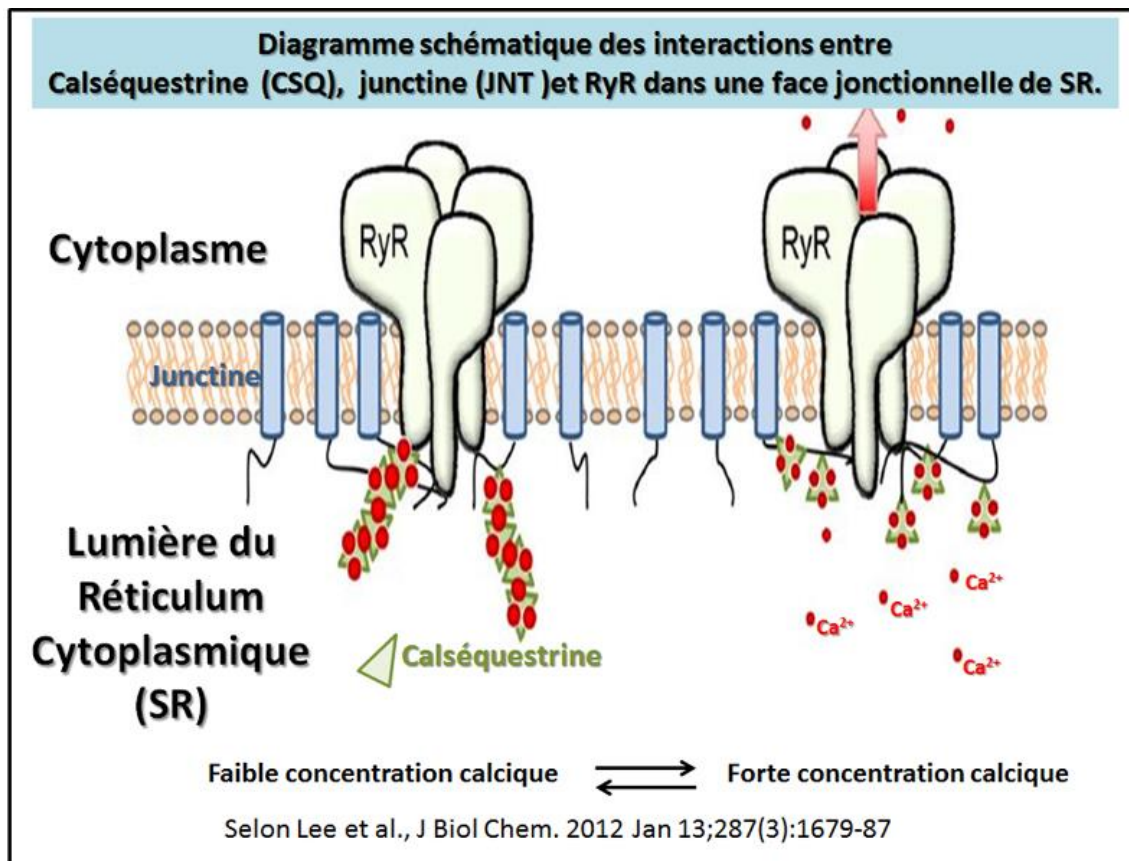


Une étude récapitulative va fournir des données sur l'[assemblage des récepteurs de la ryanodine](#). C'est une revue qui propose une nouvelle approche de la biologie des systèmes pour la cartographie 3D. De nombreuses preuves provenant de diverses sources suggèrent que les RyRs en conformation homo-tétramérique forment un canal perméable au Ca(2+) à grande conductance dans le canal central dit « pore » et les grands domaines cytoplasmiques. Les RyRs forment un large assemblage avec diverses protéines cytosoliques et luminales. Un certain nombre d'articles ont été publiés concernant les fonctions des RyRs et la régulation des

protéines associées, mais la structure tridimensionnelle (3D) de l'assemblage n'a pas été abordée en détail. Dans cet article, il a été tenté d'établir une carte 3D de l'assemblage des RyRs en considérant les données cryo-EM publiées, les informations cristallographiques aux rayons X disponibles et les méthodes de modélisation moléculaire. La carte 3D de l'assemblage des récepteurs de la ryanodine est présentée ci-dessous. **La grande structure grise montre une vue latérale de l'homotétramère de RyR.** Afin de montrer les interactions entre le RyR lié à la membrane du SR et ses protéines associées, la carte de reconstruction cryo-EM à particule unique du RyR1 de lapin à l'état fermé à une résolution de 10 Å a été utilisée. L'emplacement de chaque domaine est marqué en rouge. Les protéines interagissant avec le RyR sont affichées avec une couleur identique à celle de la Fig. 2 de l'article en référence. Les sites d'interaction avec le RyR des protéines associées au RyR ont été résolus par cryo-EM et par des tests PPI, et sont illustrés séparément en bleu et en brun clair, respectivement. Les protéines indiquées en vert sont des structures d'interaction qui ont été générées par modélisation de l'homologie. D1 et D3 (blanc) et TA (noir) indiquent le domaine d'assemblage DR et TM, respectivement. DR2 est situé dans le sillon caché par les domaines 5 et 6.

De nouvelles données permettent de mieux comprendre la [régulation du récepteur de la ryanodine du muscle cardiaque](#) par les **glutathion transférases**. Il est ici discuté sur des interactions entre un membre non enzymatique de la famille structurale de la **glutathion transférase** (GST), la protéine CLIC-2 (canal intracellulaire chlorure de type 2), qui inhibe à la fois RyR1 et RyR2. La possibilité que les protéines GST et CLIC2 se lient à différents sites sur le RyR, et que différentes structures au sein des protéines GST et CLIC se lient aux canaux du RyR, est discutée. En conclusion il est proposé que la partie C-terminale de la GSTM2-2 puisse constituer la base d'un composé thérapeutique à utiliser dans les troubles cardiaques.

Par ailleurs cette revue est un récapitulatif sur les [connaissance actuelle des récepteurs de la ryanodine \(RyRs\)](#). Les RyRs agissent comme des tableaux de distribution moléculaires qui intègrent une multitude de signaux cytosoliques tels que les fluctuations dynamiques et stables du calcium, la stimulation β -adrénergique (phosphorylation), la nitrosylation et les états métaboliques, et transforment ces signaux au pore du canal pour libérer les quantités appropriées de calcium. En effet, la dérégulation de la libération de calcium par les RyRs est associée à des maladies potentiellement mortelles dans les muscles squelettiques et cardiaques. Dans cet article, il est passé brièvement en revue certains des attributs structurels et fonctionnels les plus remarquables des RyRs et leur mécanisme de régulation. De plus, cette revue **aborde le dysfonctionnement pathogène des RyRs impliqué dans les maladies cardiovasculaires et les myopathies squelettiques.**



En 2012, il est maintenant bien établi un rôle majeur des [interactions de la protéine Junctine dans la dynamique cellulaire du polymère formé entre la calséquestrine et le récepteur de la ryanodine](#). Il y a évolution de l'association de la calsequestrine lors d'une perturbation calcique. L'analyse FRET a révélé des interactions constantes entre la -2 (CSQ2) et la junctine (JNT), quelle que soit la concentration de Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique (SR), ce qui implique que JNT est un composant essentiel de l'échafaudage CSQ. Des études de solubilité in vitro, de microscopie électronique et de microscopie à force atomique utilisant des protéines recombinantes purifiées ont confirmé le désassemblage du polymère CSQ2 dépendant du Ca^{2+} et de la JNT. Par conséquent, nous concluons que **la polymérisation et la dépolymérisation réversibles de la CSQ sont essentielles à l'homéostasie du Ca^{2+} dans le SR**. Diagramme schématique des interactions entre CSQ, JNT et RyR dans une face jonctionnelle du SR. Lorsque les concentrations de Ca^{2+} augmentent, JNT se coordonne avec le polymère CSQ en croissance à proximité d'une réserve de Ca^{2+} localisée par RyR près de l'orifice de libération. Lors de l'ouverture du canal et du déploiement des ions Ca^{2+} , la CSQ attachée à JNT subit une dépolymérisation. Les représentations respectives de la CSQ, la JNT et du Calcium sont symbolisées par des triangles vert, des tubes bleus et des points rouges.

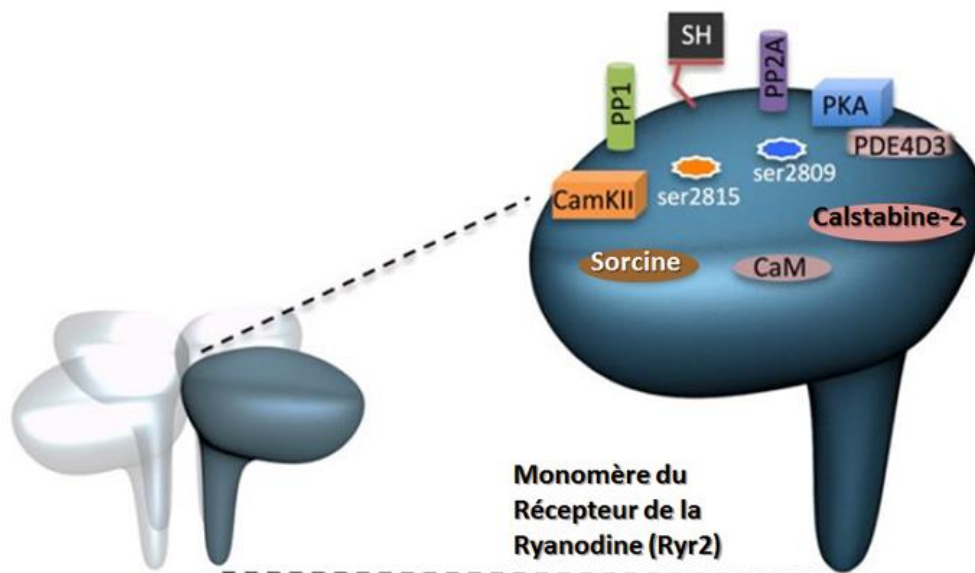
De nombreux détails figurant dans le travail présenté sur l'organisation de la Triade au niveau du muscle squelettique et sur le rôle de la Triadine dans l'organisation du Réticulum. L'absence conjointe de la Triadine et de la Junctine chez la souris indique le rôle particulier et spécifique de chacune de ces 2 protéines pour ce qui concerne l'ancrage des Calséquestrine sur le Réticulum Sarcoplasmique dit « de jonction » (jSR) et plus largement sur l'homéostasie

du calcium. Des détails et des illustrations permettent de mieux illustrer l'exacte zone d'interaction entre le récepteur de la Ryanodine et la Triadine en particulier avec la séquence des résidus 200 à 232 de la Triadine (voir schéma des partenaires).

Dans cette revue il est question des [divers brevets concernant les récepteurs de la ryanodine](#). Diverses découvertes ont conduit à la mise au point de nouveaux médicaments, d'outils de dépistage et de méthodes de recherche. Les brevets associés à ces avancées racontent l'histoire de la découverte initiale des RyRs comme **cible des alcaloïdes végétaux, de leur rôle central dans le couplage excitation-contraction des muscles cardiaques et squelettiques, et des essais cliniques en cours avec une nouvelle classe de médicaments appelés RycalsTM qui inhibent la fuite intracellulaire pathologique de Ca(2+)**. En outre, ces brevets mettent en lumière les questions, les controverses et les orientations futures dans le domaine des RyR.

Les avancées depuis 2013 sont les suivantes : Une nouvelle investigation montre clairement que le récepteur de la ryanodine de type 2 représente bien une nouvelle cible thérapeutique dans l'ischémie/reperfusion myocardique. Des travaux récents ont mis en évidence le défaut potentiel des canaux de libération du calcium du réticulum sarcoplasmique (récepteur de la ryanodine, RyR) comme cause principale de la surcharge calcique au cours de l'ischémie-reperfusion. Cette découverte ouvre de nouvelles perspectives pharmacologiques pour limiter les lésions de reperfusion puisque des modulateurs allostériques capables de restaurer et de prévenir le dysfonctionnement des RyR ont été développés au cours de la dernière décennie. Le complexe macromoléculaire RyR2 est composé de quatre sous-unités RyR2 identiques. Chaque sous-unité est associée à des protéines régulatrices (calstabin2, sorcine, calmoduline (CaM)), des kinases (protéine kinase A (PKA), camoduline kinase II (CamKII)), ainsi que des phosphatases (phosphatase 1 (PP1) et phosphatase 2 (PP2)) et la phosphodiesterase 4D3 (PDE4D3). Ce complexe macromoléculaire est régulé par des modifications post-traductionnelles telles que la phosphorylation de la sérine 2815 (site de phosphorylation de CamKII) et/ou 2809 (site de phosphorylation de PKA), ou par l'oxydation/nitrosylation du groupe sulfhydryle de la cystéine (groupe SH). L'hyperphosphorylation et l'oxydation/nitrosylation des sous-unités RyR2 sont associées à la dissociation de calstabin2. Une illustration issue de l'article en référence résume cette distribution des partenaires du Ryr.

Ryr est associée avec divers partenaires



Selon Fauconnier et al., Pharmacol Ther. 2013 Jun;138(3):323-32.

Les avancées depuis 2013 sont les suivantes : Une nouvelle investigation montre clairement que [le récepteur de la ryanodine de type 2 représente bien une nouvelle cible thérapeutique dans l'ischémie/reperfusion myocardique](#). Des travaux récents ont mis en évidence le défaut potentiel des canaux de libération du calcium du réticulum sarcoplasmique (récepteur de la ryanodine, RyR) comme cause principale de la surcharge calcique au cours de l'ischémie-reperfusion. Cette découverte ouvre de nouvelles perspectives pharmacologiques pour limiter les lésions de reperfusion puisque des modulateurs allostériques capables de restaurer et de prévenir le dysfonctionnement des RyR ont été développés au cours de la dernière décennie. Le complexe macromoléculaire RyR2 est composé de quatre sous-unités RyR2 identiques. Chaque sous-unité du **RyR est associée à des protéines régulatrices (calstabile2, sorcine, calmoduline (CaM)), des kinases (protéine kinase A (PKA), camoduline kinase II (CamKII)), ainsi que des phosphatases (phosphatase 1 (PP1) et phosphatase 2 (PP2)) et la phosphodiesterase 4D3 (PDE4D3).**

On va observer [une diminution du contact entre la Junctophiline-3 et la cavéoline-3](#) dans les cardiomyopathies dilatées avec hypertrophie cardiaque. Au niveau des cardiomyocytes si l'on détecte [une expression ectopique de la Junctophiline de type 1](#) cela s'accompagne d'une altération des structures membranaires spécifiques des zones dites de Jonctions. Une approche plus précise des arythmies ventriculaires. Mise en avant du rôle majeur de la Triadine dans la signalisation autour du calcium dans le cœur. Des travaux antérieurs ont suggérés un rôle possible de la protéolyse calcium-dépendante dans le processus de découplage des dihydropyridine récepteurs (RyRs) ou de la Triadine au sein des structures impliquées dans le muscle. Cependant ni les RyRs ni la Triadine ne furent trouvées susceptible d'être protéolysées. **La Junctophiline-1 (JP1; MW=90 kDa) stabilise le système tubulaire transversal de manière étroite avec les membranes du SR dans le muscle squelettique**

adulte. L'extrémité C-terminale de la Junctophiline-1 est encastrée dans la membrane du système tubulaire transversal du SR. La distribution de l'ensemble de ces protéines est illustrée dans le schéma ci-contre au niveau d'un cardiomyocyte

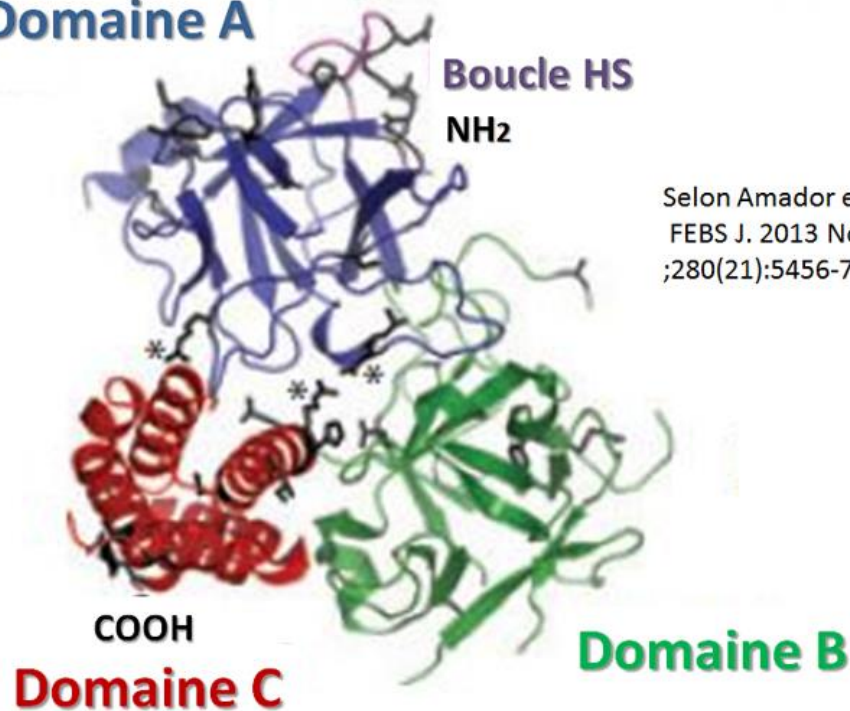
Il est question dans cette revue des [modifications post-traductionnelles des récepteurs cardiaques de la ryanodine](#). Cette revue résume les découvertes récentes sur ces modifications post-traductionnelles, et tente de faire le lien entre les découvertes moléculaires et cellulaires, tout en ouvrant une perspective pour les travaux futurs qui permettront de mieux comprendre les ramifications de la diaphonie dans ces multiples voies de signalisation. La clarification de ces interactions complexes sera importante pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques, car elle pourrait constituer la base de la mise en œuvre de régimes de traitement à plusieurs volets à l'avenir. Cet article fait partie d'un numéro spécial intitulé : Cardiomyocyte Biology : Voies cardiaques de la différenciation, du métabolisme et de la contraction. On y trouve **un schéma sur la modulation du récepteur de la ryanodine (RyR) par le Ca²⁺ et la phosphorylation**. L'influx de Ca²⁺ via le canal Ca de type L (LTCC) active le RyR et déclenche la libération de Ca²⁺ du réticulum sarcoplasmique (SR), ainsi qu'une représentation schématique des modifications redox des RyR. **Il y est ainsi illustré que les modifications du potentiel redox du myocyte** qui ont une possible influence importante sur la fonction des protéines, notamment au niveau du RyR.

Un bilan est alors proposé sur les [récepteurs de la ryanodine, signalisation calcique et régulation du tonus vasculaire dans la microcirculation du parenchyme cérébral](#). Il existe ainsi, des différences fonctionnelles notables entre les artères piales et les APs (= parenchymal arterioles). Par exemple, dans les **VSMC (vascular smooth muscle cells) pulmonaires, les événements locaux de libération de calcium (" étincelles de calcium ") par les canaux du récepteur de la ryanodine (RyR) dans la membrane SR** activent les canaux potassiques sensibles au calcium à grande conductance pour moduler le diamètre vasculaire. **En revanche, les VSMC des AP expriment des canaux RyR et BK (Ca²⁺-activated potassium) fonctionnels**, mais dans des conditions physiologiques, ces canaux ne s'opposent pas à la vasoconstriction induite par la pression. Il est résumé ici les rôles des récepteurs de la ryanodine dans la microvasculature parenchymateuse dans des conditions physiologiques et pathologiques, et **une partie de la discussion porte sur leur importance dans le contrôle du CBF (cerebral blood flow)**.

Par ailleurs une attention particulière concerne dans ce travail [le remodelage des tubules T et l'organisation des récepteurs de la ryanodine modulent les échanges sodium-calcium](#). Ce chapitre traite des conséquences fonctionnelles de la localisation de la NCX et de la façon dont celle-ci peut moduler les événements Ca(2+) diastoliques et systoliques. **La perte des tubules T et les effets sur la fonction RyR et la modulation des NCX sont explorés**, ainsi que la mesure quantitative des gradients locaux de Ca(2+) au niveau de l'espace dyadique.

Structures cristallines à haute résolution des domaines repliés ABC de RyR1

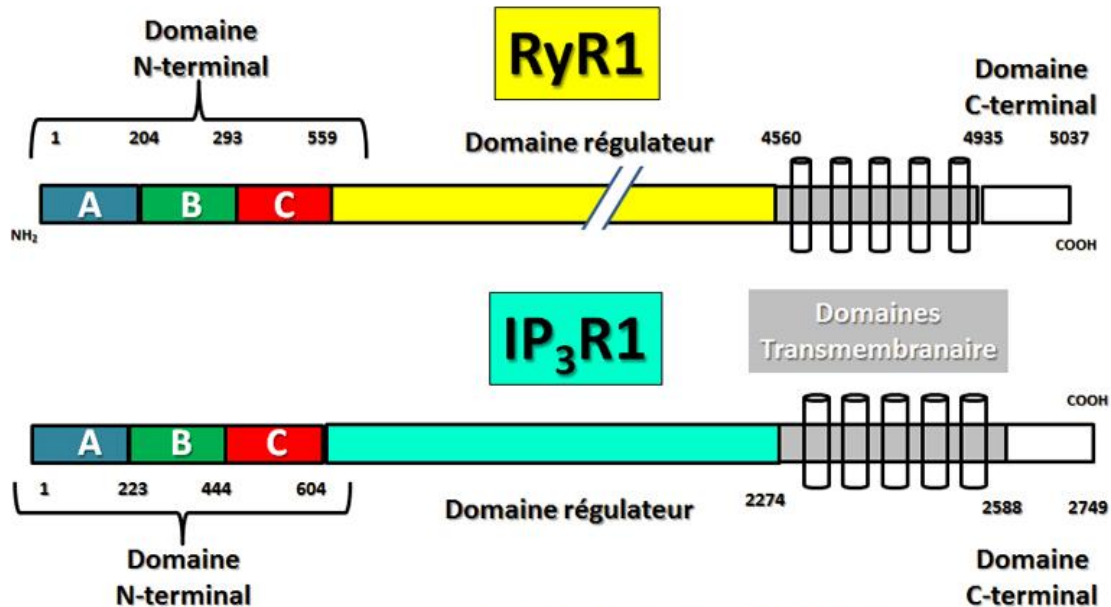
Domaine A



Selon Amador et al.,
FEBS J. 2013 Nov
;280(21):5456-70.

Puis la même année il apparait que [les connaissances sur les canaux de libération de calcium des récepteurs de la ryanodine](#) permettent de dresser les leçons des études structure-fonction. Beaucoup de ces mutations peuvent maintenant être cartographiées sur les structures à haute résolution des domaines RyR individuels et sur les structures tétramériques complètes en cryo-microscopie électronique. Un canal de libération du Ca(2+) étroitement apparenté, le récepteur de l'inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3 R), présente une architecture structurelle conservée à l'extrémité N-terminale, ce qui suggère que les deux canaux ont évolué à partir d'un RyR/IP3 R unicellulaire ancestral. Les connaissances fonctionnelles fournies par les récentes études structurales des deux canaux contribueront au développement de traitements rationnels pour une myriade de tumeurs malignes signalées par le Ca(2+). **Une première illustration permet de dresser les structures cristallines à haute résolution de divers domaines repliés de RyR** comme cela est présenté ci-contre.

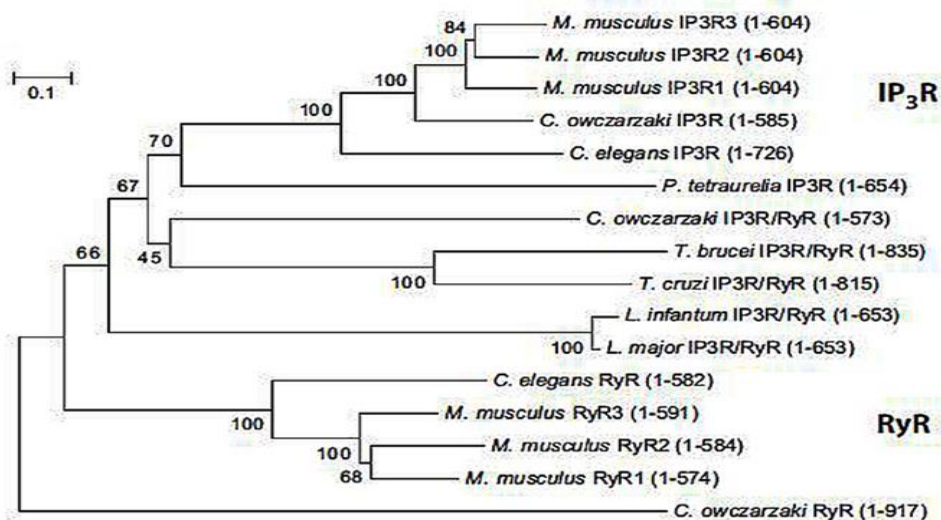
Comparaison des portraits-robots entre RyR1 et IP₃R1



Selon Amador et al., FEBS J. 2013 Nov;280(21):5456-70.

De plus une représentation schématique donne un portrait-robot avec une organisation des domaines avec des analyses génomiques entre RyRs et IP₃Rs. **Cette architecture comparative des domaines de RyR et IP₃R est d'abord représentée ci-contre.** La numérotation utilisée est celle du RyR1 de lapin et de l'IP₃R1 de rat. NTD=domaine N-terminal ; SD=domaine suppresseur ; IBC =noyau de liaison IP₃ ; TMD= domaine transmembranaire ; CTT= queue C-terminale.

Arbre phylogénétique à jointure de voisinage montrant les relations des homologues eucaryotes uni- et pluricellulaires des IP₃Rs et des RyRs.

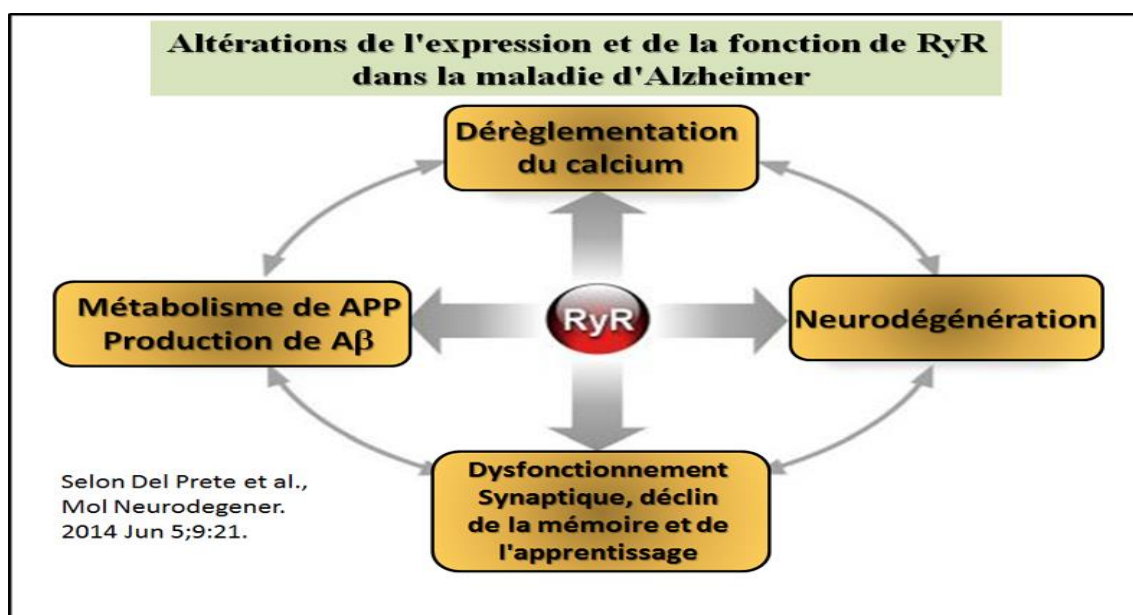


Selon Amador et al., FEBS J. 2013 Nov;280(21):5456-70.

Une seconde illustration représente un **arbre phylogénétique à jointure de voisinage montrant les relations des homologues eucaryotes uni- et pluricellulaires des IP3Rs et des RyRs**. Les chiffres entre parenthèses représentent les résidus d'acides aminés des homologues de RyR et IP3R. Les valeurs Bootstrap > 40 sont indiquées aux nœuds. La barre d'échelle représente les substitutions d'acides aminés par site. Les alignements de séquences multiples ont été réalisés avec muscle en utilisant les paramètres par défaut. L'analyse de l'assemblage par voisinage a été réalisée avec MEGA 5.

En 2014, il est de nouveau analysé dans cette étude le [rôle de la phosphorylation de RyR2 dans l'insuffisance cardiaque](#) et les arythmies \therefore . Il est particulièrement étudié l'hyperphosphorylation médiée par la protéine kinase A du récepteur de la ryanodine à la sérine 2808 ce qui n'altère pas la contractilité cardiaque et ne provoque pas d'insuffisance cardiaque ni d'arythmies. Il a ainsi depuis longtemps été démontré que les cœurs et les myocytes des souris RyRS2808A répondent normalement aux agonistes sympathiques et augmentent l'influx de Ca^{2+} , les transitoires de Ca^{2+} et l'efflux de Ca^{2+} . Bien que le RyR soit impliqué dans les perturbations du Ca^{2+} liées à l'insuffisance cardiaque, cela résulte **d'une régulation médiée par la Ca^{2+} -calmoduline kinase II et les espèces réactives de l'oxygène plutôt que par la phosphorylation du RyR2808**. Par ailleurs, une nouvelle étude a montré que les souris RyRS2808A ne sont pas protégées contre l'infarctus du myocarde. Collectivement, il existe maintenant un consensus clair dans la littérature publiée montrant que **les RyRs déréglés contribuent au phénotype altéré de régulation du Ca^{2+} du cœur défaillant, mais que la phosphorylation de RyRS2808 médiée par la PKA a peu ou pas de rôle dans ces altérations**.

Puis il est réalisé dans cette étude une [modélisation de la régulation médiée par CaMKII des canaux \$Ca^{2+}\$ de type L et des récepteurs de la ryanodine dans le cœur](#). Les modèles multi-échelles qui peuvent à la fois reconstruire la nature détaillée des événements de signalisation locaux au sein de la dyade cardiaque et prédire leurs conséquences fonctionnelles au niveau de la cellule entière ont joué un rôle important pour faire progresser notre compréhension de la fonction de CaMKII dans le CCE (=Excitation-contraction coupling (ECC)) . Cette revue fait le répertoire des **modèles de la fonction CaMKII basés sur l'expérience**, en mettant l'accent sur la régulation du canal LCC (=L-type Ca^{2+} Channels) et du RyR, ainsi que les connaissances mécanistiques qui ont été acquises grâce à leur application.



Une nouvelle revue porte alors sur [les récepteurs de la ryanodine : fonction physiologique et dérégulation dans la maladie d'Alzheimer](#). Dans cette revue, figure documents sur le réseau d'évidences suggérant que RyR pourrait jouer un double rôle complexe "compensatoire/protecteur versus pathogène" contribuant à la mise en place de lésions histopathologiques et de déficits synaptiques qui sont associés aux stades de la maladie. La discussion porte également des mécanismes possibles qui sous-tendent les altérations de l'expression et de la fonction de RyR dans la MA. Enfin, il y est répertorié l'ensemble des publications récentes montrant que le blocage de RyR par des médicaments et la manipulation génétique de RyR réduisent la production d'A β , stabilisent la transmission synaptique et préviennent les déficits d'apprentissage et de mémoire dans divers modèles de souris de la maladie d'Alzheimer (MA). Les "modulateurs" de RyR de conception chimique pourraient donc être envisagés comme de nouveaux composés thérapeutiques capables de retarder ou de bloquer la progression de la MA. Un schéma de l'implication des altérations de l'expression et de la fonction de RyR dans la MA est présenté ci-contre. La pathogenèse de la MA **médiée par les RyR se produit par le biais d'un dérèglement de la signalisation Ca²⁺, de l'amplification du métabolisme de la β APP et de la production de peptides A β , du contrôle de la mort et de la dégénérescence neuronales, du dysfonctionnement synaptique et du déclin de l'apprentissage et de la mémoire.** Le dialogue croisé fonctionnel entre ces "caractéristiques pathologiques" de la maladie d'Alzheimer place RyR au carrefour de la pathogenèse de la maladie.

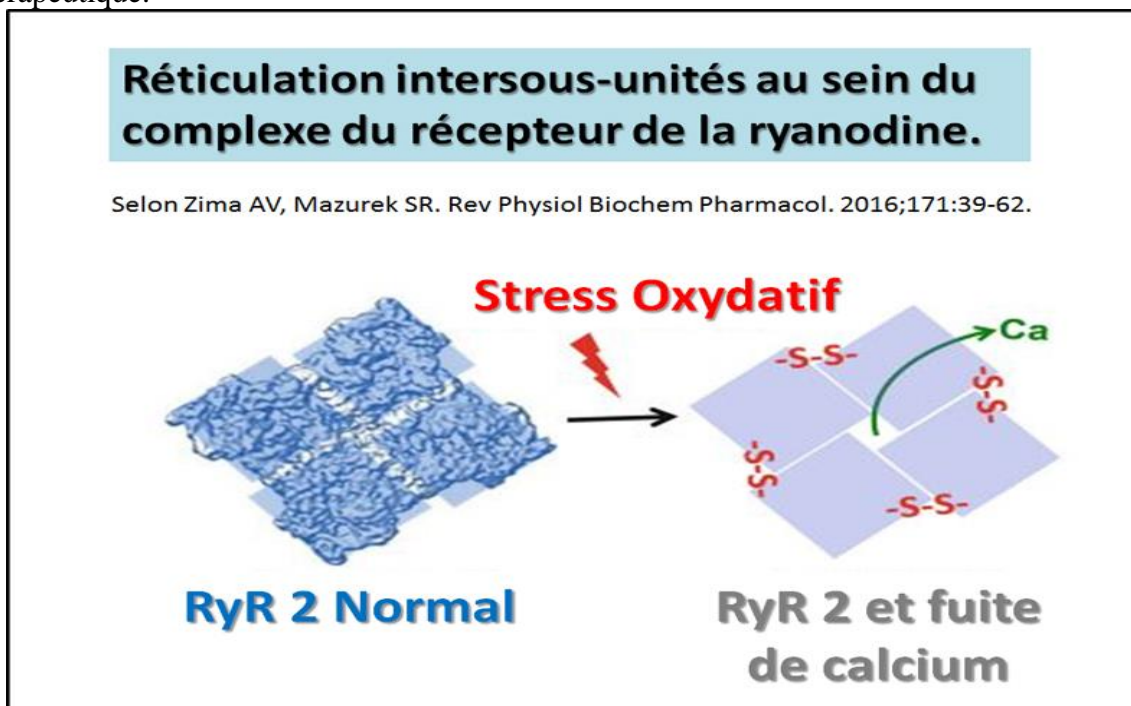
En 2015, il est plus précisément entrepris de mieux connaître [les mécanismes arythmogènes dans les channelopathies à récepteur de ryanodine](#). Il est ainsi résumé ici l'état des lieux en ce qui concerne les principaux mécanismes arythmogènes déclenchés par les canaux RyR2 hébergeant des mutations liées à la CPVT (=catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia). La plupart des mutations CPVT caractérisées à ce jour confèrent aux canaux RyR2 un gain de fonction, résultant en des canaux hyperactifs qui libèrent spontanément du Ca(2+), en particulier pendant la diastole. La libération spontanée de Ca(2+) est extrudée par l'échangeur électrogène Na(+)/Ca(2+), ce qui dépolarise la membrane externe (post-dépolarisation retardée ou DAD) et peut déclencher des potentiels d'action intempestifs. Cependant, un ensemble rare de mutations de la TVPC produit des canaux RyR2 qui sont intrinsèquement hypo-actifs et hypo-réactifs aux stimuli, et il n'est pas clair si ces canaux libèrent spontanément du Ca(2+) pendant la diastole. La discussion porte sur de nouveaux mécanismes cellulaires qui semblent plus appropriés pour expliquer les arythmies ventriculaires dues aux mutations de perte de fonction de RyR2.

Il est alors fait le constat définitif que le [récepteur de la ryanodine assure une libération de Ca²⁺ à haut débit, mais il est précisément régulé par des réseaux de protéines associées](#) : un accent sur les protéines pertinentes pour la phosphorylation. Ainsi cette revue se concentre sur les protéines qui sont pertinentes pour la phosphorylation des canaux RyR, avec une référence particulière à l'isoforme cardiaque de RyR (RyR2). La manière dont la phosphorylation de RyR affecte l'activité du canal et l'implication de protéines telles que les protéines de liaison au FK-506 (FKBP12 et FKBP12.6) sont des sujets très controversés depuis plus d'une décennie. Mais cela était prévisible étant donné le grand nombre de protéines participantes, **la pertinence de la phosphorylation dans l'insuffisance cardiaque et les maladies**

arythmiques héréditaires, et les frustrations liées à la prédiction des relations entre structure et fonction avant l'avènement d'une structure à haute résolution de RyR.

Par ailleurs avec la technique de la [Cryo-EM il est possible d'étudier selon une méthode à une seule particule le canal du récepteur de la ryanodine dans un environnement aqueux](#). Malgré les récents développements des technologies de cryo-EM et les études révolutionnaires de cryo-EM à une seule particule des canaux ioniques, la préparation des cryospécimens, en particulier la présence de détergent dans le tampon, reste le principal obstacle à l'obtention de structures à résolution atomique des canaux ioniques et d'une multitude d'autres complexes protéiques membranaires intégraux. Dans cette revue, il est particulièrement discuté des propriétés de **plusieurs détergents qui ont été utilisés avec succès dans les études cryo-EM des canaux ioniques** et de l'émergence de l'alternative détergente amphipol pour stabiliser les canaux ioniques pour la caractérisation structure-fonction. Les études structurales futures de spécimens difficiles comme les canaux ioniques seront probablement facilitées par des détergents adaptés à la cryo-EM ou des surfactants alternatifs.

En 2016, cette nouvelle étude confirme que [les récepteurs de la ryanodine en fuite contribuent à la faiblesse du diaphragme pendant la ventilation mécanique](#). Il est démontré dans le modèle murin que cette fuite anormale de Ca^{2+} du SR au repos a entraîné une réduction de la fonction contractile et une atrophie des fibres musculaires pour une plus longue durée de la MV (=mechanical ventilation). Le traitement avec des antagonistes β -adrénergiques ou avec S107, une petite molécule qui stabilise l'interaction RyR1-calstabin1, a empêché la MV. La dysfonction diaphragmatique est fréquente chez les patients MV et est une cause majeure de l'échec du sevrage des patients de l'assistance respiratoire. Cette étude fournit la première preuve à notre connaissance de l'altération de RyR1 comme mécanisme proximal sous-jacent à la VIDD (=Ventilator-induced diaphragmatic dysfunction ; c'est-à-dire la perte de fonction, l'atrophie musculaire) et identifie RyR1 comme une cible potentielle pour une intervention thérapeutique.



Il est étudié ici dans ce travail, [l'impact fonctionnel de l'oxydation des récepteurs de la ryanodine sur la régulation du calcium intracellulaire dans le cœur](#) La compréhension actuelle du dysfonctionnement de RyR2 médié par l'oxydoréduction reste incomplète. Plusieurs modifications oxydatives, notamment la S-glutathionylation et la S-nitrosylation, ont été suggérées comme jouant un rôle important dans la régulation de l'activité de RyR2. De plus, le stress oxydatif peut augmenter l'activité de RyR2 en formant des liaisons disulfure entre deux sous-unités voisines (réticulation intersous-unité). Étant donné que les interactions entre les sous-unités au sein du complexe homotétramère de RyR2 déterminent le déclenchement du canal, une telle modification post-traductionnelle de RyR2 aurait un impact significatif sur la fonction de RyR2 et la régulation du Ca²⁺. **Cette revue résume les découvertes récentes sur les modifications oxydatives du RyR2 et discute des contributions de ces modifications du RyR2 à la mauvaise gestion du Ca²⁺ du SR au cours des pathologies cardiaques.** Le stress oxydatif peut augmenter la fuite diastolique de Ca²⁺ dans le réticulum sarcoplasmique en induisant une réticulation intersous-unités au sein du complexe du récepteur de la ryanodine. Le tétramère RyR2 est représenté vu de la face cytoplasmique. Une illustration issue de l'article en référence présente schématiquement cette situation.

Une nouvelle investigation concerne [la structures du colossal canal de libération du calcium RyR1](#). Une meilleure compréhension de l'architecture et de l'association des RyRs a progressé de façon spectaculaire au cours des deux dernières années, en raison de la publication de reconstructions par **cryo-microscopie électronique (cryoEM) à haute résolution et de modèles atomiques associés de multiples états fonctionnels du récepteur du muscle squelettique, RyR1**. Cette revue récapitule les récentes avancées dans notre compréhension de l'architecture et de la porte de RyR, et il y est soulignées les lacunes restantes dans notre compréhension qui, selon les auteurs de l'article en référence, seront bientôt comblées.

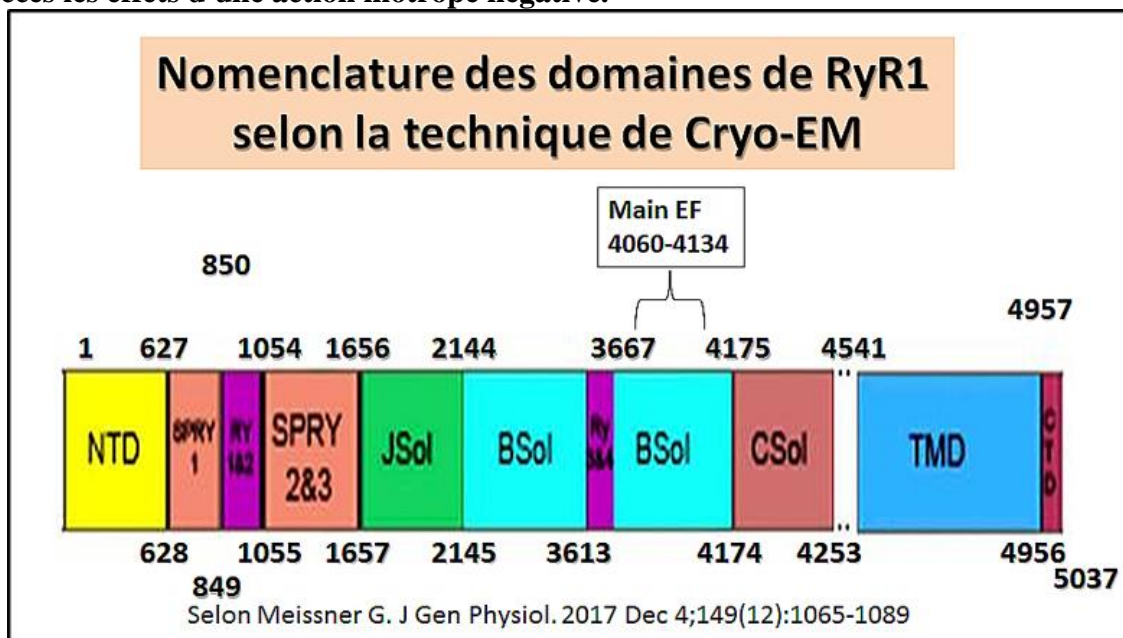
En 2017, il est mieux connu dans cette analyse [le processus qui conduit à la production d'amyloïde β qui est régulée par des modifications post-traductionnelles du récepteur de la ryanodine médiées par la signalisation β2-adrénergique](#). Le remodelage du complexe macromoléculaire RyR2, caractérisé par la déplétion de la protéine régulatrice calstabin2, a entraîné une augmentation des niveaux de Ca²⁺ cytosolique et du stress oxydatif mitochondrial. Nous rapportons également une interaction fonctionnelle entre l'amyloïde β (Aβ), la signalisation β-adrénergique et l'altération de la signalisation Ca²⁺ via des canaux RyR2 fuyants. Ainsi, des modifications post-traductionnelles de RyR se produisent en aval d'Aβ par le biais d'une cascade de signalisation β2-adrénergique qui active la PKA. Le remodelage de RyR2 améliore à son tour la transformation de la βAPP. Il est important de noter que la stabilisation pharmacologique de la liaison du calstabin2 aux canaux RyR2, qui empêche la fuite de Ca²⁺, ou le blocage de la cascade de signalisation β2-adrénergique ont réduit la transformation de la βAPP et la production d'Aβ dans les cellules SH-SY5Y exprimant l'APP. **En conclusion il apparaît que le fait de cibler la fuite de Ca²⁺ médiée par RyR pourrait être une approche thérapeutique pour traiter la maladie d'Alzheimer (Alzheimer disease =AD).**

Par ailleurs il est de plus analysé dans ce travail [le remodelage post-traductionnel du récepteur de la ryanodine induit une fuite de calcium qui entraîne des pathologies semblables à celles de la maladie d'Alzheimer et des déficits cognitifs](#). Le sauvetage pharmacologique (en utilisant un nouveau médicament stabilisateur de RyR, Rycal) ou génétique de la fuite intracellulaire

de Ca²⁺ médiée par RyR2 a amélioré la plasticité synaptique, normalisé les fonctions comportementales et cognitives et réduit la charge en Aβ. Les souris génétiquement modifiées avec une fuite congénitale de RyR2 ont présenté des défauts prématurés et sévères dans la plasticité synaptique, le comportement et la fonction cognitive. Ces données fournissent un mécanisme sous-jacent aux canaux RyR2 fuyants, qui pourraient être considérés comme **des cibles thérapeutiques potentielles de la maladie d'Alzheimer (Alzheimer disease =AD)**.

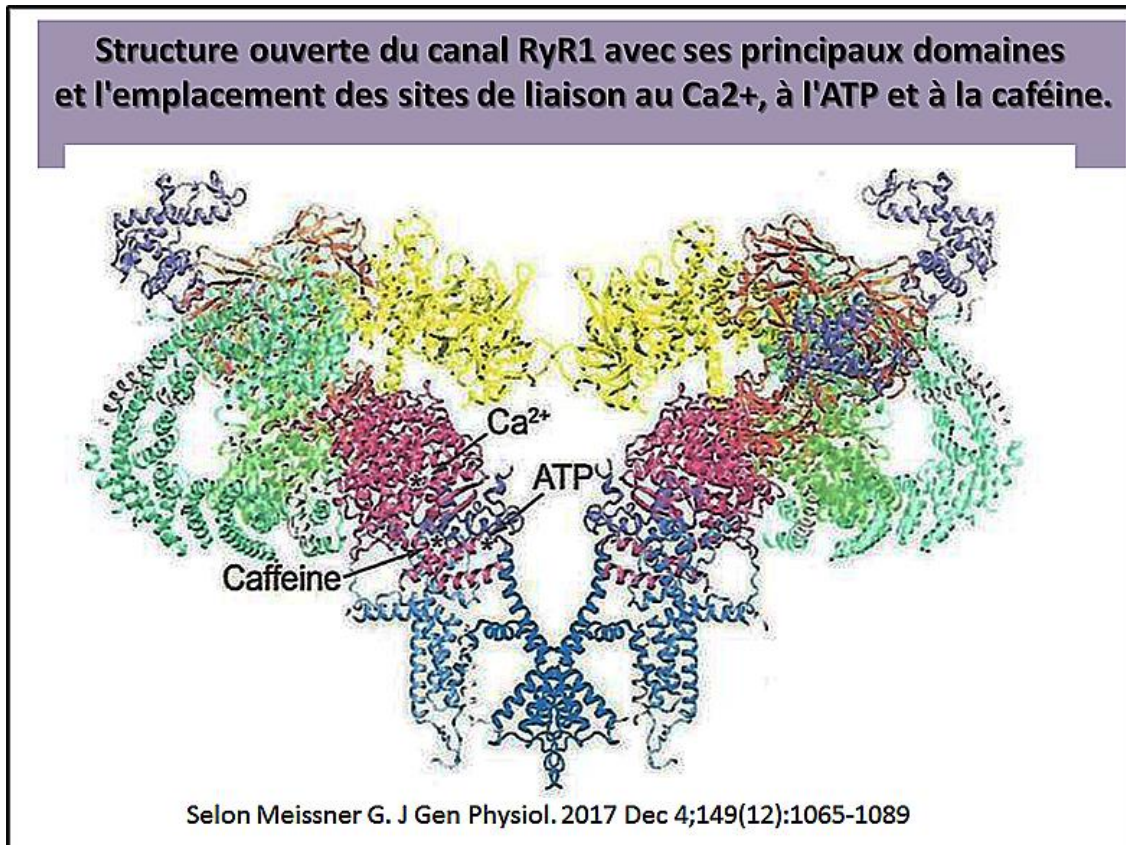
On va trouver dans cette revue un guide pour [la structure 3D du récepteur de la ryanodine de type 1 par cryoEM](#). Cette revue résume les progrès réalisés dans la détermination structurale de RyR par cryoEM et, en gardant à l'esprit le saut de solution offert par la mise en œuvre récente de la détection directe des électrons, analyse les premières structures quasi-atomiques de RyR. Celles-ci révèlent **une orchestration complexe de domaines contrôlant la fonction du canal et aident à comprendre** comment cette orchestration peut se briser à la suite de mutations pathogènes.

Puis ce sera une étude sur [l'impact de la potentialisation de RyR2 sur la fonction myocardique](#). Comme principale nouveauté de cette étude il y a l'augmentation de la probabilité ouverte du récepteur de la ryanodine (RyR)2 qui n'augmente pas la contractilité cardiaque. Cependant, la potentialisation de RyR2 déplace la relation entre le transitoire Ca²⁺ intracellulaire et le contenu en Ca²⁺ du réticulum sarcoplasmique (SR) vers un état d'efficacité accrue, ce qui peut contribuer à un effet inotrope positif, **préservé la contractilité malgré une diminution du contenu en Ca²⁺ du SR, ou contrecarrer avec succès les effets d'une action inotrope négative.**



Enfin cette année-là c'est [la base structurale de la fonction de canal ionique du récepteur de la ryanodine qui est maintenant mieux comprise](#). Les RyRs partagent ~70% d'identité de séquence, avec la plus grande similarité de séquence dans la région C-terminale qui forme le domaine transmembranaire conducteur d'ions comprenant ~500 acides aminés. Les ~4 500 acides aminés restants forment la grande structure de " pied " cytoplasmique régulateur. Des preuves expérimentales de la présence de sites sensibles au Ca²⁺, à l'ATP, à la

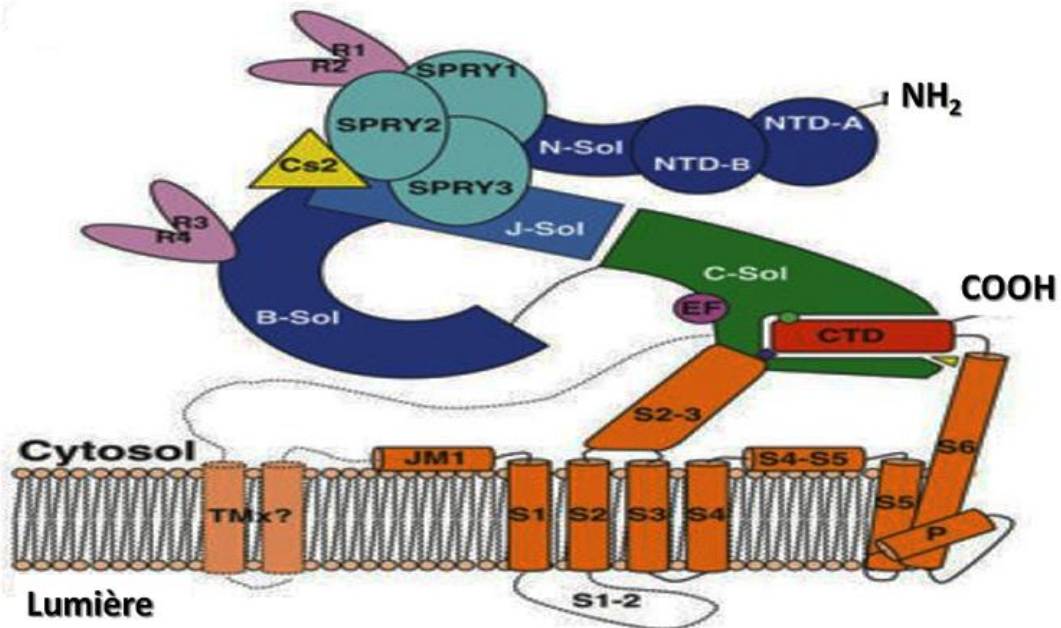
phosphorylation et au redox dans la structure cytoplasmique ont été décrites. Les effecteurs exogènes comprennent les deux agents de libération du Ca^{2+} , la caféine et la ryanodine. Des travaux récents décrivant les structures quasi atomiques des RyRs des muscles squelettiques et cardiaques des mammifères fournissent une base structurale pour la régulation des RyRs par leurs multiples effecteurs. Dans un premier temps **il est mieux défini l'ensemble de la nomenclature utilisée pour définir et identifier les domaines de RyR1** comme cela est indiqué dans l'article en référence et illustré ci-contre et cela selon la technique de Cryo-EM.



Puis selon le même article indiqué ci-dessus, **une autre illustration va permettre de proposer la structure ouverte du canal RyR1**. Cette structure (code PDB 5TAL) révèle les principaux domaines et l'emplacement des sites de liaison au Ca^{2+} , à l'ATP et à la caféine.

En 2018, il est question de mieux comprendre dans cette étude [les modifications post-traductionnelles et la fuite de calcium diastolique qui sont associées à la nouvelle mutation RyR2-D3638A entraînent une tachycardie de type CPVT \(=catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia\) dans les cardiomyocytes dérivés de hiPSC spécifiques au patient](#). Il a ainsi été identifié une nouvelle mutation RyR2-D3638A provoquant des défauts conformationnels 3D et des propriétés biophysiques aberrantes associées au remodelage post-traductionnel du complexe macromoléculaire RyR2. Le remodelage moléculaire est pour la première fois révélé en utilisant des cardiomyocytes dérivés de hiPSC spécifiques au patient, ce qui pourrait expliquer la résistance à la tachycardie de type CPVT. Cette étude promeut les **cardiomyocytes dérivés de hiPSC comme un modèle approprié pour la modélisation de la maladie**, l'essai de nouveaux composés thérapeutiques, la médecine personnalisée et le déchiffrement des mécanismes moléculaires sous-jacents.

Architecture d'un monomère du récepteur de la ryanodine



Selon Santulli G, Lewis D, des Georges A, Marks AR, Frank J. Subcell Biochem. 2018;87:329-352

De nouveau il est abordé dans ce travail la [structure et la fonction des récepteurs de la ryanodine dans la santé et la maladie](#). Les progrès récents de la microscopie électronique cryogénique à une seule particule (cryo-EM) ont permis de déterminer pour la première fois des structures de niveau atomique pour RyR. Ces structures ont mis en lumière les mécanismes par lesquels ces canaux ioniques critiques fonctionnent et interagissent avec les ligands régulateurs. Dans ce chapitre, il y est discuté des nouveautés sur la structure, des éléments fonctionnels, des mécanismes de déclenchement et d'activation des RyR dans des états normaux et pathologiques. Un schéma issu de l'article en référence, résume **l'architecture du récepteur de la ryanodine avec une représentation schématique de RyR1 représenté avec 1 seul monomère**. J-sol, solénoïde de jonction ; B-sol, solénoïde de pont ; C-sol, solénoïde de noyau ; N-sol, solénoïde de l'extrémité N-terminale. TMx, hélices transmembranaires supplémentaires putatives.

Puis une analyse porte plus précisément sur le [rôle des récepteurs de la ryanodine dans l'autophagie : quelles implications pour les maladies neurodégénératives ?](#) Ceci est plutôt surprenant si l'on considère que les RyRs sont principalement exprimés dans les cellules à longue durée de vie ayant des besoins métaboliques spécialisés, comme les neurones et les cellules musculaires, dans lesquelles l'autophagie joue des rôles importants. Dans cet article de synthèse, des études récentes révélant le rôle des RyRs dans la régulation de l'autophagie seront discutées. Plusieurs protéines interagissant avec les RyRs et dont il a été établi qu'elles modulent à la fois la fonction des RyRs et l'autophagie seront également mises en évidence. Enfin, l'implication des RyRs dans les maladies neurodégénératives sera abordée. **L'inhibition des canaux RyR s'est non seulement révélée bénéfique pour le traitement de plusieurs de ces maladies, mais elle régule également l'autophagie.**

Alors une autre recherche donne des informations originales sur le [dysfonctionnement des récepteurs de la ryanodine dans les troubles humains](#) La manipulation dysfonctionnelle du Ca²⁺ médiée par les RyR a été impliquée dans la pathogenèse de conditions héréditaires et

non héréditaires, notamment l'insuffisance cardiaque, les arythmies cardiaques, les myopathies squelettiques, le diabète et les maladies neurodégénératives. Dans cet article, il est présenté sous forme d'une revue **des preuves liant les troubles humains au dysfonctionnement des RyR et nous décrivons de nouvelles approches thérapeutiques ciblant les RyR.**

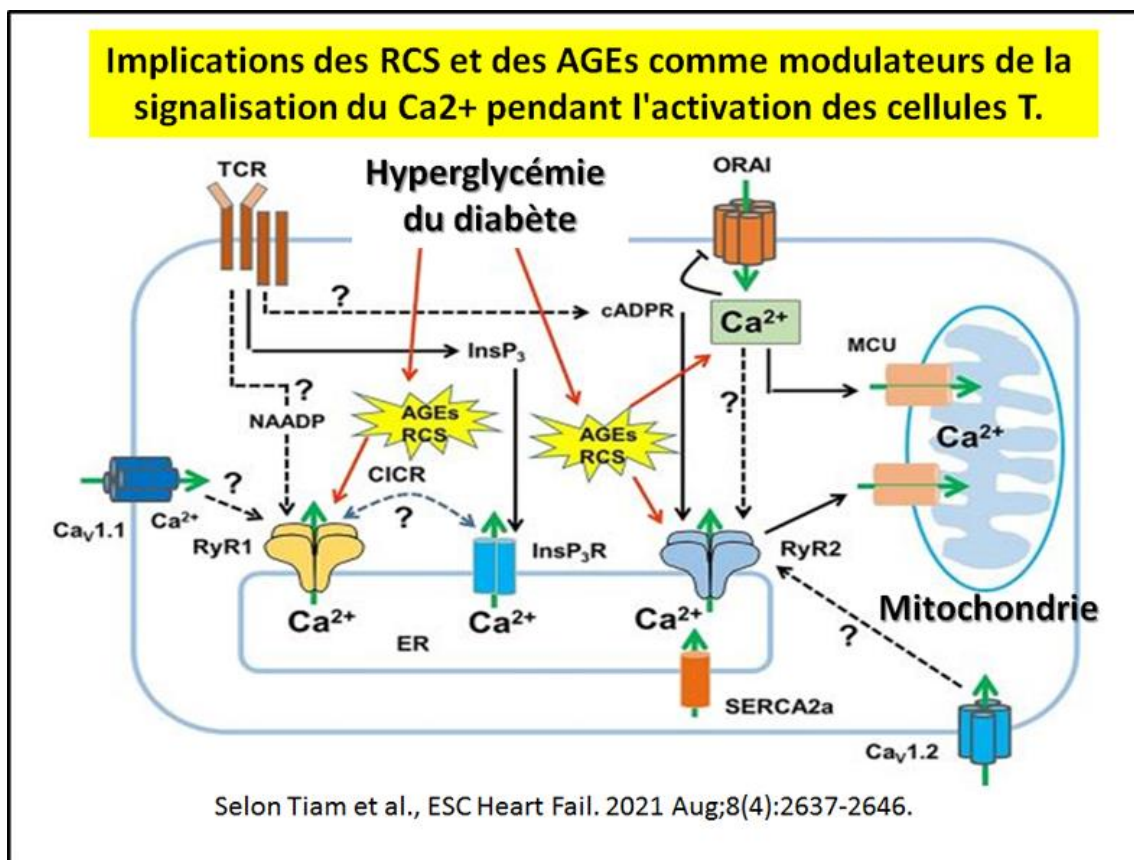
Cependant il existe aussi selon cette revue des [modifications redox-dépendantes du récepteur de la ryanodine](#). Cela permet de présenter les [mécanismes de base et les implications dans les maladies cardiaques](#). Il apparaît qu'une activation directe pourrait inclure une oxydation directe de RyR2 ainsi qu'une activation indirecte via la phosphorylation ou l'altération des interactions avec les protéines régulatrices. Sur les quatre-vingt-dix résidus de cystéine par sous-unité de RyR2, vingt et un ont été signalés comme étant à l'état réduit et pouvant être des cibles potentielles pour des modifications redox qui incluent la S-nitrosylation, la S-glutathionylation et la réticulation disulfure. Malgré son importance clinique, **les mécanismes moléculaires du dysfonctionnement des RyR pendant le stress oxydatif ne sont pas encore entièrement compris.** Dans cet article, il est présenté sous forme d'une revue les connaissances les plus récentes sur la modulation redox-dépendante de RyR2 pendant le stress oxydatif et les maladies cardiaques.

En 2020, on va trouver une nouvelle revue sur le [rôle de la régulation défectueuse du calcium dans le dysfonctionnement cardiorespiratoire de la maladie de Huntington](#). Cette revue résume les connaissances actuelles sur la biologie moléculaire des RyR des insectes, les produits chimiques ciblant les RyR des mammifères ou des insectes, et les raisons des maladies liées aux RyR des mammifères et des résistances aux diamides. Elle permet de jeter les bases d'une gestion efficace des maladies liées aux RyR des mammifères et des résistances aux diamides.

En complément cette étude donne des information récente sur la [modélisation de la tachycardie ventriculaire polymorphe au repos à l'aide de cardiomyocytes dérivés de cellules souches pluripotentes induites spécifiques au patient](#). En conclusion de cette étude, dans un modèle basé sur une mutation ponctuelle de RyR2 qui est associée à une tachycardie de type TPMV (=polymorphic ventricular tachycardia (PMVT)) à couplage court au repos, **les cellules souches de types hiPSCMs RyR2-H29D ont présenté une homéostasie intracellulaire aberrante du Ca²⁺**, des potentiels d'action raccourcis, des arythmies et des propriétés contractiles anormales.

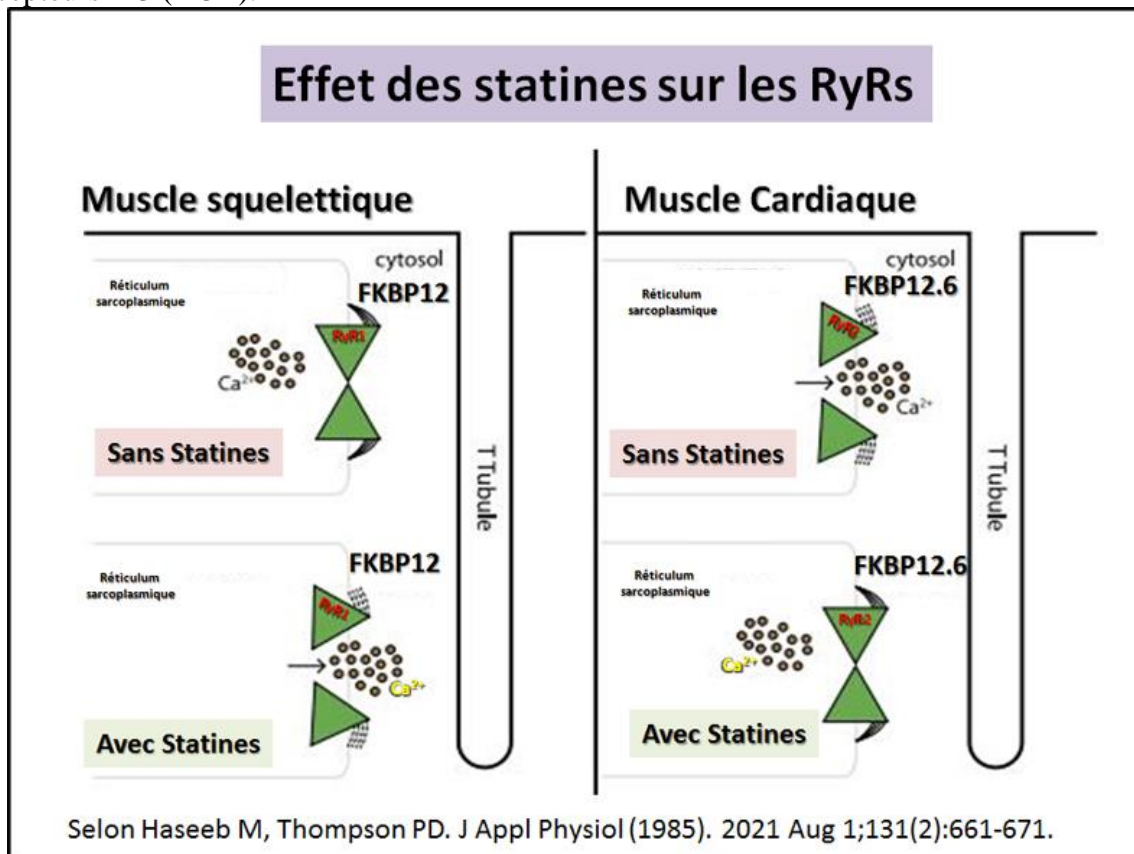
Finalement cette analyse montre comment cibler le [remodelage post-traductionnel du récepteur de la ryanodine semble montrer une nouvelle piste pour la thérapie de la maladie d'Alzheimer](#). Il est ainsi décrit la structure du complexe macromoléculaire RyR et discutons des mécanismes moléculaires et de la cascade de signalisation qui sous-tendent le remodelage neuronal de RyR2 dans la MA. Cette étude propose des preuves reliant le dysfonctionnement de RyR2 à la cascade de signalisation β -adrénergique qui est altérée dans la MA. Le remodelage de RyR2 dans la MA entraîne des lésions histopathologiques, une altération de la plasticité synaptique et des déficits d'apprentissage et de mémoire. **Le ciblage du remodelage du complexe macromoléculaire RyR devrait être considéré comme une nouvelle fenêtre thérapeutique pour traiter et/ou prévenir l'apparition et/ou la progression de la maladie d'Alzheimer.**

Enfin cette même année nos connaissances sur les [troubles liés au récepteur 1 de la ryanodine](#) sont résumés dans cette revue sous la forme de [perspectives historiques et propositions d'une nomenclature unifiée](#). Historiquement, les personnes atteintes de RYR1-RM étaient diagnostiquées sur la base des caractéristiques morphologiques observées dans les biopsies musculaires, notamment les noyaux centraux, les noyaux et les bâtonnets, les noyaux centraux, la disproportion des types de fibres et les multi-minicores. Cependant, ces caractéristiques histopathologiques ne sont pas toujours spécifiques du RYR1-RM et évoluent souvent dans le temps. Comme de nouveaux phénotypes ont été associés aux variations de RYR1 (notamment le syndrome de King-Denborough, la rhabdomyolyse induite par l'exercice, le syndrome du ptérygion multiple létal, la myopathie distale de l'adulte, la paralysie périodique atypique avec ou sans myalgie, la myopathie légère prédominante au niveau du mollet et la maladie du noyau poussiéreux), le chevauchement entre les catégories de diagnostic ne cesse de s'accroître. Avec l'émergence continue de nouveaux sous-types cliniques le long du spectre de la maladie RYR1 et les rapports sur les phénotypes à l'âge adulte, des nomenclatures nuancées ont été rapportées (myopathies RYR1- [apparentées, congénitales apparentées, congénitales]). Dans cette **revue narrative**, il est **présenté plusieurs points forts de l'histoire de la recherche sur le RYR1, des comptes rendus des principaux sous-types de maladies diagnostiquées et nous proposons les troubles liés au RYR1 (RYR1-RD) comme nomenclature unifiée pour décrire ce spectre de maladies complexe et évolutif.**



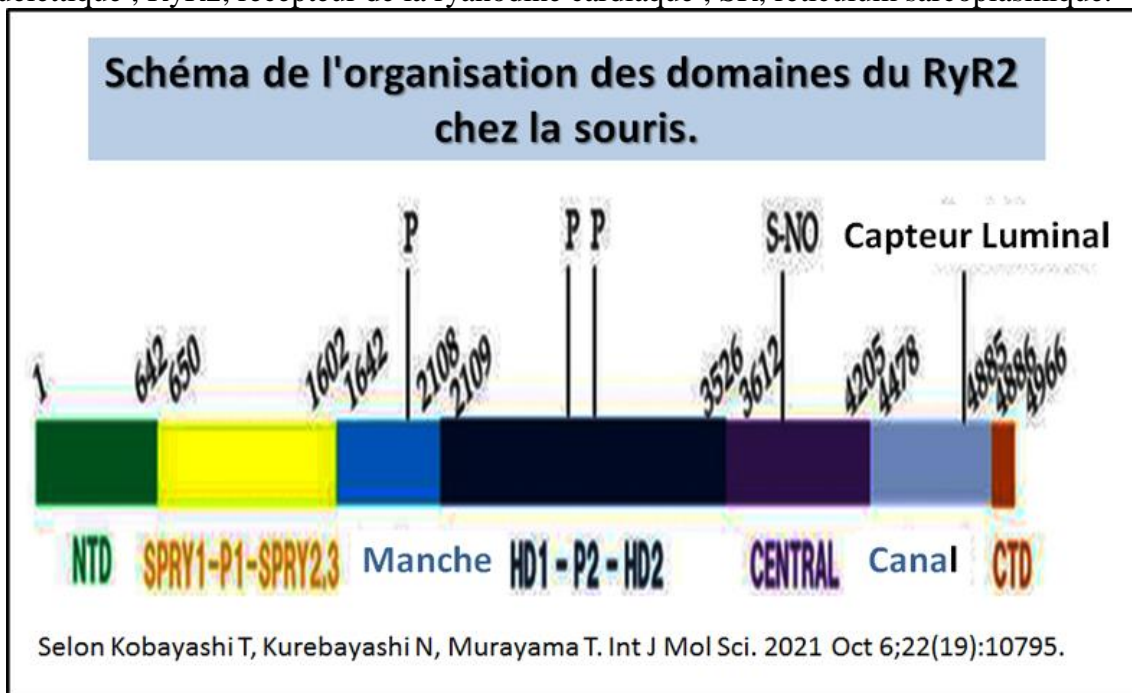
En 2021, de nouveau ce travail présente une mise à jour sur une analyse détaillée qui concerne [le récepteur de la ryanodine et les molécules liées à l'immunité dans la](#)

[cardiomyopathie diabétique](#). Les RyRs et les molécules liées à l'immunité sont des espèces de signalisation importantes dans de nombreux processus physiologiques et physiopathologiques dans diverses maladies cardiaques et cardiovasculaires. Cependant, on sait peu de choses sur la relation mécaniste entre les RyRs et les molécules immunitaires dans le diabète, ainsi que sur les mécanismes de communication complexe entre les cardiomyocytes, les fibroblastes et les cellules immunitaires. Cette revue met en évidence les nouvelles découvertes sur les communications cellulaires complexes dans la pathogenèse et la progression de la cardiomyopathie diabétique. Il y est discuté des applications thérapeutiques potentielles ciblant les RyRs et les molécules liées au système immunitaire dans les complications diabétiques. **Les RCS (=reactive carbonyl species) et les AGEs (glycation end products) affectent les canaux Ca²⁺ organellaires et les modulateurs de la signalisation du Ca²⁺ pendant l'activation des cellules T.** Le rôle de l'IP₃ dans le déclenchement et le maintien de la signalisation Ca²⁺ des cellules T est bien établi. Il est proposé que le NAADP (=nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate) et le cADPR (=cyclic ADP-ribose) entrent en synergie avec l'IP₃ (=Inositol-trisphosphate 3) pendant la signalisation du Ca²⁺ des cellules T ; le NAADP active RyR1 et provoque la libération du Ca²⁺ du réticulum Sarcoplasmique, qui entre en synergie avec l'IP₃ pour provoquer une libération supplémentaire de Ca²⁺ via les récepteurs IP₃ (IP₃R).

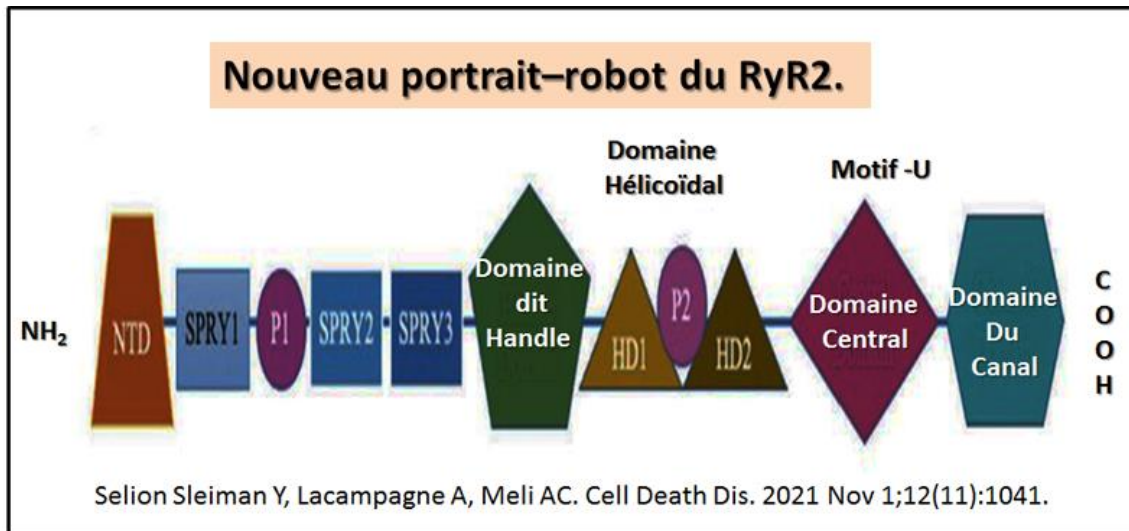


Il est alors question dans cette étude de [l'effet des statines sur le RyR et les maladies associées au RyR](#). Actuellement c'est la somme de quinze articles qui ont mis en évidence l'interaction des statines avec le RyR. Neuf ont identifié l'interaction des statines avec RyR1, six ont abordé l'interaction des statines avec RyR2, 13 ont suggéré que les statines réduisent les arythmies ventriculaires (VA), et sept ont suggéré que les statines augmentent le risque d'hyperthermie maligne (HM). En général, les statines augmentent l'activité de RyR1 et diminuent celle de RyR2. Il a ainsi été identifié aucun article examinant l'effet des statines sur la tachycardie de type CPVT (catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia), une affection souvent causée par des défauts du RyR2. Les statines semblent augmenter le risque

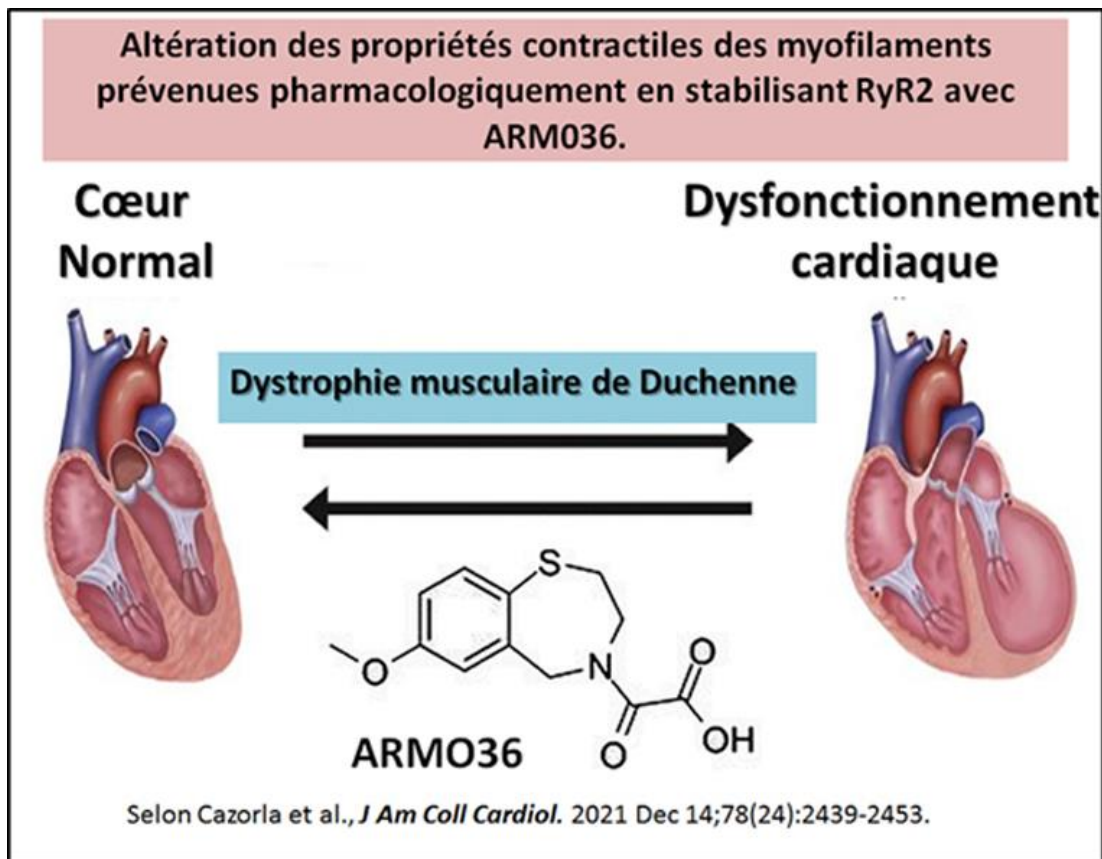
d'HM et diminuer le risque d'arythmie ventriculaire. L'effet des statines sur la CPVT n'a pas été directement examiné, mais la réduction par les statines de la fonction RyR2 et leur réduction apparente de la VA suggèrent qu'elles pourraient être bénéfiques dans cette condition. Ici issu de l'article en référence figure **une représentation schématique de l'effet des statines sur RyR1**. Les statines dissocient FKBP12 et activent RyR1 dans le muscle squelettique, contribuant potentiellement aux symptômes musculaires associés au squelette (SAMS). B : une représentation schématique de l'effet des statines sur RyR2. Les statines augmentent la synthèse de FKBP12.6 et inactivent RyR2 dans le muscle cardiaque. PKA et CaMKII sont omis de la figure car ils ne sont pas affectés par les statines. Ca²⁺ p, ion calcium ; CaMKII, protéine kinase II dépendante de la Ca²⁺p /calmoduline ; FKBP12 et FKBP12.6, protéines stabilisatrices du récepteur de la ryanodine squelettique et cardiaque, respectivement avec comme légendes ; PKA, protéine kinase A ; RyR1, récepteur de la ryanodine squelettique ; RyR2, récepteur de la ryanodine cardiaque ; SR, réticulum sarcoplasmique.



Un nouveau bilan permet de mieux connaître [le récepteur de la ryanodine comme capteur des environnements intracellulaires dans les muscles](#). L'activité du RyR est régulée par **les changements de niveau de nombreux facteurs intracellulaires, tels que les cations divalents (Ca²⁺ et Mg²⁺), les nucléotides, les protéines associées et les espèces réactives de l'oxygène**. Comme ces facteurs intracellulaires changent en fonction de l'état du muscle, par exemple l'exercice, la fatigue ou les états pathologiques, l'activité du canal RyR sera modifiée en conséquence. Dans cette revue, nous décrivons comment le canal RyR est régulé dans diverses conditions et discutons de la possibilité que le RyR agisse comme un capteur de changements dans les environnements intracellulaires des muscles. Une nouvelle structure de RyR est présentée dans cette étude avec une illustration schématique de l'organisation des domaines du RyR2 de la souris.



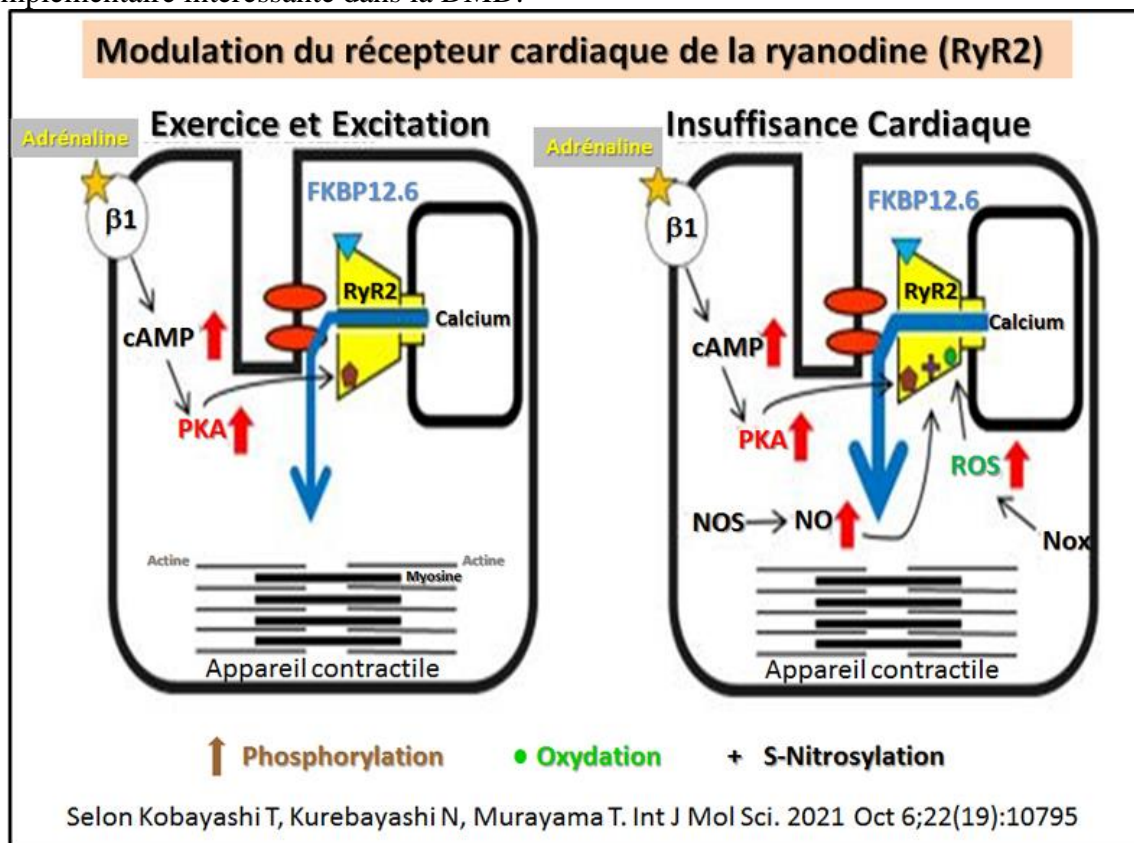
Cette nouvelle revue fait une mise à jour sur les pathologies que l'on nomme [les "Ryanopathies" et les dysfonctionnements de RyR2](#). La question posée est la suivante : peut-on les décrypter davantage en utilisant des modèles de maladies humaines in vitro ? Alors que les modèles animaux et les études in vitro ont apporté des contributions précieuses à nos connaissances sur les dysfonctionnements de RyR2, les modèles cellulaires humains dérivés des cellules des patients offrent un nouvel espoir pour améliorer notre compréhension des maladies cliniques humaines et enrichir le développement de grandes avancées médicales. La discussion porte ici des connaissances actuelles sur les dysfonctionnements de RyR2 associés aux mutations et au remodelage post-traductionnel. Il est alors fait une large revue les nouvelles technologies cellulaires humaines permettant la corrélation du génome du patient avec son environnement cellulaire et fournissant des approches pour des thérapies personnalisées ciblant RyR. Dans la revue figure une **nouvelle structure 3D représentative du RyR2**. On y retrouve son organisation avec les domaines suivants du RyR2. NTD domaine N-terminal, SPRY domaine splA kinase et RyR, P1/P2 domaine répété de RyR riche en sites de phosphorylation, HD1/HD2 domaine hélicoïdal.



Cette analyse chez le chien GRMD (déficient en dystrophine) porte sur la [stabilisation des récepteurs de la Ryanodine ce qui améliore la fonction ventriculaire gauche chez les chiens juvéniles](#). L'échocardiographie conventionnelle a montré des dimensions et une fraction d'éjection du ventricule gauche normales chez les chiens GRMD âgés de 6 mois. Il est intéressant de noter que l'échocardiographie bidimensionnelle avec suivi de taches a révélé une diminution de la déformation longitudinale globale et la présence de segments hypokinétiques chez les chiens GRMD traités par placebo. Les chiens GRMD présentent un dysfonctionnement précoce du ventricule gauche associé à une altération des propriétés contractiles des myofilaments. **Ces anomalies ont été prévenues pharmacologiquement en stabilisant RyR2 avec ARM036** et une illustration provenant de l'article en référence résume la situation.

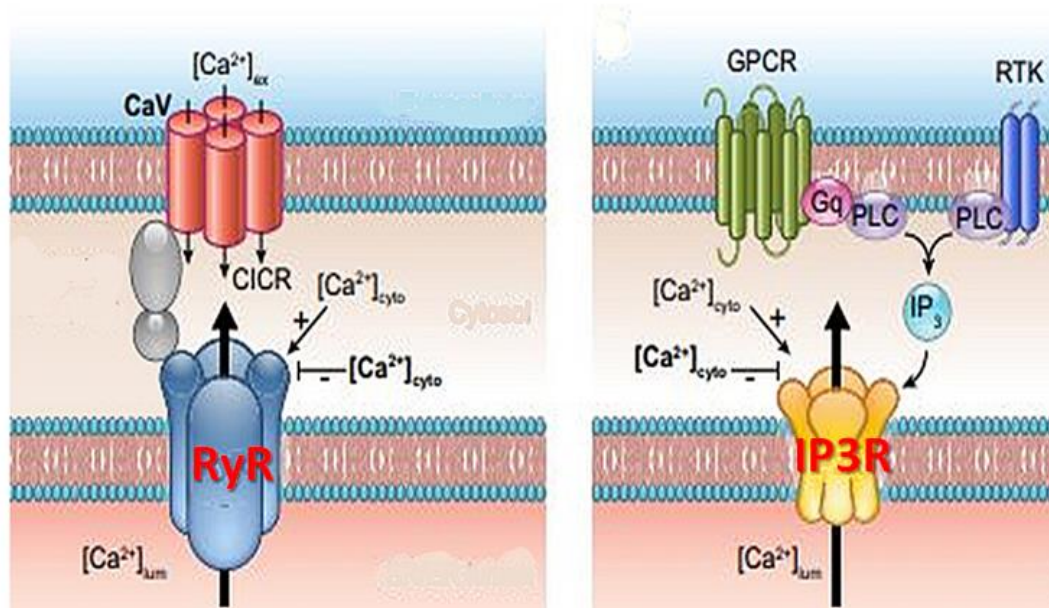
Puis il est découvert que les [récepteurs squelettiques de la Ryanodine sont impliqués dans l'altération de la différenciation myogénique chez les patients atteints de la dystrophie musculaire de Duchenne](#). Dans les myotubes de patients DMD, la concentration intracellulaire de Ca²⁺ au repos a augmenté, mais la libération de Ca²⁺ médiée par RYR1 n'a pas été modifiée par rapport aux myotubes témoins. L'incubation avec le stabilisateur d'interaction RYR-calstabin S107 a réduit la concentration de Ca²⁺ au repos dans les myotubes DMD à des valeurs de contrôle et a amélioré la liaison de calstabin1 au complexe RYR1. **Le S107 a également amélioré la différenciation myogénique dans la DMD. De plus, la concentration intracellulaire de Ca²⁺ était corrélée à la fibrose endomysiale, qui est le seul paramètre myopathologique associé à un mauvais résultat moteur chez les patients atteints de DMD.** Cela suggère une relation potentielle entre le dysfonctionnement de RYR1 et la déficience motrice. Cette étude met en évidence la fuite de Ca²⁺ médiée par RYR1 dans les myotubes humains DMD et son rôle clé dans la déficience de la différenciation

myogénique. La stabilisation de RYR1 pourrait constituer une stratégie thérapeutique complémentaire intéressante dans la DMD.



Ensuite la même année une revue présente des données originales sur [le récepteur de la ryanodine comme capteur des environnements intracellulaires dans les muscles](#). L'activité du RyR est régulée par les changements de niveau de nombreux facteurs intracellulaires, tels que les cations divalents (Ca^{2+} et Mg^{2+}), les nucléotides, les protéines associées et les espèces réactives de l'oxygène. Comme ces facteurs intracellulaires changent en fonction de l'état du muscle, par exemple l'exercice, la fatigue ou les états pathologiques, l'activité du canal RyR sera modifiée en conséquence. Dans cette revue, il y est décrit comment le canal RyR est régulé dans diverses conditions et discutons de la possibilité que **le RyR agisse comme un capteur de changements dans les environnements intracellulaires des muscles**. Une représentation schématique issue de l'article en référence présente d'abord la modulation du récepteur de la ryanodine du muscle squelettique (RyR1) par des facteurs intracellulaires dans différentes conditions. L'illustration concerne une condition de blessure causée par une lésion, un stress thermique ou une maladie. Puis comme dans l'illustration ci-contre le cas d'un vieillissement figure une représentation schématique de la modulation du récepteur cardiaque de la ryanodine (RyR2) par des facteurs intracellulaires dans différentes conditions.

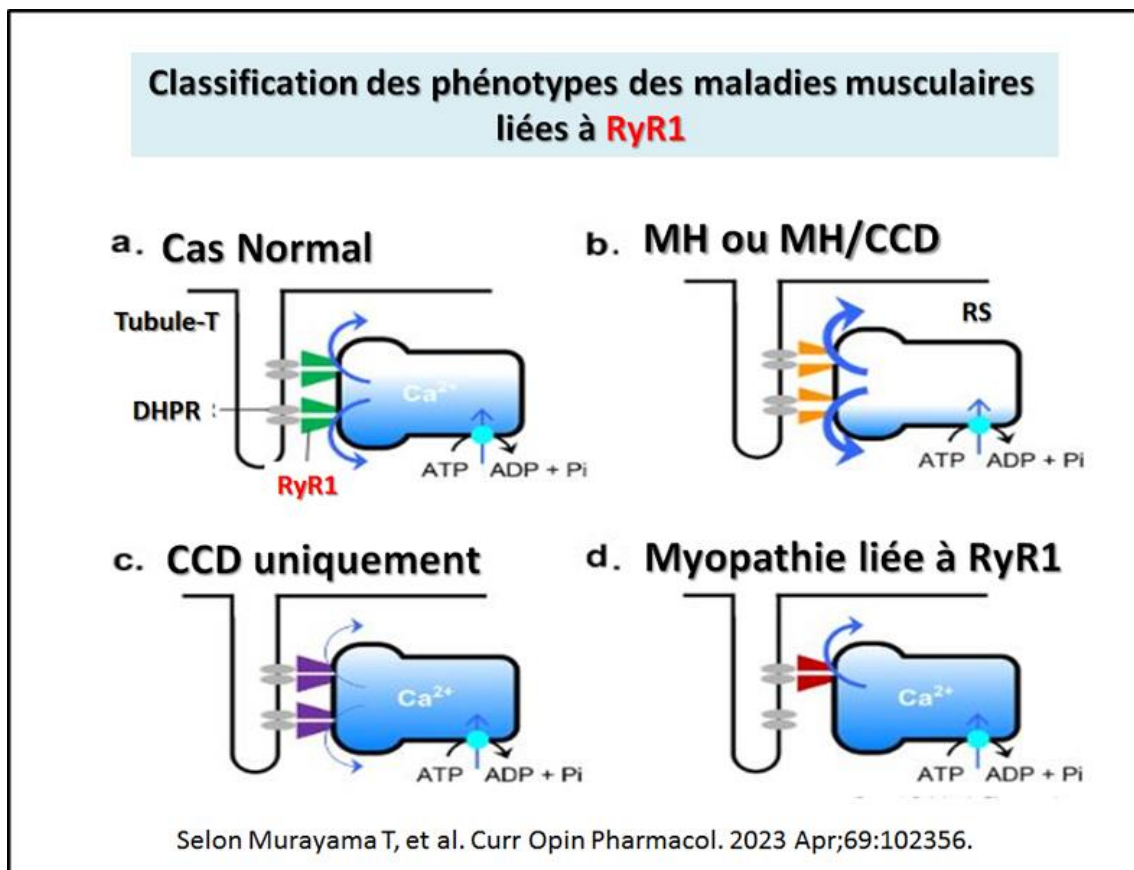
Comparaison des structures et la fonctions des récepteurs IP(3) et des récepteurs de la ryanodine (RyR)



Selon Woll KA, Van Petegem F. *Physiol Rev.* 2022 Jan 1;102(1):209-268.

En 2022, il est alors présenté une étude sur les canaux de libération du calcium. Un [récapitulatif sur les connaissances actuelles de la structure et la fonction des récepteurs IP\(3\) et des récepteurs de la ryanodine.](#) Les structures disponibles ont fourni de nombreux nouveaux aperçus mécanistiques sur la liaison des protéines auxiliaires et des petites molécules, sur la façon dont celles-ci peuvent réguler l'ouverture des canaux, et sur les mécanismes des mutations associées aux maladies. Elles permettent également d'examiner minutieusement les sites de liaison précédemment proposés, car certains d'entre eux sont désormais incompatibles avec les structures. De nombreuses questions demeurent quant aux effets structurels des modifications post-traductionnelles, aux partenaires de liaison supplémentaires et aux complexes d'ordre supérieur que ces canaux peuvent former in situ. Cette revue résume nos connaissances actuelles sur les structures des canaux de libération du Ca²⁺ et comment cela informe sur leur fonction. Une illustration comparative issue de l'article en référence, permet d'illustrer les divers déclencheurs primaires de l'ouverture des canaux de libération du calcium. Il est présenté **l'ouverture des récepteurs de la ryanodine (RyRs)** qui peut se produire via la liaison directe du Calcium dans un processus connu sous le nom de libération de Calcium libre induite par le calcium (CICR). Ceci est immédiatement évident dans les myocytes cardiaques, où le RyR2 est à proximité immédiate du CaV1.2, situé dans la membrane du tube T. La dépolarisation entraîne l'ouverture du CaV1.2. La dépolarisation entraîne l'ouverture du CaV1.2 et un afflux de Calcium qui se lie et active le RyR2. Dans le muscle squelettique, un couplage mécanique se produit entre CaV1.1, le canal calcique de type L du muscle squelettique, et RyR1. Tous les sous-types de RyR peuvent également être activés par du Calcium cytosolique provenant d'autres sources, y compris des RyR voisins. Un Calcium libre cytosolique élevé (en gras) peut entraîner une inhibition. Par

comparaison l'activation de la protéine lipase C (PLC) par l'intermédiaire d'un récepteur couplé à une protéine G (GPCR) ou d'une signalisation de type récepteur tyrosine kinase (RTK) entraîne la formation de la molécule soluble IP3, qui se lie et active l'IP3R. Ce dernier est également stimulé par des élévations du Ca²⁺ cytosolique. Un Calcium libre cytosolique élevé (en gras) peut conduire à une inhibition. Les récepteurs de l'inositol-1,4,5-trisphosphate (IP3R) et les RyR sont également sensibles aux concentrations de Calcium libre dans la lumière du réticulum endoplasmique (RE) et du réticulum sarcoplasmique (RS).

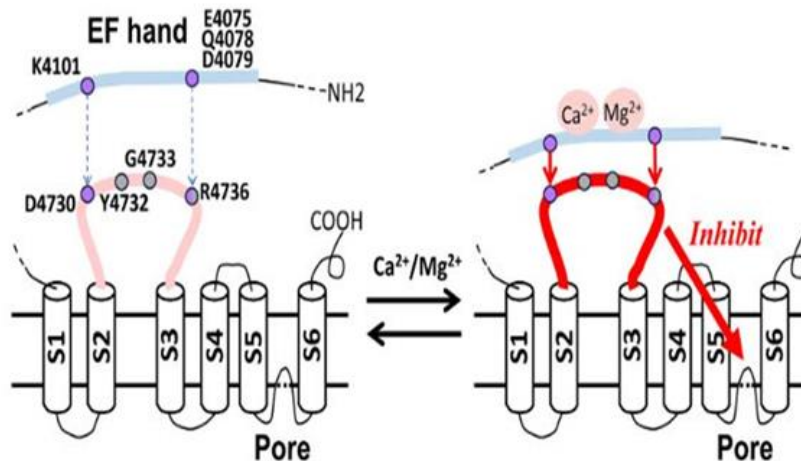


En 2023, avec cet article on possède une mise à jour [sur le développement de médicaments pour le traitement des maladies du muscle squelettique liées à RyR1](#). Le récepteur de la ryanodine de type 1 (RyR1) est un canal intracellulaire de libération du Ca²⁺ dans le réticulum sarcoplasmique du muscle squelettique, et il joue un rôle central dans le couplage excitation-contraction (E-C). Les mutations de RyR1 sont impliquées dans diverses maladies musculaires, notamment l'hyperthermie maligne, la maladie du noyau central et les myopathies. Il n'existe actuellement aucun traitement spécifique pour la plupart de ces maladies. Récemment, des essais de criblage à haut débit ont été mis au point pour identifier les candidats potentiels au traitement des maladies musculaires liées à RyR. **Deux méthodes différentes sont actuellement disponibles, à savoir un essai basé sur le FRET et un essai basé sur le Ca²⁺ du réticulum endoplasmique.** Ces essais ont permis d'identifier plusieurs composés comme nouveaux inhibiteurs de RyR1. En outre, le développement d'une plateforme reconstituée a permis des essais HTS pour les modulateurs du couplage E-C. Dans cette revue, nous nous concentrerons sur les progrès récents des essais HTS et discuterons des perspectives futures de ces approches prometteuses. Une illustration présentée ci-contre montre la **classification des phénotypes des maladies musculaires liées à RyR1** et des mécanismes sous-jacents. a. Dans des conditions normales, la libération de Ca²⁺ par les

canaux RyR1 se produit via la dépolarisation de la membrane plasmique par l'activation du DHPR. b. Chez les patients atteints d'HM ou d'HM/CCD, l'hyperactivation du CICR (c'est-à-dire un gain de fonction) entraîne une libération incontrôlée de Ca²⁺, gain de fonction) entraîne une libération incontrôlée de Ca²⁺ au repos (MH/CCD) ou après exposition à des anesthésiques inhalés (MH). c. Chez les patients atteints de CCD uniquement, la libération de Ca²⁺ par dépolarisation est inhibée (c'est-à-dire perte de fonction), ce qui entraîne une faiblesse musculaire. d. Dans la myopathie liée à RyR1, l'expression de RyR1 est diminuée, ce qui entraîne une réduction de la libération de Ca²⁺. e. Dans la myopathie liée à RyR1, l'expression de RyR1 est diminuée, ce qui entraîne une réduction de la libération de Ca²⁺ par la membrane plasmique.

En 2024, cet article porte sur [une activation du transport de Ca²⁺ dans les microsomes cardiaques enrichit les ensembles fonctionnels de protéines ER et SR.](#) L'importance de la manipulation du Ca²⁺ par le réticulum sarcoplasmique (SR) dans le cœur a conduit à une compréhension détaillée des complexes protéiques de libération et de recapture du Ca²⁺, alors que les autres fonctions du réticulum endoplasmique (RE) dans le cœur sont moins connues. **Pour mieux comprendre les fonctions du SR et du RE cardiaques, il a été analysé les microsomes cardiaques en raison de leur densité accrue due à l'action de la SR Ca²⁺-ATPase (SERCA) et du récepteur de la ryanodine qui sont très actifs dans les cardiomyocytes.** Les vésicules brutes de microsomes cardiaques chargées d'oxalate de Ca ont produit deux sous-fractions de densité plus élevée, MedSR et HighSR. Les protéines de 20,0 µg de protéines MV, MedSR et HighSR ont été fractionnées par SDS-PAGE, puis trypsinisées à partir de 20 morceaux de gel séparés, et analysées par LC-MS/MS pour déterminer la teneur en protéines. À partir de 62 000 spectres peptidiques individuels obtenus, nous avons identifié 1105 protéines différentes, dont 354 étaient enrichies $\geq 2,0$ fois dans les fractions SR par rapport à la préparation de la membrane brute. Les protéines SR précédemment étudiées étaient toutes enrichies, de même que les protéines associées aux fonctions canoniques du RE. Les protéines contractiles, mitochondriales et sarcolemmales n'étaient pas enrichies. La comparaison des niveaux de protéines SR positives au SERCA dans les vésicules MedSR par rapport aux vésicules HighSR a produit une gamme d'enrichissements de sous-fractions SR signifiant différents niveaux de fuite de Ca²⁺ co-localisés dans le même patch membranaire. Toutes les protéines SR jonctionnelles connues étaient plus enrichies dans les vésicules MedSR, tandis que les protéines ER canoniques étaient plus enrichies dans les vésicules HighSR. Les protéines constituant d'autres sous-domaines supposés du RE/SR ont également présenté des valeurs moyennes d'enrichissement Esub (moyenne \pm S.D.) qui couvrent la gamme des valeurs Esub possibles, ce qui suggère que des ensembles fonctionnels de protéines sont localisés dans les mêmes zones de la membrane du RE/SR. Nous concluons que la charge active en Ca²⁺ des microsomes cardiaques, reflétant les activités combinées de l'absorption de Ca²⁺ par SERCA et de la fuite de Ca²⁺ par RyR, permet l'évaluation de multiples sous-domaines fonctionnels du RE/SR. Des ensembles de protéines de ces sous-domaines ont présenté des profils d'enrichissement similaires dans les sous-fractions membranaires, reflétant les niveaux relatifs de SERCA et de RyR présents dans les patches individuels du RE et du SR cardiaques.

Modèle proposé pour l'inhibition de RyR1 dépendante du Ca²⁺



Selon Chirasani VR, et al J Biol Chem. 2024

Avec ce travail c'est [une étude sur l'interactions structurelles et fonctionnelles entre le domaine EF hand et la boucle S2-S3 dans le canal ionique du récepteur de la ryanodine de type 1](#). Les micrographies cryo-électroniques précédentes ont suggéré que le canal de libération du Ca²⁺ du muscle squelettique, le récepteur de la ryanodine (RyR)1, est régulé par des interactions complexes entre le domaine de liaison du Ca²⁺ de la main EF et la boucle cytosolique (boucle S2-S3). Cependant, les détails moléculaires précis de ces interactions et les conséquences fonctionnelles de ces interactions restent insaisissables. **Ici, il est utilisé des simulations de dynamique moléculaire pour explorer les paires d'acides aminés spécifiques impliquées dans les interactions de liaison hydrogène au sein de l'interface main EF-boucle S2-S3. Nos simulations ont révélé deux interactions clés : (1) K4101 (main EF) avec D4730 (boucle S2-S3) et (2) E4075, Q4078, et D4079 (main EF) avec R4736 (boucle S2-S3).** Pour étudier la signification fonctionnelle de ces interactions, il fut construit des ADN complémentaires de RyR1 mutants et les avons exprimés dans des cellules HEK293 pour des essais de liaison à la [3H]ryanodine. Ces résultats ont démontré que les mutations dans la main EF, spécifiquement K4101E et K4101M, entraînaient des affinités réduites pour les inhibitions dépendantes de Ca²⁺/Mg²⁺. Il est intéressant de noter que la mutation K4101E a augmenté l'affinité pour l'activation dépendante du Ca²⁺. Inversement, les mutations dans la boucle S2-S3, D4730K et D4730N, n'ont pas modifié de manière significative les affinités pour les inhibitions dépendantes de Ca²⁺/Mg²⁺.

En conclusion

Pour suivre l'évolution des connaissances **sur les protéines de type RyR** il existe des banques de données récentes qui sont automatiquement mises à jour qui répertorient :

1.) **La protéine [RyR1](#)** avec son lot de références historiques
2.) **La protéine [RyR2](#)** avec son lot de références historiques
3.) **La protéine [RyR3](#)** avec son lot de références historiques

Les principales maladies actuellement connues qui résultent d'une mutation ou d'un défaut dans la protéine considérée (avec des références associées).

- **Les Pathologies associées à RyR1:**

- CENTRAL CORE DISEASE OF MUSCLE; [CCD](#); (Neuromuscular disease, congenital, with uniform type 1 fiber)
- KING-DENBOROUGH SYNDROME; [KDS](#)
- [MINICORE MYOPATHY WITH EXTERNAL OPHTHALMOPLÉGIA](#)
- MALIGNANT HYPERTHERMIA, SUSCEPTIBILITY TO, 1; [MHS1](#)

- **Les Pathologies associées à RyR2:**

- ARRHYTHMOGENIC RIGHT VENTRICULAR DYSPLASIA, FAMILIAL, 2; [ARVD2](#)
- VENTRICULAR ARRHYTHMIAS DUE TO CARDIAC RYANODINE RECEPTOR CALCIUM RELEASE DEFICIENCY SYNDROME; [VACRDS](#)
- VENTRICULAR TACHYCARDIA, CATECHOLAMINERGIC POLYMORPHIC, 1, WITH OR WITHOUT ATRIAL DYSFUNCTION AND/OR DILATED CARDIOMYOPATHY; [CPVT1](#)

- **La Pathologie associée à RyR3:** En 2022 pas de pathologie spécifique n'est à l'heure actuelle associée à la protéine RyR3