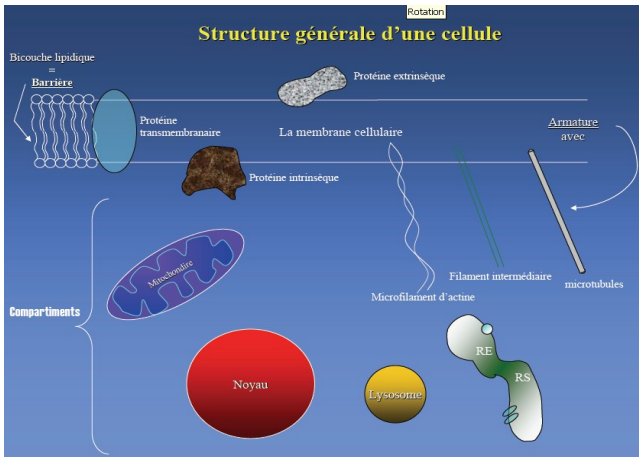


Cours de physiologie n° 3 Transport membranaire et excitabilité cellulaire

I. Structure générale d'une cellule



RE = réticulum endoplasmique
RS = réticulum sarcoplasmique

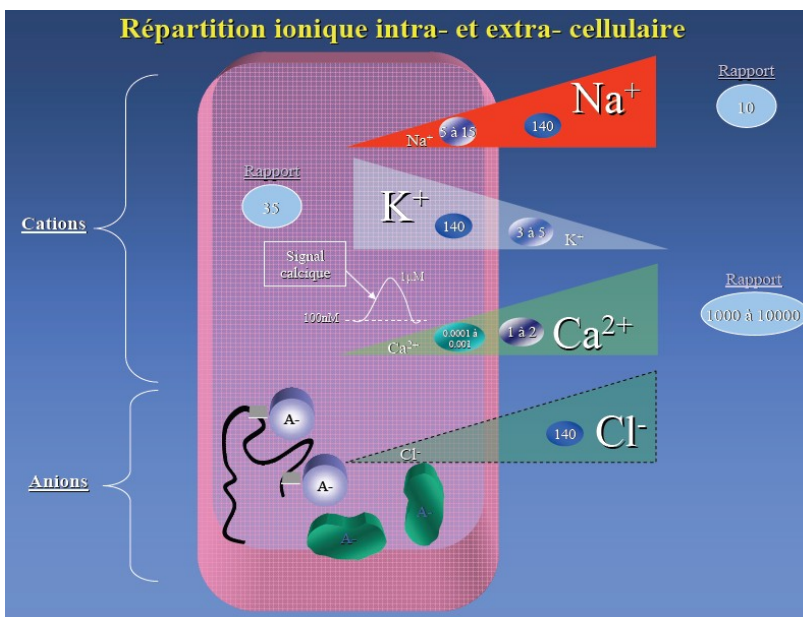
II. La membrane cellulaire

- la barrière est **perméable** : elle laisse **passer des substances** (ions par exemple) sans préjuger du mécanisme
- sa **perméabilité est sélective** : elle laisse passer **certaines substances et pas d'autres**
- sa perméabilité est **variable** : elle laisse passer une substance **plus ou moins facilement en fonction du temps** selon des régulations diverses

► Les membranes permettent le maintien d'une **asymétrie de composition entre deux milieux, par exemple extra et intra cellulaires.**

Nous allons nous intéresser particulièrement aux canaux ioniques qui sont des protéines transmembranaires présentant un pore, aux échangeurs d'ions et aux pompes ioniques (Na^+/K^+ ATPase).

C'est l'asymétrie membranaire qui est responsable de la différence de potentiel!

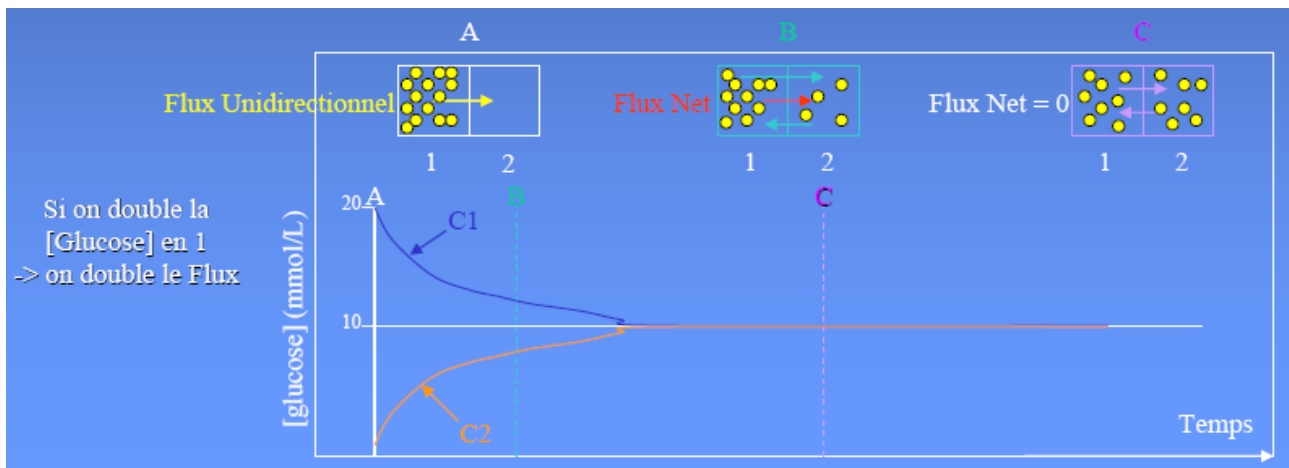


Les gradients de Na^+ et de K^+ sont opposés.

Le Ca^{2+} est en concentration très faible mais il subit d'importantes variations (rapport ext/int peut varier de 1000 à 10 000). Le Ca^{2+} joue un rôle primordial dans la contraction musculaire.

Principe de l'électroneutralité des solutions: il y a autant de charges + que de charges - de part et d'autre de la membrane cellulaire.

III. La diffusion



C'est un mécanisme extrêmement simple : le mouvement des molécules est lié à l'agitation thermique. Le solvant peut être l'air, l'eau ou n'importe quel liquide.

A : flux unidirectionnel : les molécules se déplacent de 1 vers 2 (du milieu le + concentré vers le - concentré)

B: flux net : les molécules se déplacent de 1 vers 2 et de 2 vers 1

C: équilibre : le flux net est nul, autant de molécules se déplacent de 1 vers 2 que de 2 vers 1

La diffusion a TOUJOURS lieu du compartiment le + concentré vers le compartiment le moins concentré !

La diffusion dépend de :

- la température (agitation thermique)
- la masse moléculaire (MM) des particules qui diffusent : + la MM est élevée, + le déplacement de la molécule est faible
- la surface de distribution (diamètre des pores)

La vitesse de diffusion est limitée par le choc moléculaire.

Le temps de diffusion est proportionnel au carré de la distance.

Exemple du glucose:

Il faut 3,5s pour qu'une concentration de 90% soit observée à 10 μ m et 11 ans pour atteindre la même concentration à 10cm!

► Importance du transport par le sang et la circulation du lieu d'absorption (intestin) au lieu de consommation (cellules)

► Mais diffusion important de l'O₂ et du CO₂ +++

IV. La diffusion à travers les membranes

flux entrant = $f_e = k_p A C_e$

flux sortant = $f_s = k_p A C_i$

flux net = $F = k_p A (C_e - C_i)$

A est la surface de la membrane

k_p est la constante de perméabilité

- déterminée expérimentalement
- dépend de la nature de la molécule
- de sa masse moléculaire
- des propriétés de la membrane
- de la température

La diffusion à travers les membranes est **10^3 à 10^6 fois moins importante** que la diffusion dans l'eau.

Ceci est lié à la nature **lipidique** de la membrane qui constitue une **barrière sélective** qui ralentit considérablement la diffusion.

La bicouche lipidique comporte 2 zones :

- une région polaire hydrophile
- les acides gras des phosphoglycérides constitue la partie hydrophobe non polaire

Les molécules polaires diffusent mal ou pas du tout à travers la bicouche lipidique.

Au contraire les molécules non polaires diffusent bien car elles se dissolvent dans la région non polaire de la bicouche (O_2 , CO_2 , acides gras, hormones stéroïdes...).

► Les ions sont des particules polaires donc ils ne devraient pas pouvoir diffuser facilement à travers la membrane... mais pourtant ils le font !!!

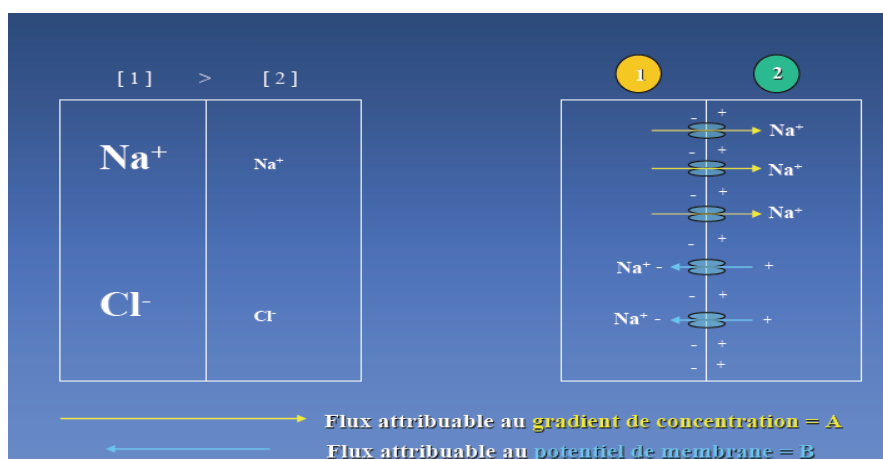
Les ions diffusent à travers des **canaux**.

C'est la **composante protéique de la membrane** qui est responsable de la perméabilité membranaire aux ions et de ses différences de cellule à cellule.

Les canaux permettent la **diffusion simple** des ions le long de leur **gradient électrochimique**.

- La taille du pore est à peu près égale à la taille de l'ion.
- Le canal a une sélectivité ionique (Na^+ , Ca^{2+} , K^+ ...) plus ou moins importante.
- Les variations de perméabilité reflètent la proportion de canaux ouverts par rapport au nombre total de canaux (*ceci n'est pas tout à fait exact cf inactivation plus loin dans le cours*)
- Il faut un stimulus d'ouverture : variation du potentiel membranaire ou agoniste
- Une fois ouvert le canal est caractérisé par une conductance (inverse de la résistance)

V. Le gradient électrochimique



Tant que flux A > flux B, les ions iront de 1 vers 2.

Le potentiel de membrane pour lequel le flux A = le flux B (le flux net = 0) s'appelle le potentiel d'équilibre pour l'ion considéré.

Le gradient de concentration impose d'abord le déplacement du Na^+ du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré. Ce déplacement enrichit le compartiment 2 en charges positives et par conséquent entraîne un déficit de charges positives dans le compartiment 1. Ce déficit facilitera le retour des ions Na^+ dans le compartiment 1. En effet les 2 compartiments doivent respecter l'électroneutralité.

Plus le gradient de concentration est grand, plus le potentiel d'équilibre sera grand car un plus grand

flux attribuable au potentiel de membrane (B) sera nécessaire pour contrecarrer et donc équilibrer le flux lié au gradient de concentration (A).

Équation de Nernst:

$$E = \frac{RT}{zF} \log \frac{[ion]_e}{[ion]_i}$$

Potentiels d'équilibre des différents ions

$$E_{Na^+} = + 60 \text{ mV}$$

$$E_{Ca^{2+}} = + 130 \text{ mV}$$

$$E_{K^+} = - 90 \text{ mV}$$

$$E_{Cl^-} = - 60 \text{ mV}$$

VI. Régulation de la diffusion des ions à travers la membrane

$$F = k_p A (C_e - C_i)$$

k_p est la perméabilité des canaux qui peut varier beaucoup et très vite et entraîner ainsi des variations de flux grâce à l'ouverture et à la fermeture de canaux.

A est la surface de la membrane, elle ne varie pas.

C_e et C_i varient très peu du fait de l'étendue des milieux.

VII. Cycle d'un canal ionique

L'année dernière cette partie était hors programme, elle ne sera donc pas abordée dans ce cours.

Remarque: un canal inactivé doit d'abord passer par l'état fermé avant de pouvoir être ouvert de nouveau.

► Effets biologiques des canaux ioniques

- L'ouverture des canaux Ca^{2+} de la membrane pré-synaptique entraîne la **sécrétion d'acétylcholine (ACh)**
- La fixation de l'ACh sur les récepteurs canaux post-synaptiques entraîne la **dépolarisation cellulaire**
- L'ouverture des canaux Na^+ des neurones ou des cellules musculaires striées entraîne la **dépolarisation cellulaire**.
- L'ouverture des canaux Ca^{2+} du RS (RYRs) entraîne la **contraction musculaire**.

Les canaux interviennent dans la signalisation cellulaire, le «messenger» est la variation du potentiel due au passage des ions.

VIII. Les cellules excitables

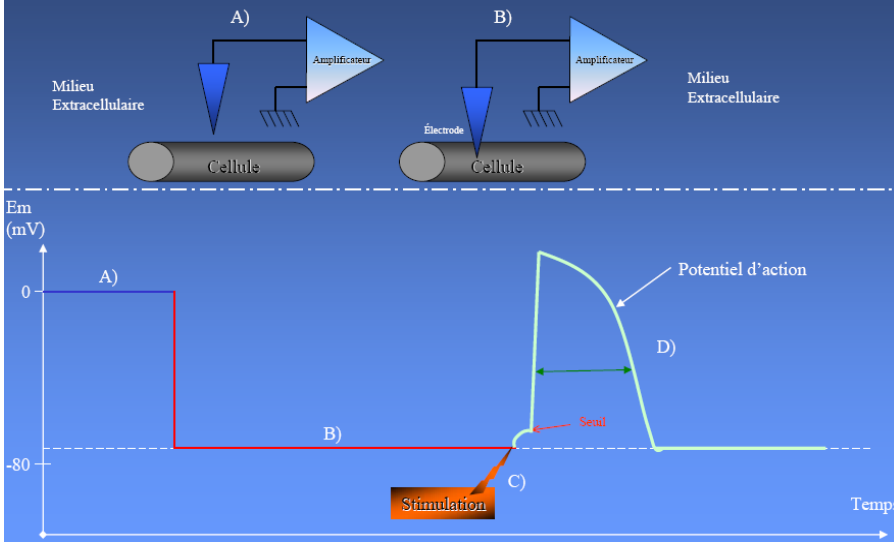
Une **cellule excitable** est une cellule capable de décharger un **potentiel d'action** en réponse à une **dépolarisation** suffisante (supérieure à un certain **seuil de dépolarisation**) de son **potentiel de membrane**.

De nombreuses familles de canaux sont impliquées. Les canaux sont activés et inactivés successivement au cours du temps. L'ensemble générant un potentiel d'action (PA).

On étudiera 2 exemples : le myocyte cardiaques et le neurone.

1. Enregistrement d'un potentiel d'action

Enregistrement d'un potentiel d'action Technique de la microélectrode



Mesures sur une cellule isolée: un myocyte cardiaque.

On mesure la différence de potentiel, au repos $E_m \approx -80 \text{ mV}$.

Le myocyte cardiaque est une cellule excitable mais incapable de se dépolariser toute seule.

Pour cela, il faut la stimuler, c'est ce que l'on réalise avec l'électrode en faisant passer le potentiel de -80 à -60 mV . On voit apparaître, sans intervenir davantage, une

inversion de la polarisation de la cellule (jusqu'à $+30 \text{ mV}$) puis rapidement une redescente vers le potentiel membranaire de repos initial. Cette diminution s'appelle le potentiel d'action (PA). Il n'est pas le fait d'un seul canal ionique mais de plusieurs d'entre eux. Les ions Na^+ et Ca^{2+} entrent dans la cellule tandis que les ions K^+ en sortent.

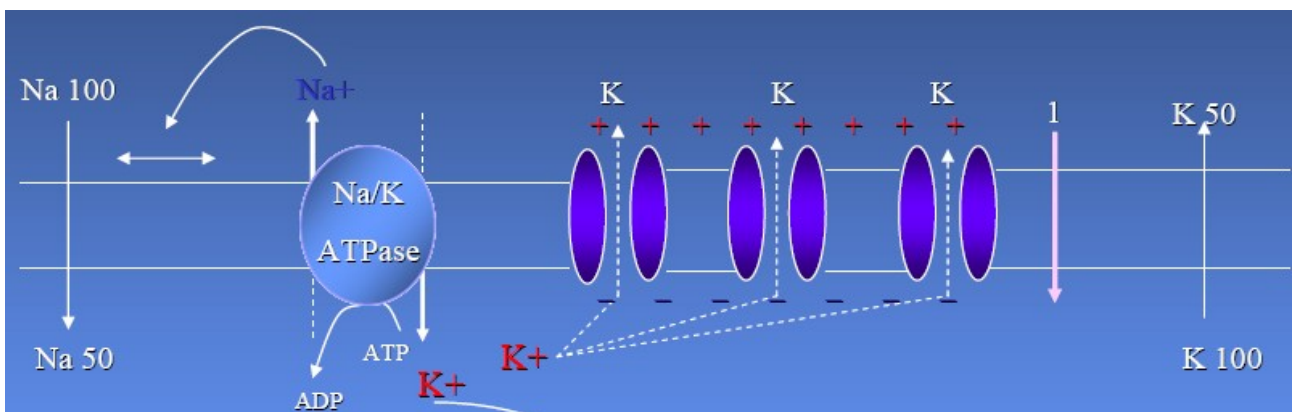
2. Rôle de la Na^+/K^+ ATPase

► Elle permet de créer les gradients de Na^+ et de K^+ .

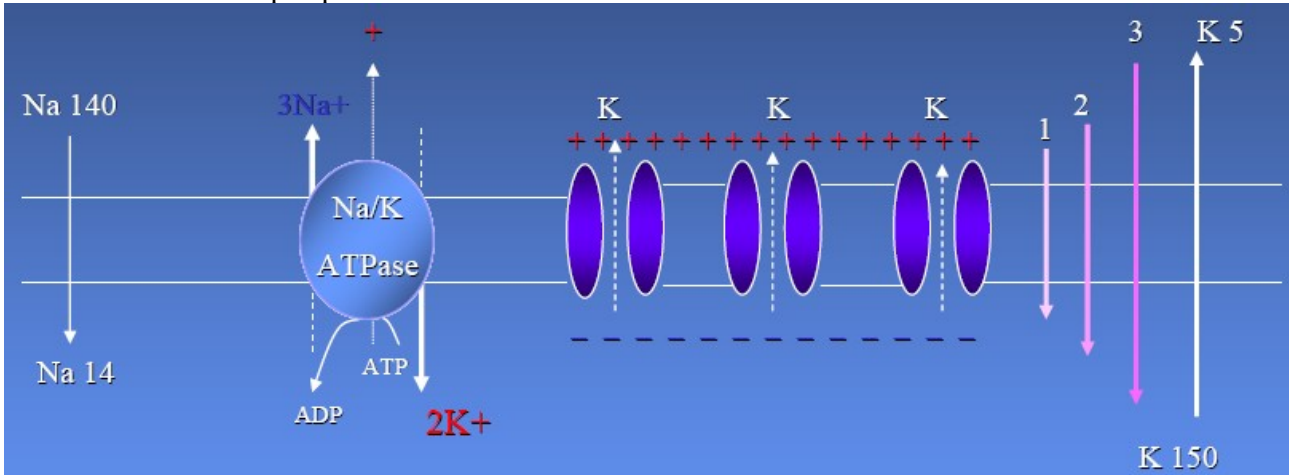


Situation fictive : répartition identique de part et d'autre de la membrane plasmique des ions Na^+ et K^+ . La pompe Na^+/K^+ ATPase permet l'entrée de K^+ dans la cellule et la sortie de Na^+ .

Si la situation n'évoluait pas, on observait à l'extérieur de la cellule une augmentation de la concentration en Na^+ et une diminution de la concentration en K^+ et inversement à l'intérieur de la cellule.



Il existe dans la membrane plasmique des canaux K^+ constamment ouverts qui laissent sortir le K^+ . Le Na^+ sorti ne doit pas pouvoir rentrer à l'intérieur de la cellule.



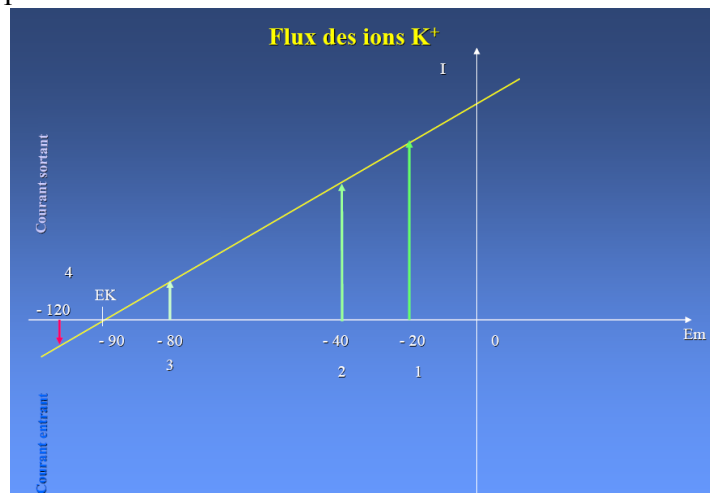
La pompe est polarisante de part sa stœchiométrie. Au départ les gradients de concentration sont élevés puis ils sont entièrement compensés par les gradients électriques. Le gradient de K^+ est responsable de la polarité membranaire de repos.

$$I_K = g_K (E_m - E_K)$$

g_K est la conductance maximale, elle ne varie pas

E_K est le potentiel de repos = force électromotrice

- 20 + 90 = +70 flux sortants
- 40 + 90 = +50
- 80 + 90 = +10
- 90 + 90 = 0 flux nul
- 120 + 90 = -30 flux entrant



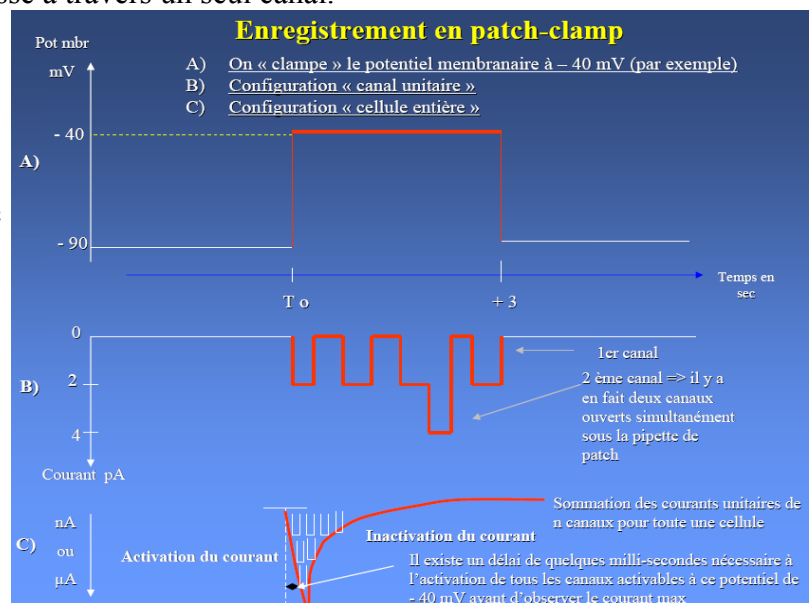
3. Technique du Patch Clamp

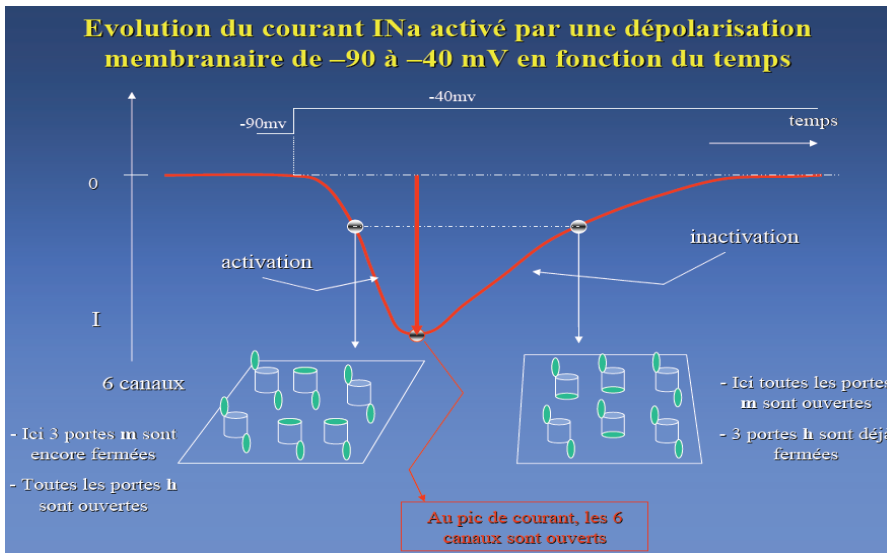
Il y a deux configurations:

- **cellule entière** : pipette appliquée sur la cellule, on mesure l'ensemble des courants passant à travers tous les canaux de la cellule
- **cellule attachée** : le courant passe à travers un seul canal.

La pipette permet d'imposer des variations de potentiel.

Avec le temps, de plus en plus de canaux vont s'ouvrir, on observe un pic puis le phénomène s'inverse. On appelle cela l'**activation** puis l'**inactivation** du courant. Le courant s'active avec un certain délai et s'inactive avec un délai beaucoup plus long (10-100ms).





On observe l'ouverture et la fermeture des portes des canaux.

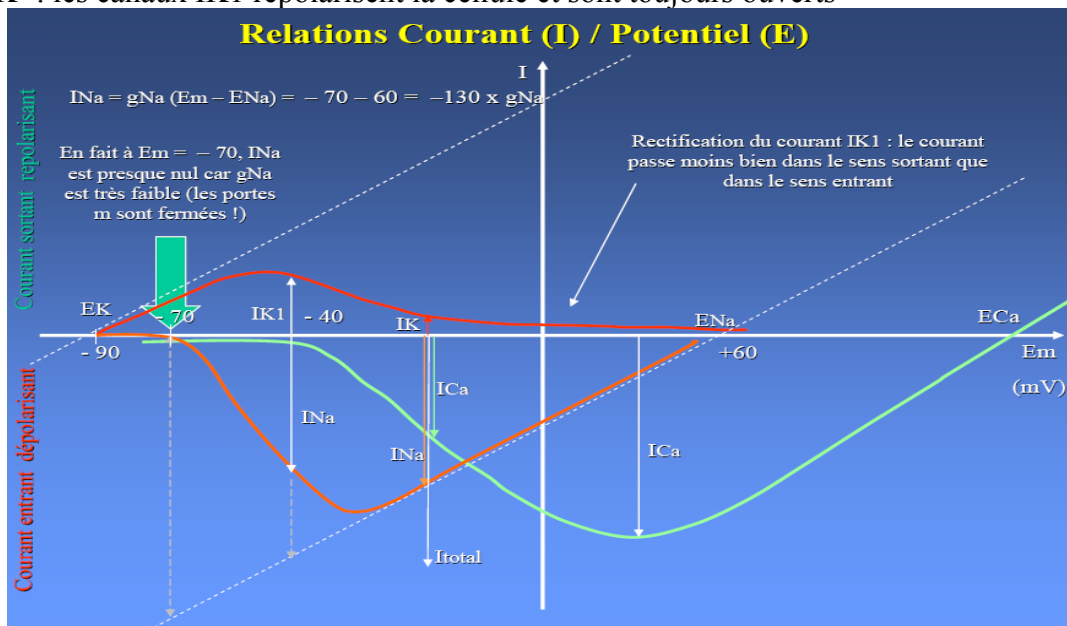
A la moitié de l'activation, 3 canaux ont leur porte d'activation ouverte tandis que 3 canaux l'ont fermée.

Au niveau du pic de dépolarisation, tous les canaux sont ouverts.

Au milieu de l'inactivation, toutes les portes d'activation sont ouvertes mais 50% des canaux ont leur porte d'inactivation fermée.

On compte 3 principaux types de courant :

- Na^+ qui dépolarise
- Ca^{2+} qui complète la dépolarisation
- K^+ : les canaux $IK1$ repolarisent la cellule et sont toujours ouverts



La membrane est dépolarisée.

Au potentiel -70 mV on observe l'activation du PA: ouverture progressive des canaux Na^+ qui augmente la dépolarisation, on observe un pic.

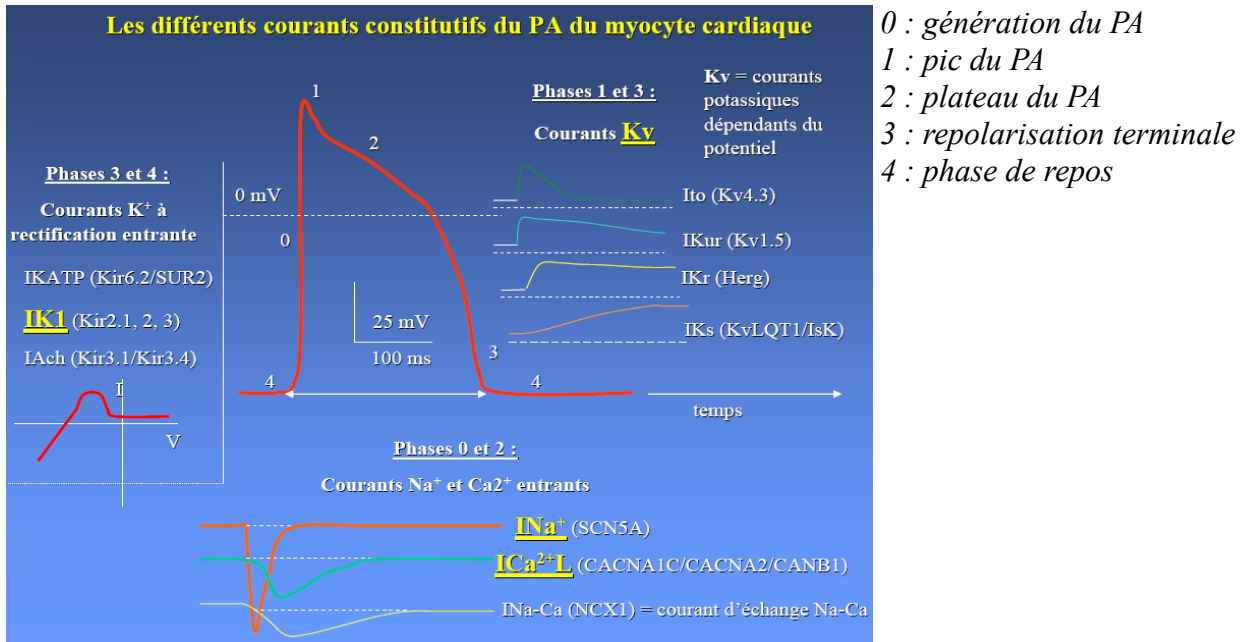
L'ouverture des canaux Ca^{2+} à -40 mV ajoute à la dépolarisation initiale : l'entrée massive de Ca^{2+} dans la cellule prolonge la dépolarisation. Cette dépolarisation active les canaux K^+ sortants qui dépendent du potentiel : le K^+ sort de la cellule. Ces canaux s'ouvrent lentement et en fonction de l'augmentation du potentiel. Ils permettent la repolarisation de la cellule.

Rôle de la rectification entrante : sans la rectification entrante, il ne pourrait pas y avoir de PA car toutes les entrées de Na^+ et de Ca^{2+} seraient compensées par la sortie des ions K^+ .

En effet, les canaux $IK1$ ne laissent pas facilement sortir les ions K^+ , ce qui permet la dépolarisation

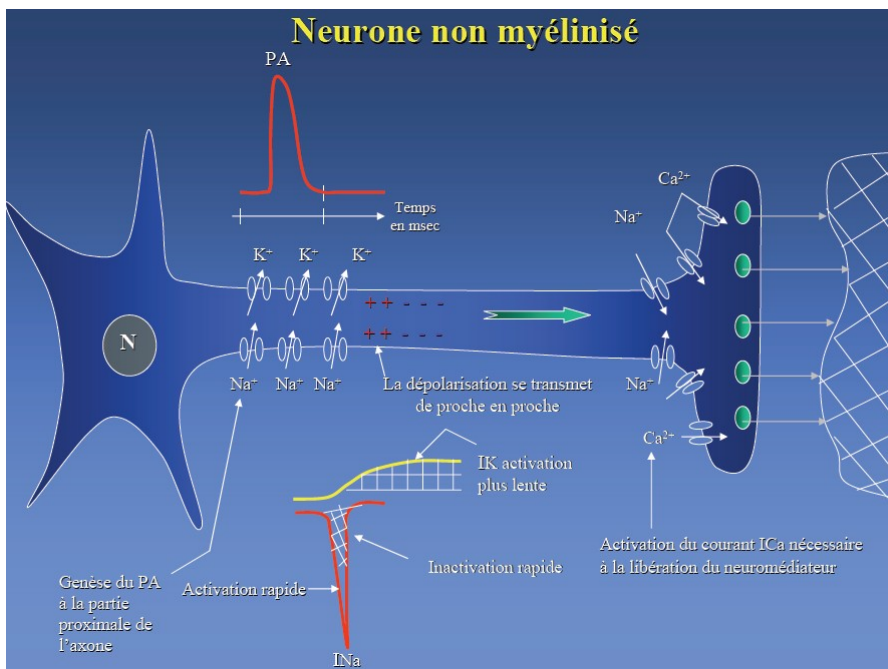
de la cellule.

4. Le myocyte cardiaque



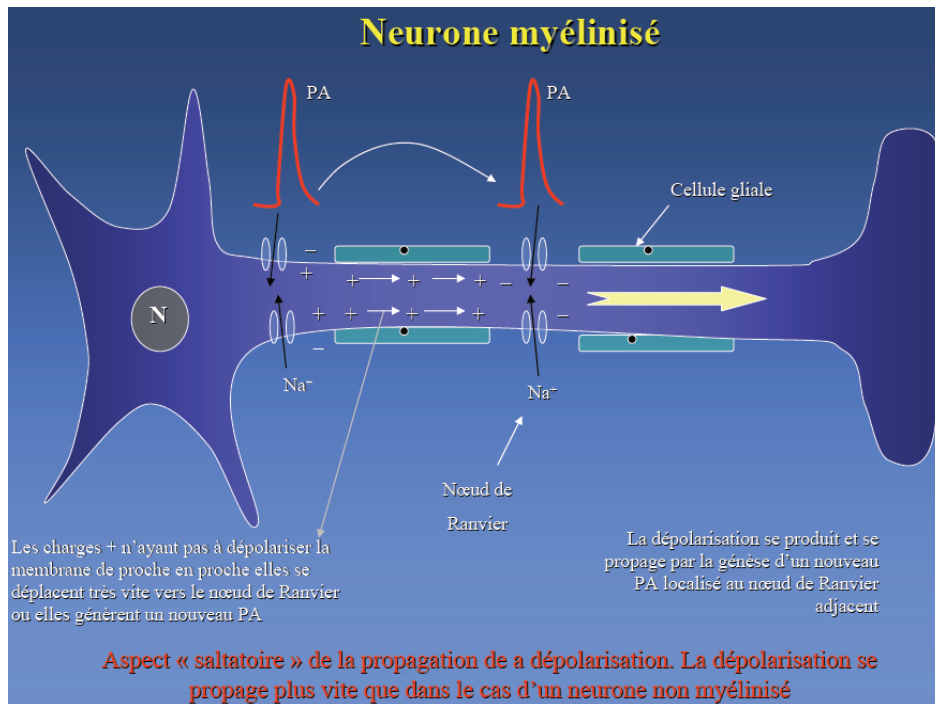
Les canaux INa permettent une dépolarisation rapide.
 Les canaux ICa^{2+} Lent s'activent plus lentement que le courant sodique.
 Ils sont responsables du plateau du PA car ils mettent plus de temps à s'inactiver.

5. Le neurone non myélinisé



Le courant entrant par les canaux Na^+ permet la dépolarisation et entraîne l'ouverture des canaux K_v qui repolarisent la cellule. On n'observe pas de plateau du PA car il n'y a pas de canaux Ca^{2+}_L dans cette partie du neurone. On observe plus de canaux Na^+ au niveau de la synapse ainsi que des canaux Ca^{2+}_L (présence d'un plateau).
 Le Ca^{2+} libéré permet l'exocytose du neurotransmetteur dans la fente synaptique.

6. Le neurone myélinisé



La gaine de myéline joue le rôle d'isolant et empêche la propagation de la dépolariisation de proche en proche. On a l'impression que le potentiel saute de nœud de Ranvier en nœud de Ranvier. La dépolariisation se propage plus vite.

Ce cours ainsi que tous les documents indispensables à la P1 sont disponibles à l'adresse suivante : <http://www.coursplbichat-larib.weebly.com>