

Potentiel membranaire partie 2

- Les cellules excitables de l'organisme

- Définitions et caractéristiques

- La biophysique des membranes excitables repose sur les **études électrophysiologiques** des structures cellulaires répondant de façon spécifique à une **stimulation** (électrique, chimique, mécanique, thermique..)

V_m : potentiel membranaire (ΔV ou différence de potentiel de part et d'autre de la membrane)
 V_{int} : potentiel intracellulaire
 V_{ext} : potentiel extracellulaire
 V_R : potentiel de repos

-
- **Electrophysiologie:** étude des **courants ioniques** (activité bio-électrique) des cellules vivantes induisant des variations de ΔV membranaire (**$V_m = V_{int} - V_{ext}$**).
- ΔV entre les faces intra et extracellulaire de la membrane cytoplasmique (due à une répartition inégale des ions) est une caractéristique commune à presque toutes les cellules vivantes = potentiel de repos (par définition, au repos : $V_m = V_R$)
- La caractéristique des cellules excitables est la modification spécifique de V_R après une stimulation. $\Rightarrow$ La dépolarisation de la membrane engendre un potentiel d'action.
- La réponse est possible grâce au maintien de ce potentiel de repos (état de non équilibre (potentiel de diffusion ionique)) et requiert des transferts passifs et actifs.

Les cellules excitables sont en général fortement polarisées au repos.

Applications cliniques : ECG, EMG, EEG

- **Propriétés des membranes excitables**

La membrane est **élément essentiel** car elle est responsable du mode de réponse à la stimulation. Elle est caractérisée par :

Des éléments communs avec les autres cellules:

⇒ Bicouche lipidique

⇒ Inclusion de protéines transmembranaires

Et des caractéristiques spécifiques liées aux protéines transmembranaires :

⇒ Nature

⇒ Densité

⇒ Répartition de ces protéines

On distingue :

⇒ Les protéines transmembranaires intervenant dans les **transports passifs des ions** = **canaux ioniques**

⇒ Les protéines transmembranaires intervenant dans les **transports actifs** = pompes + **transporteurs**

Pompe Na⁺/K⁺-ATPase

Maintient le gradient de concentration avec $[\text{Na}^+]_{\text{ext}} > [\text{Na}^+]_{\text{int}}$ et $[\text{K}^+]_{\text{ext}} < [\text{K}^+]_{\text{int}}$

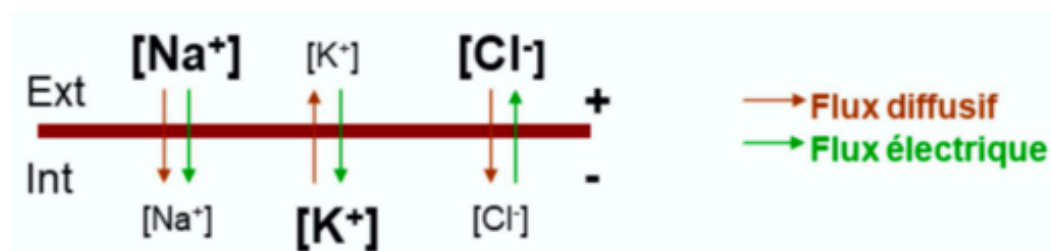
- Physique du potentiel de repos - Exemple du neurone

- Définition du potentiel de repos

Potentiel de repos VR = potentiel de membrane ($V_m = V_{\text{int}} - V_{\text{ext}}$) à l'état stationnaire

Le potentiel de repos VR est dû à une inégalité de répartition des ions de part et d'autre de la membrane (sélective).

On considèrera V_m dû à Na⁺, K⁺ et Cl⁻ (et que les transferts ne concernent que ces ions).



- **Origine du potentiel de repos (Théorie de Hodgkin et Huxley)**

Il faut tenir compte du fait que **$P_{Na}(\neq 0) \ll P_K$ et P_{Cl}**

On a donc bien $V_R =$ potentiel de diffusion ionique

$$V_m = -\left(\frac{RT}{F}\right) \ln \frac{P_{Na} [Na^+]_{int} + P_K [K^+]_{int} + P_{Cl} [Cl^-]_{ext}}{P_{Na} [Na^+]_{ext} + P_K [K^+]_{ext} + P_{Cl} [Cl^-]_{int}}$$

Et la **relation de Goldman** s'écrit alors :

On considère que le potentiel est lié UNIQUEMENT au sodium et au potassium (on enlève Cl^- de la formule)

La membrane cellulaire a une perméabilité au sodium (P_{Na}) qui est, bien que non nulle (**contrairement à la théorie de Boyle et Conway non validée**), très inférieure à la perméabilité au potassium (P_K) et au chlore (P_{Cl}).

Le potentiel de repos est donc **lié au phénomène de potentiel de diffusion ionique**. Et on peut écrire le potentiel de membrane (V_m) suivant la relation de Goldman en utilisant les perméabilités et les concentrations intra et extracellulaires de ces 3 ions.

A l'état de repos ($V_m = V_R$) l'expérience montre que **$V_m = V_{Cl-eq}$**

$$V_m = V_R = V_{Cl^{-eq}} = + \left(\frac{RT}{F} \right) \ln \left(\frac{[Cl^{-}]_{int}}{[Cl^{-}]_{ext}} \right) = - \left(\frac{RT}{F} \right) \ln \frac{P_{Cl} [Cl^{-}]_{ext}}{P_{Cl} [Cl^{-}]_{int}}$$

Loi de Nerst :

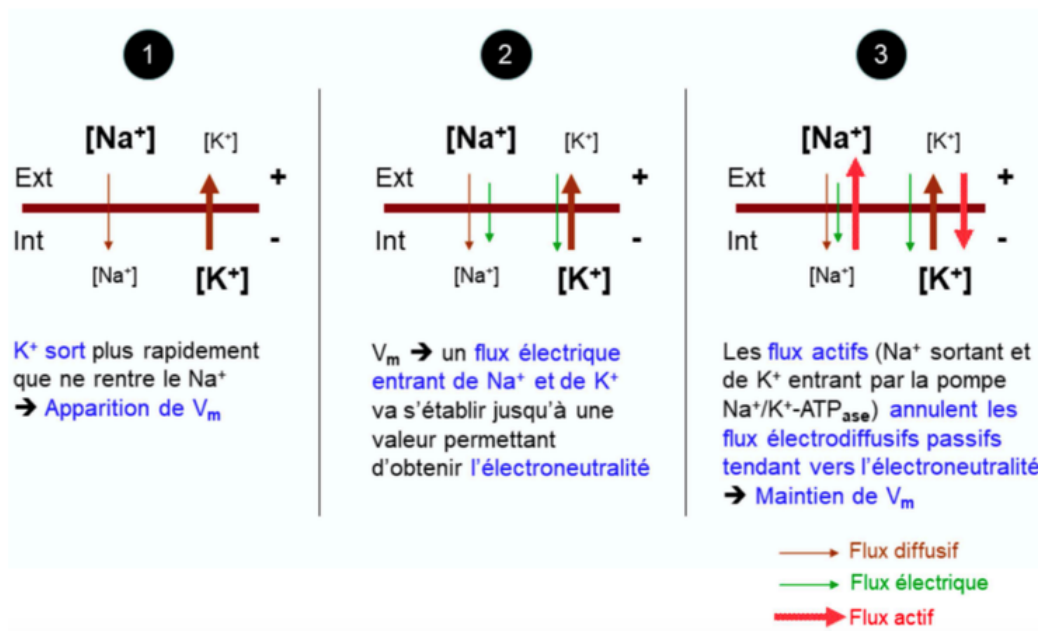
Comme l'expérience montre que V_m au repos est égal au potentiel d'équilibre de l'ion Chlore. On peut simplifier la relation de Goldman. Et n'exprimer V_m qu'en fonction de Na^+ et K^+ . ***On va donc considérer que le potentiel de repos n'est du qu'à ces 2 ions.***

$$V_m = - \left(\frac{RT}{F} \right) \ln \frac{P_{Na} [Na^+]_{int} + P_k [K^+]_{int}}{P_{Na} [Na^+]_{ext} + P_k [K^+]_{ext}}$$

Et la relation de Goldman s'écrit alors :

○ Mécanisme de maintien d'un potentiel de repos

On ne prend en compte que le sodium et le potassium.



Comme le potentiel de membrane (V_m) au repos est dû au **phénomène de diffusion** ionique en présence des 2 ions Na^+ et K^+ ① (en gardant en mémoire que la membrane est plus perméable à K^+ qu'à Na^+), des flux électriques de ces 2 ions vont s'établir pour obtenir l'électroneutralité ②. Il faut donc un phénomène actif pour maintenir V_m ③.

Ce phénomène actif correspond aux flux actifs liés à l'activité de la pompe Na^+/K^+ ATPase qui annulent les flux passifs tendant vers l'électroneutralité et donc permettent le maintien de V_m au repos, c'est à dire V_R .

• Physique du potentiel de d'action - Exemple du neurone

Définition du potentiel d'action : Modification transitoire et propagée de V_m secondaire à une dépolarisation membranaire suffisante provoquée par un stimulus.

○ Effet d'un stimulus électrique

Après le potentiel de repos, nous voyons la physique du potentiel d'action, là encore avec l'exemple du neurone. Pour introduire le potentiel d'action, nous allons voir tout d'abord

les différents effets de stimuli électriques sur la membrane en fonction des caractéristiques de ces stimuli. Tout d'abord **on rappelle qu'au repos la membrane n'est parcourue par aucun courant**.

Dans le chapitre 1 nous considérons les effets d'un stimulus électrique appliqué expérimentalement à l'aide d'une paire d'électrodes de part et d'autre de la membrane.

1. Au repos

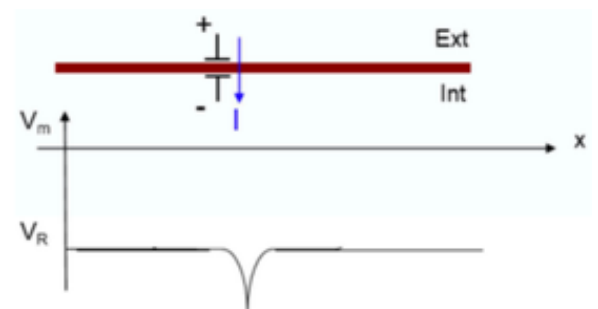
La membrane n'est traversée par aucun courant, car **tous les flux s'annulent** : flux diffusif, électriques, actifs à l'équilibre).

1. Cas d'un stimulus électrique

Si on impose un courant à l'aide d'une paire d'électrodes $\Rightarrow$ **rupture de l'équilibre des flux**.

On peut alors considérer la membrane comme une **résistance électrique**.

- **Stimulus hyperpolarisant :**



- $\uparrow$ Polarisation membranaire donne $\uparrow |V_m|$

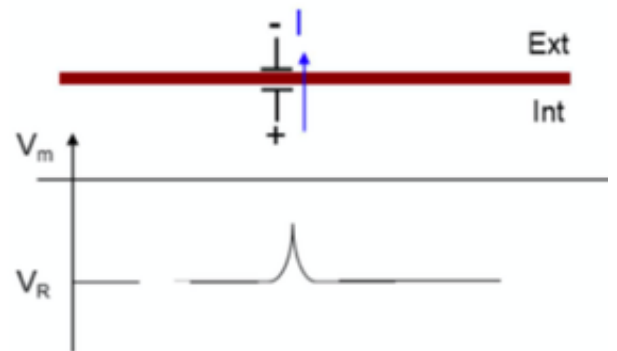
$\Rightarrow$ **Modification des flux** électriques : $\uparrow$ **Na⁺ et K⁺ entrant** et **Cl⁻ sortant**

⇒ Déséquilibre des flux : (en considérant les autres flux constants) on a des flux net : **Na⁺ et K⁺ entrant**

Cl⁻ sortant

Donc un **courant I entrant** (sens prévu par la loi d'Ohm/électrodes).

- **Stimulus dépolarisant sous-liminaire** : moins d'effet local



↓ Polarisation membranaire donne ↓|Vm|

⇒ **Modification des flux** électriques inversés : ↓ **Na⁺ et K⁺ entrant** et **Cl⁻ sortant**.

⇒ Déséquilibre des flux : (en considérant les autres flux constants), on a des flux net : **Na⁺ et K⁺ sortant**

Cl⁻ entrant

Donc un **courant I sortant** (Sens prévu par la loi d'Ohm/électrodes).

- **Stimulus dépolarisant liminaire ou supraliminaire :**

Si le courant est suffisamment intense ($I \geq I_l$) → **Apparition d'un PA**

L'apparition du PA est fonction de l'**intensité**, du **temps d'application** et de la **forme du stimulus**.

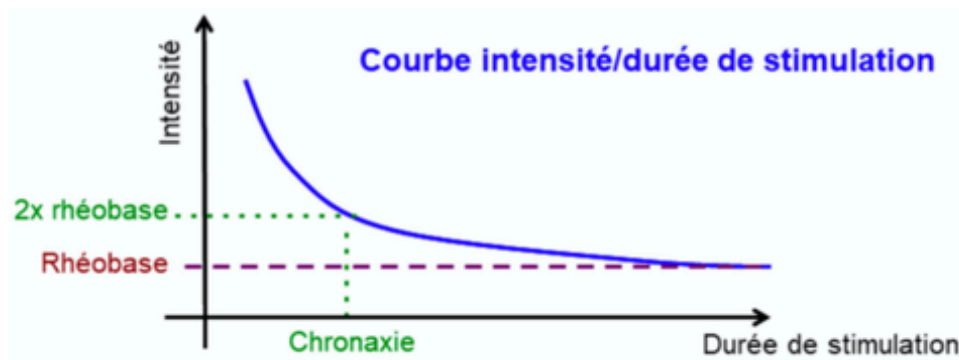
Loi intensité/durée (cas de stimulation rectangulaire)

Potentiel d'action (Dépolarisation) **non instantané**

⇒ Seuil atteint au bout d'un temps t **d'autant plus court que le stimulus est intense**

⇒ Courant de durée longue doit avoir une intensité minimale (seuil) = **rhéobase**

= **intensité liminaire**



/!\ La **RHÉOBASE** est une **INTENSITÉ**, la **CHRONAXIE** est une **DURÉE**.

Il faut noter que **l'apparition du PA est fonction de l'intensité, du temps d'application de la stimulation et de la forme du stimulus.**

En considérant une stimulation appliquée suivant une forme rectangulaire, on peut définir une **loi dite intensité/durée**. Le **PA n'est pas instantané et apparaît après un certain temps qui est d'autant plus court que l'intensité est intense**. On définit ainsi une courbe bleue, on abouti à un PA.

On définit ainsi un courbe intensité/durée pour un neurone donné (cf. Schéma ci-dessus). **Si on se situe au dessus de la courbe bleue, on abouti à un PA.**

On définit la **rhéobase** comme l'intensité minimale pour obtenir un PA. **En dessous de cette intensité, il n'y aura pas de PA**. Pour une intensité supérieure à la rhéobase le PA apparaîtra plus rapidement.

On définit la **chronaxie** comme le temps qu'il faut appliquer un stimulus d'une intensité égale à deux fois la rhéobase pour obtenir un PA.

○ Description et caractéristique du PA

Plusieurs phases :

- Un prépotentiel
- Une pointe
- Une repolarisation lente
- Une hyperpolarisation (récupération)

1. Prépotentiel

Correspond à l'ensemble des modifications locales de Vm qui précèdent la pointe. *Ne fait pas partie du PA à proprement parler.*

C'est un **phénomène local, sans seuil, progressif, décrémental et non propagé**.

La durée dépend du temps de latence d'apparition de la pointe :

Plus l'intensité du stimulus est élevée, plus la durée du temps de latence diminue.

C'est une période d'**hyperexcitabilité**.

1. La pointe

Suit le prépotentiel en cas de stimulus liminaire ou supraliminaire.

⇒ **Brutal, rapide, bref, transitoire**

- Seuil (**≥ II**)
- Irréversible
- Non décrémental
- Propagé (sans atténuation)
- Suit la loi du tout ou rien
- Célérité et amplitude constante

⇒ Période réfractaire absolue (**inexcitabilité totale**).

⇒ Propagation de proche en proche sur l'ensemble de la fibre (**vitesse dépend de la myélinisation**)

- Due aux courants locaux → dépolarisation des zones adjacentes
- **Non décrémentielle** (même amplitude et même vitesse)

1. Repolarisation lente et hyperpolarisation

Aussi appelés post-potentiels, ils correspondent à **l'ensemble des variations de V_m qui suivent la pointe jusqu'au retour du potentiel de repos.**

→ **Locaux, non propagés, décrémentiels.**

Correspondent à une période réfractaire relative (on pourra avoir production d'un nouveau potentiel d'action, mais avec une **intensité bien supérieure : PA à seuil >> IL**)

Puis on a une période dite super-normale correspondant à une **hyper-excitabilité** (paradoxale puisque associée à une hyperpolarisation)

• Théorie ionique (voltage clamp)

Principes : Explication des **mécanismes (de genèse) du PA** en rapport avec des variations de P_{Na} et P_K , secondaires à une dépolarisation supraliminaire ou liminaire.

◦ **Technique du voltage-clamp (ou tension imposée)**

Proposée par Hodgkin et Huxley en 1952 (Prix Nobel 1963)

Repose sur la loi d'Ohm $U = RI$.

⇒ Impose un V_m donné fixe dans le temps → U est connue et imposée.

⇒ Mesure de I (courant transmembranaire) → On a déduit R (résistance membranaire)

⇒ Mesure des concentrations : $[Na^+]_{ext}$, $[Na^+]_{int}$, $[K^+]_{ext}$, $[K^+]_{int}$

⇒ Dédution de la conductance (inverse de la résistance) : on va pouvoir mesurer la perméabilité membranaire P_{Na} et P_K en fonction de V_m .

Conclusion: PNa et PK dépendent de Vm donc du degré de dépolarisation de la membrane.

D'autres expériences ont démontré que **ces variations étaient dues à l'ouverture de canaux ioniques voltage-dépendants** sous l'effet d'une dépolarisation supraliminaire.

○ Mécanisme du PA d'après la théorie ionique

Le PA est dû à des variations des perméabilités membranaires au sodium et au potassium différentes au cours du temps.

On identifie essentiellement 2 phénomènes :

1. Dépolarisation membranaire supraliminaire

→ Ouverture des canaux sodium voltage dépendants, ↑ PNa donc ↑ Flux net entrant de Na⁺

→ Modification brutale de la polarisation membranaire = **dépolarisation** très importante

→ Pour maintenir l'électroneutralité, Vm a tendance à varier jusqu'à la valeur du potentiel d'équilibre : **VNa+eq**

Mais ↑ PNa = phénomène très bref (inactivation rapide des canaux Na⁺ Voltage dépendant)

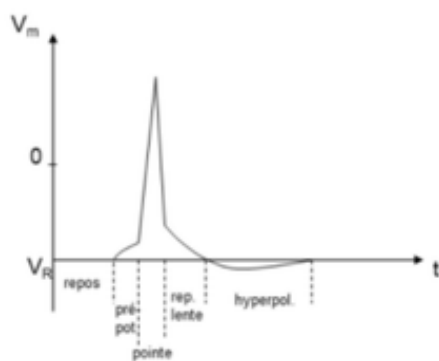
1. Repolarisation membranaire

Ouverture retardée des canaux K^+ voltage dépendants, donc $\uparrow P_K$ et $\uparrow$ du flux net sortant de K^+ responsable de la repolarisation de la membrane.

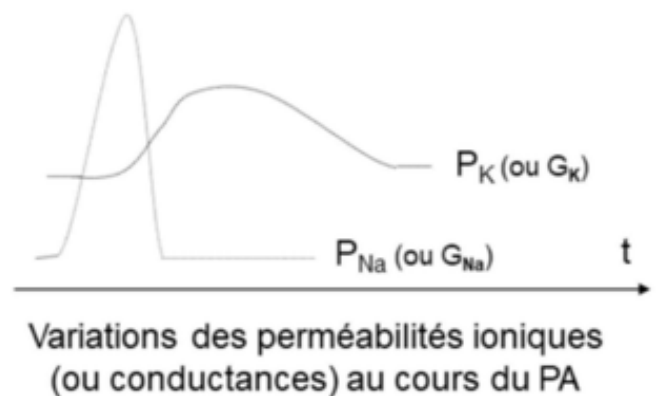
→ Pour maintenir l'électroneutralité de la membrane, **V_m a tendance à varier jusqu'à la valeur du potentiel d'équilibre** : V_{K+eq} .

Or V_{K+eq} est plus élevé que le potentiel de repos en valeur absolue (ce qui explique la tendance à l'hyperpolarisation avant le retour à l'équilibre).

La repolarisation membranaire est essentiellement due à l'ouverture retardée des canaux K^+ voltage-dépendants.



Aspect schématique d'un PA



• Etude du potentiel d'équilibre d'un ion (patch-clamp)

○ Généralité

Technique introduite par **Neher et Sakmann** en 1976 (Prix Nobel 1991).

Elle permet d'**enregistrer le courant élémentaire passant à travers un canal spécifique** donc étudier l'activité des canaux ioniques isolés.

○ Principe

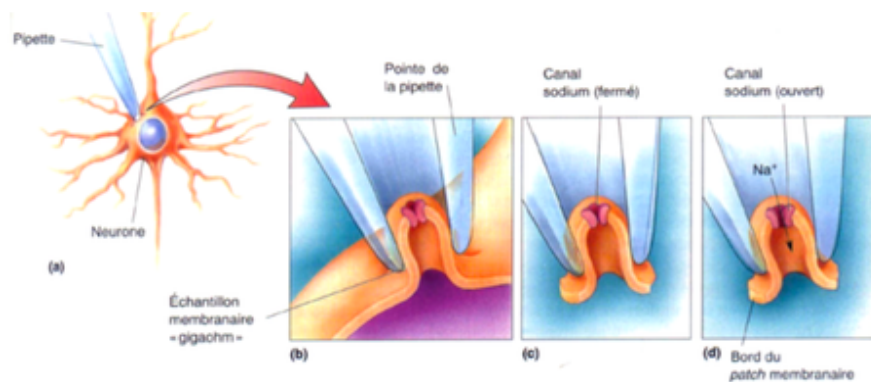
Contrairement au voltage-clamp, cette technique ne nécessite **pas d'introduction de microélectrodes dans la cellule**.

→ **Isolement d'une petite surface** de la membrane (patch = 1 micromètre) par une micropipette qui scelle de façon très étroite le patch étudié (résistance en Gigaohm).

→ Remplissage de la pipette par une **solution ionique connue**.

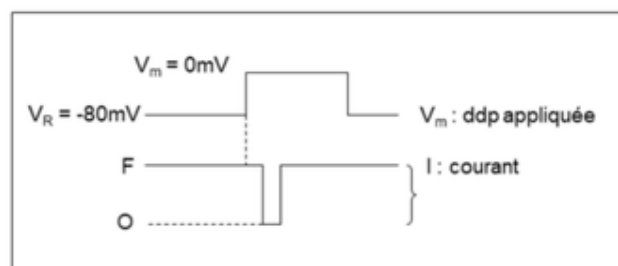
→ Application et maintien d'une ddp (V_m) entre une électrode d'enregistrement et la surface externe du patch.

→ Enregistrement du courant ionique élémentaire transmembranaire entrant et sortant sur canal unique = **courant unitaire ionique**.



Résumé : La méthode du patch clamp correspond à isoler une toute petite surface (qui correspond à un canal ionique) et mesurer le courant.

Enregistrement des courants induits en patch-clamp



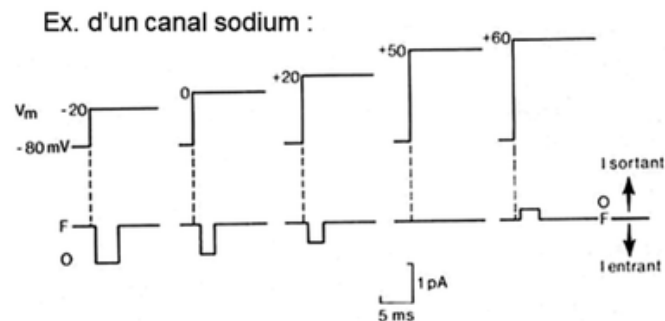
Ce schéma montre l'enregistrement d'un courant unitaire induit par l'ouverture d'un canal ionique secondaire à la modification de V_m due à l'application d'une différence de

potentiel. La différence de potentiel induite par l'expérience fait passer V_m de -80mV (valeur de V_m au repos c'est à dire V_R) à 0mV . Cette dépolarisation induit ici l'ouverture du canal et un courant I .

○ Résultats

Le flux net nul est donc obtenu pour **une ddp (V_m) égale au potentiel d'équilibre** (V_{i+eq})

C'est une démonstration expérimentale de l'équation de Nernst.



L'exemple du canal sodium montre que la valeur de V_m permettant d'annuler le courant I lié au flux de sodium correspond au potentiel d'équilibre de l'ion sodium ($V_{Na+eq} = 50\text{mV}$).

Potentiel membranaire = Différence de potentiel de part et d'autre de la membrane