

NOTIONS ELEMENTAIRES D'ELECTROPHYSIOLOGIE

DISTRIBUTIONS IONIQUES A TRAVERS LES MEMBRANES

POTENTIEL MEMBRANAIRE

POTENTIEL ELECTROCHIMIQUE ET EQUATION DE NERNST

Ainsi que nous l'avons mentionné plus tôt, le gradient de concentration est une force motrice à la diffusion des espèces. Toutefois, lorsque ces espèces sont électriquement chargées, une autre force entre en jeu ; la force électrique. Ainsi, en présence d'un champ, les charges tendent à se déplacer dans un sens ou dans l'autre. Ainsi, dans des systèmes biologiques, les espèces chargées (ions) sont à la fois mues par leur gradient de concentration, et leur potentiel électrique : on parle alors de **potentiel électrochimique**.

On peut aisément comprendre le concept de potentiel électrochimique de la façon suivante : imaginons que l'on ait un système fait d'une membrane cellulaire qui sépare deux compartiments, un compartiment intérieur et un compartiment extérieur.

On a un compartiment A, intracellulaire, et un compartiment B, extracellulaire, tous deux remplis d'eau. On dissout ensuite du chlorure de potassium (KCl) dans le compartiment A, sans changer le compartiment B. Puisque la membrane est poreuse et perméable aux deux espèces dissoutes (K^+ et Cl^-) dans le compartiment B, on peut supposer que la moitié de la population de K^+ et de Cl^- va migrer vers le compartiment B jusqu'à arriver à terme d'un équilibre de concentration (loi de diffusion de Fick). Puisque la migration d'un ion K^+ est également accompagnée d'un ion Cl^- , le transfert est *isoélectrique* et ne dépend donc pas de la différence de potentiel entre les deux compartiments.

Imaginons maintenant que l'on retente l'expérience mais cette fois ci avec une membrane à perméabilité sélective, formée d'une bicouche imperméable aux ions et comportant uniquement des canaux perméables au potassium. Dans ce contexte expérimental, le compartiment A (intracellulaire) est au départ électriquement neutre, puisque les charges positives portées par le potassium sont

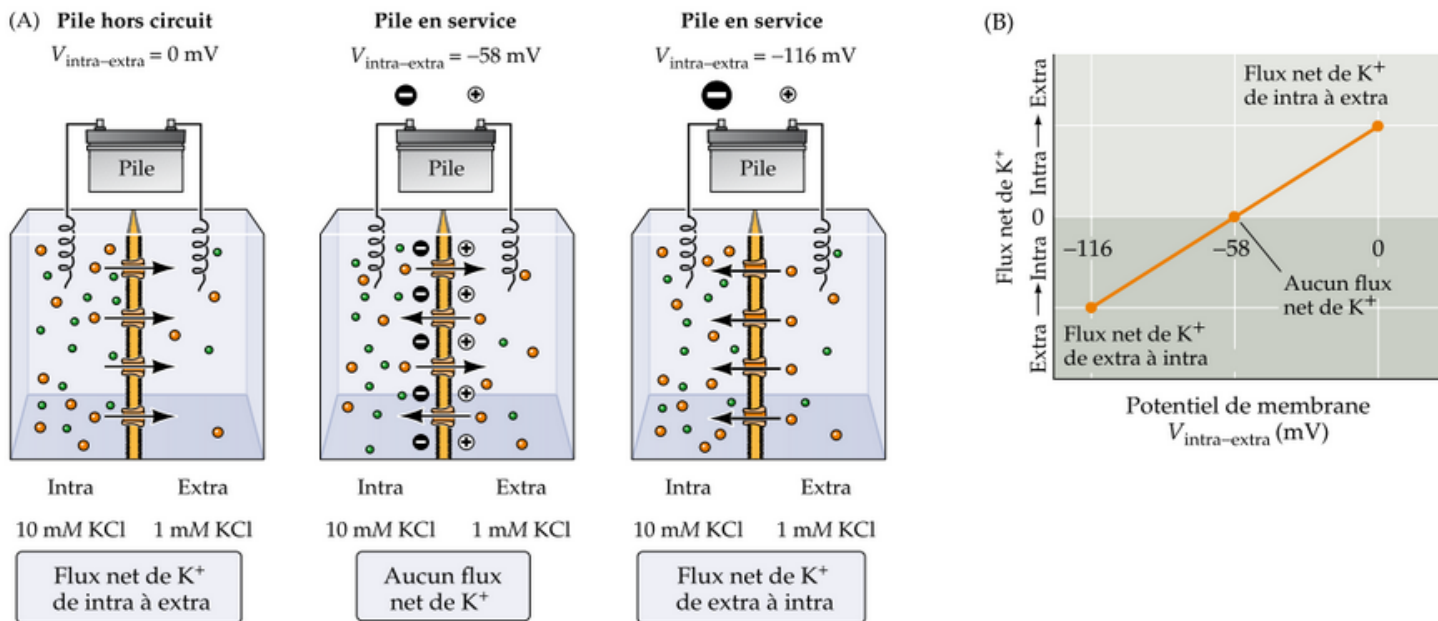


FIGURE 2.6

Le potentiel de membrane influence les flux ioniques. (A) En connectant une pile de part et d'autre d'une membrane perméable au K^+ , on peut contrôler directement le potentiel de membrane. Lorsque la batterie est mise hors circuit (à gauche) les ions K^+ (en orange) s'écoulent simplement en suivant leur gradient de concentration. Si l'on fixe initialement le potentiel de membrane ($V_{intra-extra}$) au potentiel d'équilibre des ions K^+ (au centre), on n'obtient aucun flux net de K^+ . Mais si on le fixe à un niveau plus négatif que le potentiel d'équilibre des ions K^+ (à droite), on provoque un flux de K^+ dans le sens opposé à son gradient de concentration. (B) Relations entre le potentiel de membrane et la direction du flux de K^+ .

exactement contrebalancée par les charges négatives du chlore, et le compartiment B (extracellulaire), ne comportant aucun ion, est également neutre : à mesure que le potassium diffuse dans le compartiment B, au départ mû par son gradient de concentration, des charges positives s'accumulent dans le compartiment B, tandis qu'elles quittent le compartiment A : le transport est ainsi dit *électrogénique*. Il se crée ainsi graduellement un gradient électrique qui s'oppose à la diffusion des ions potassium. Le système est à l'équilibre lorsque la force électrique contrebalance exactement la force chimique à la diffusion : on dit alors que l'espèce est à l'**équilibre électrochimique**.

A l'équilibre électrochimique, il n'y a plus aucun mouvement *net* d'ions K^+ vers l'intérieur ou l'extérieur de la cellule. En conséquence de cet équilibre, alors que le nombre de potassium intracellulaire n'est pas égal au nombre de potassium extracellulaire, il existe une distribution asymétrique de charges entre le milieu intra et extracellulaire : il résulte une différence de potentiel électrique de part et d'autre de la membrane appelé **potentiel d'équilibre**.

Dans ces conditions, le milieu intracellulaire (A) porte moins de charges positives que le milieu extracellulaire (B). De même, il persiste un potentiel chimique exactement opposé au potentiel électrique. On peut calculer le potentiel électrique qui résulte d'une distribution d'une espèce ionique donnée de part et d'autre de la membrane en condition d'équilibre électrochimique grâce à l'**équation de Nernst** :

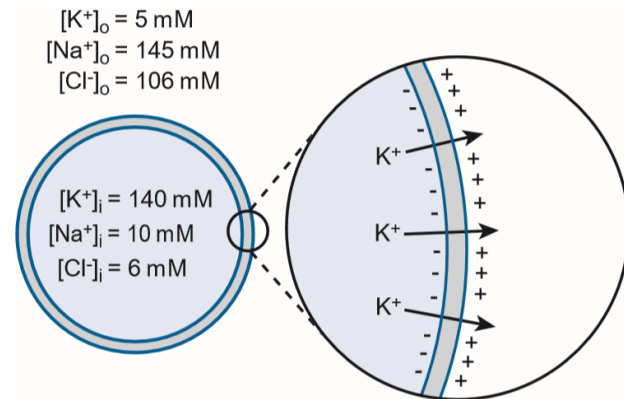
$$E_K = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[K^+]_o}{[K^+]_i} \right)$$

Où E_K est le potentiel électrochimique pour l'ion K^+ , R est la constante des gaz parfaits, T est la température du milieu en degrés Kelvins, z est la valence (+1 pour l'ion K^+), F est la constante de Faraday, et $[K^+]_o/[K^+]_i$ est le rapport des concentrations en K^+ du milieu extracellulaire (o) et intracellulaire (i).

Cette même équation nous indique que pour maintenir un gradient de concentration donné pour une espèce ionique, il faudra établir un potentiel électrique d'une valeur qui s'oppose exactement à la diffusion de l'espèce en question. Notez qu'ici, notre système ne reçoit pas d'influence extérieur : le système atteint automatiquement un équilibre, et les variables de gradient de concentration et de potentiel électrique sont interdépendantes. La valeur du potentiel électrique et du gradient de concentration dépendent alors des conditions de départ, à savoir de la quantité de KCl mise dans le milieu intracellulaire. Mais dans des conditions où on souhaite maintenir un potentiel électrique, le gradient de concentration est la résultante (il est modifié afin d'arriver à un équilibre), et inversement si on souhaite maintenir un gradient de concentration donné, le potentiel électrique sera la résultante.

TABLE 4-1
Intracellular and Extracellular Concentrations of the Common Monovalent Ions for a Typical Mammalian Cell

ION	INTRACELLULAR (mM)	EXTRACELLULAR (mM)
K^+	140	5
Na^+	10	145
Cl^-	6	106



Plasma membrane permeable to K^+

FIGURE 4-1 ■ When the plasma membrane is selectively permeable only to K^+ ions, the K^+ concentration gradient (high concentration inside and low concentration outside) drives net movement of K^+ ions out of the cell.

Dans des conditions biologiques où la membrane régule les transports d'ions, on peut considérer que les gradients de concentrations sont les variables indépendantes et le potentiel électrique à l'équilibre est la résultante. Toutefois, nous verrons plus loin qu'il s'agit en fait des deux cas, selon le contexte.

En se basant sur notre table 4-1, on peut voir que dans une cellule, la concentration intracellulaire en potassium est de 140 mM, et la concentration extracellulaire de 5 mM à l'équilibre (conditions de repos). On peut ainsi calculer le potentiel électrochimique de K^+ associé à un tel gradient :

$$E_K = \frac{61.5}{+1} \log \frac{5}{140} - 61.5(-1.45) = -89.1 \text{ mV}$$

Le potentiel membranaire, ou le potentiel électrochimique de toute espèce, est défini comme le potentiel électrique à l'intérieur de la cellule mesuré relativement au potentiel électrique extérieur : c'est donc une valeur relative, par rapport au milieu extérieur où l'on considère que le potentiel est nul (vaut 0). Ainsi, dans le cas de notre cellule uniquement perméable au potassium, le potentiel électrochimique vaut -89 mV, ce qui veut dire que le milieu intracellulaire est chargé négativement par rapport au milieu extracellulaire.

Si l'on change le gradient de concentration, ce potentiel électrochimique résultant variera également. D'un point de vue biologique, cela signifie que des canaux perméables au potassium sont présents dans la membrane et sont ouverts, permettant des mouvements de cet ion. De tels canaux existent au niveau de tous les types cellulaires et on les désigne globalement sous le terme de **canaux de fuite potassique**. Le mot « fuite » est utilisé ici pour signifier qu'il existe en permanence au niveau de toutes les cellules un flux de potassium.

L'équation de Nernst peut être utilisée pour calculer le potentiel d'équilibre de tout ion *perméant*, pour autant que les concentrations intracellulaire et extracellulaire soient connues. Si on prend maintenant l'exemple du sodium, en considérant que la membrane est perméable seulement au sodium, alors le potentiel d'équilibre, E_{Na} , pour les concentrations données au tableau 4-1, serait :

$$E_{Na} = \frac{61.5}{+1} \log \frac{145}{10} = 61.5 (+1.16) = +71.5 \text{ mV}$$

Dans cette situation où le Na^+ réside principalement dans le milieu extracellulaire, le potentiel électrochimique a une valeur positive.

Le signe de E_{Na} est positif parce que cet ion chargé positivement est plus concentré à l'extérieur qu'à l'intérieur. Dès lors, sa diffusion naturelle serait de rentrer dans les cellules, ce qui rendrait l'intérieur de la cellule plus positif tout en enlevant le même nombre de charges positives du milieu extérieur. Formulée d'une autre façon, pour maintenir un gradient de concentration où le Na^+ est majoritairement séquestré à l'extérieur de la cellule, il faut que le potentiel électrique soit fortement positif à l'intérieur de la cellule pour que le système soit à l'équilibre, de sorte que la force électrique s'oppose à la force chimique. Ainsi, si la membrane était sélectivement perméable au sodium (ce qu'elle n'est pas en temps normal puisqu'il n'existe pas de canaux de fuite sodiques), l'intérieur de la cellule deviendrait plus positif relativement à l'extérieur qui sert de référence.

En se référant toujours à l'équation de Nernst, on peut facilement calculer que le potentiel électrochimique des ions chlore, E_{Cl} , vaut -76.8 mV à 37° C dans notre système.

Un point important à noter est que pour qu'il y ait un potentiel électrochimique associé à un ion donné, il est nécessaire que la membrane soit perméante envers celui-ci. La possibilité que ces ions puissent traverser la membrane est requise pour établir un potentiel électrique : dans le cas contraire, la membrane étant imperméable et donc isolante, elle annule le potentiel électrique imposé par la séparation asymétrique des charges. Les potentiels électriques sont ainsi dus (1) à des différences de concentrations d'ions spécifiques de part et d'autre de la membrane et (2) à la perméabilité sélective de la membrane envers ces ions. Ces deux phénomènes dépendent à leur tour de deux sortes de transporteurs présents dans la membrane cellulaire.

Comme nous l'avons fait remarquer plus tôt, dans les conditions biologiques de base, la cellule tend à maintenir des gradients de concentrations, tandis que le potentiel électrochimique est alors la variable résultante. Ces gradients de concentrations sont établis d'une part par les propriétés imperméables de la bicouche phospholipidique, qui séparent les compartiments intracellulaire et extracellulaire, et secondairement par des protéines auxquelles on donne le nom de **transport actifs** : comme leur nom l'indique, elles transportent activement certains ions, à l'encontre de leur gradient de concentration, vers l'intérieur ou l'extérieur de la cellule.

La perméabilité sélective de la membrane, qui permet la diffusion de ces ions selon leur gradient électrochimique et est à la base des potentiels membranaires, est due principalement à la présence de **canaux ioniques** ; il s'agit de protéines qui permettent à certains ions de franchir la membrane suivant leur gradient électrochimique (diffusion facilitée). Ces canaux permettent ainsi le mouvement sélectif de certains ions, à la base du potentiel membranaire. La question à se poser devient alors si de tels mouvements à travers les canaux altèrent significativement la concentration ionique à l'intérieur de la cellule au cours du temps. Après tout, si des ions entrent ou quittent la cellule, la concentration intracellulaire *devrait* changer.

Cependant, par une approche détaillée plus loin dans ce chapitre, on se rend compte que le nombre d'ions qui rentrent ou qui sortent d'une cellule reste relativement faible par rapport au nombre d'ions en présence dans les compartiments intra et extracellulaire, n'ayant que peu d'impact sur les concentrations intracellulaires. En d'autres termes, les concentrations ioniques cellulaires sont peu modifiées par ces quelques mouvements ioniques. Une autre conclusion à en tirer est que des courants de faible amplitude suffisent à générer des potentiels de l'ordre du millivolt. D'autre part, on pourrait penser à première vue que l'ampleur des potentiels électriques calculés par l'équation de Nernst est négligeable. Cependant, nous devons nous rappeler que ce potentiel existe à travers une membrane plasmique qui est à peine épaisse de 50 à 70 angströms, c'est-à-dire 5 à 7 nanomètres. Rapportée à une membrane biologique qui serait épaisse d'un centimètre, la valeur du potentiel de membrane de 80 mV équivaldrait à un champ électrique de 160 000 volt/cm. De cette manière, nous percevons mieux l'importance et la force du champ électrique présent de part et d'autre de la membrane électrique.

L'observation la plus importante de cette discussion est que la perméabilité sélective de la membrane plasmique envers des ions peut avoir des conséquences électriques importantes. Pour une cellule typique (avec les concentrations ioniques similaires à celle listées dans la table 4-1), si la membrane plasmique est sélectivement perméable au K^+ , l'efflux résultant de K^+ tendra à amener le potentiel membranaire V_m à des valeurs plus négatives.

Alternativement, si la membrane plasmique est sélectivement perméable au Na^+ , l'influx Na^+ résultant amènera le V_m de la cellule à des valeurs plus positives.

VALEUR DU POTENTIEL MEMBRANAIRE ETABLIE PAR PLUSIEURS IONS

Jusqu'à présent, nous avons envisagé le potentiel électrique (dont la valeur est calculée par l'équation de Nernst) pour un ion particulier dans une situation idéalisée, c'est-à-dire caractérisée par une membrane plasmique qui ne serait perméable qu'à un seul ion à la fois. Or, une membrane plasmique peut évidemment être perméable en même temps à plusieurs ions et ce, à divers degrés en fonction du type et du nombre de canaux ouverts à un moment donné. En effet, cette perméabilité membranaire aux différents ions peut évoluer dans le temps. Comment la perméabilité ionique de la membrane plasmique est-elle régulée ? Comment les perméabilités relatives au K^+ , Na^+ et Cl^- contribuent-elles en temps réel et simultanément au **potentiel de membrane en conditions de repos** ?

Si la cellule est perméable aux trois ions que nous venons de citer, les flux de ces ions se déroulent à travers la membrane plasmique. Comme nous l'avons vu précédemment, ces mouvements ioniques (flux) entrant et sortant de la cellule ont des conséquences électriques qui se retentissent sur le potentiel membranaire V_m . Ainsi, l'efflux (*flux sortant*) de potassium tend à amener le potentiel membranaire V_m vers des valeurs plus négatives, tandis que l'influx (flux entrant) de sodium favorise un potentiel plus positif. De même, l'influx de Cl^- amène des charges négatives dans la cellule et favorise un V_m plus négatif.

Dans cette discussion, nous allons voir qu'il existe un potentiel de repos membranaire, c'est-à-dire un état où le potentiel de membrane reste stable, quasiment invariant. Or, dans ce système, il existe trois flux ioniques qui exercent chacun une influence électrique sur la membrane et peuvent rentrer en conflit (le sodium *tend* à amener le V_m à des valeurs positives, et le potassium et le chlore vers des valeurs négatives). Il est donc possible d'observer un état de repos dans lequel la cellule pourra développer de part et d'autre de sa membrane plasmique un potentiel de repos stable et non variable, parce qu'aucun flux ionique significatif ou net ne se déroulera à ce moment.

En effet, pour obtenir un potentiel de membrane stable alors que se déroulent des mouvements ioniques, il faut selon toute logique que ceux-ci se contrebalancent, du moins sur le plan des charges en mouvement. En d'autres termes, à l'état stable ou de repos, tous les flux ioniques tendant à rendre la cellule plus négative doivent être exactement contrebalancés par des flux qui rendent la cellule plus positive.

Au repos, le potentiel membranaire pour un système à plusieurs ions peut être estimé à l'aide de l'équation de Goldman-Hodgkin-Katz (GHK). Cette équation donne un ordre d'idée relativement proche de l'observation du potentiel membranaire en fonction des trois principaux ions intervenant dans l'établissement de ce potentiel :

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

Dans cette équation, les termes P_K , P_{Na} et P_{Cl} désignent les perméabilités sélectives de la membrane envers les ions K, Na et Cl respectivement. Pour mieux comprendre cette équation de manière intuitive, rappelons-nous que le produit d'un coefficient de perméabilité membranaire par une concentration est égal à un flux unidirectionnel. On peut ainsi décomposer l'équation GHK par des flux unidirectionnels. Par exemple, pour le K^+ :

$$\text{efflux } \text{K}^+ = J_{\text{K}^+}^{\text{in} \rightarrow \text{out}} = P_K[\text{K}^+]_i$$

$$\text{influx } \text{K}^+ = J_{\text{K}^+}^{\text{out} \rightarrow \text{in}} = P_K[\text{K}^+]_o$$

En se rappelant de cette propriété, on peut voir que les trois termes additionnés dans le numérateur de l'équation GHK correspondent à la somme des influx de K^+ , Na^+ et à l'efflux de Cl^- . Les trois flux représentent des mouvements ioniques qui tendent à modifier le potentiel membranaire vers des valeurs plus positives (des ions K^+ et Na^+ entrants et des ions Cl^- quittant la cellule). Les trois termes additionnés dans le dénominateur, en revanche, correspondent aux efflux K^+ , Na^+ et à l'influx Cl^- qui tendent à modifier le V_m vers des valeurs plus négatives. L'équation GHK décrit donc le comportement du V_m lorsque tous les flux ioniques en présence qui tendent à modifier le potentiel dans la direction positive sont équilibrées aux flux ioniques opposés, qui tendent à modifier le potentiel dans la direction négative. Autrement dit, cette équation décrit des flux ioniques qui sont exactement contrebalancés.

En d'autres termes, l'équation de Goldman-Hodgkin-Katz met en relation les différents ions intervenant dans l'établissement du potentiel membranaire : plus un ion donné sait aisément traverser la membrane, c'est-à-dire, qu'il possède une haute perméabilité, et plus cet ion exerce une influence importante sur la valeur du potentiel membranaire. A l'inverse, plus la perméabilité est petite, et plus la contribution de cet ion est faible.

Ces observations peuvent être décrites en termes d'électricité. Parce qu'un flux d'ions est équivalent à un flux de charges (et donc, à un courant électrique), un flux ionique correspond à un courant ionique. Par conséquent, on peut dire que l'équation de GHK donne la valeur du V_m lorsqu'aucun courant *net* ne traverse la membrane, c'est-à-dire lorsque les courants ioniques dans les deux sens s'opposent exactement l'un l'autre. La relation précise entre un flux ionique et un courant ionique est définie dans l'appendice.

Le potentiel de repos est donc la conséquence d'un équilibre mais il ne faut jamais oublier que cet équilibre est dynamique, c'est-à-dire qu'il existe des flux ioniques mais ceux-ci étant exactement contrebalancés sur le plan électrique, cela permet d'observer un potentiel de repos membranaire stable.

A partir du moment où l'on connaît les concentrations intra- et extracellulaires des trois ions ainsi que la perméabilité relative de la membrane à ces ions, on peut aisément calculer la valeur du potentiel de repos à l'aide de l'équation de Goldman-Hodgkin-Katz. Puisqu'il s'agit de perméabilité relative, on prend couramment la perméabilité du potassium comme valeur de référence, arbitrairement définie à 1, et on normalise les autres perméabilités ioniques par rapport à celle du potassium (cette normalisation est rendue possible par le fait que les coefficients de perméabilité sont présents ici tant au numérateur qu'au dénominateur).

En conditions de repos, la cellule a une perméabilité relativement élevée vis-à-vis du potassium et du chlore alors que la perméabilité vis-à-vis du sodium est extrêmement faible (il existe des canaux de fuite perméables au potassium et au chlore mais pas de canaux de fuite perméables au sodium). Ainsi, par rapport à une normalisation en fonction de la perméabilité au potassium, on a les valeurs respectives de perméabilité : $P_K = 1$, $P_{Na} = 0$ et $P_{Cl} = 0,5$. Connaissant ces coefficients de perméabilité, nous pouvons utiliser l'équation GHK avec les concentrations détaillées dans le tableau 5.1 pour calculer le potentiel de repos, V_m , d'une cellule humaine classique :

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{1(5) + 0.02(145) + 0.5(6)}{1(140) + 0.02(10) + 0.5(106)} \right)$$

Pour une cellule à 37°C, on peut approximer le terme RT/F à la valeur de 26.7 mV. On obtient :

$$V_m = 26.7 \ln \left(\frac{1(5) + 0.02(145) + 0.5(6)}{1(140) + 0.02(10) + 0.5(106)} \right) = -76.8 \text{ mV}$$

Cette valeur du potentiel de repos membranaire estimée par l'équation GHK peut être comparée au potentiel d'équilibre du potassium calculé au préalable par l'équation de Nernst : E_K est égal à -89 mV pour les mêmes concentrations. Le potentiel de repos est à donc peu près 12 mV plus positif que le potentiel d'équilibre au potassium. C'est une situation typique ; la plupart des cellules ont un potentiel de repos légèrement plus positif de 5 à 20 mV que le potentiel d'équilibre au potassium. Cette légère positivité du potentiel de repos par rapport au potentiel d'équilibre au potassium n'est en fait que le reflet de la globalisation des autres mouvements ioniques.

On peut voir l'équation de GHK comme la comparaison des influences relatives qu'exerce chaque ion dans l'établissement du potentiel membranaire : plus la membrane est perméable envers un ion, plus cette dernière est permissive aux mouvements de cet ion, et plus cet ion exercera une grande influence sur le potentiel membranaire. Nous verrons ultérieurement que l'influence qu'apporte chaque ion sur le potentiel est expliquée à la fois par des mécanismes de transport cellulaires et, parfois, par des flux d'autres ions nettement moins fréquents.

UN ION PERMÉANT À SON POTENTIEL D'ÉQUILIBRE ÉLECTROCHIMIQUE PEUT ÊTRE NÉGLIGÉ DANS L'ÉQUATION DE GHK

Si l'on reprend la valeur du potentiel d'équilibre du chlore, E_{Cl} , nous avons calculé à l'aide de l'équation de Nernst et en nous basant sur les concentrations détaillées au tableau 5.1, que celle-ci valait -76,8 mV. Cette valeur est identique à celle du potentiel de repos membranaire. En d'autres termes, au potentiel de repos membranaire, les ions chlore sont à leur équilibre électrochimique. Cette situation est rencontrée dans de nombreux types cellulaires dans lesquels on n'observera alors aucun mouvement net de chlore, ceci alors que sa membrane y est relativement perméable.

Nous pouvons utiliser le fait que les ions Cl^- sont à l'équilibre électrochimique de part et d'autre de la membrane pour illustrer un autre aspect de l'équation GHK. Rappelez-vous qu'un V_m de repos stable n'est atteint que par un équilibre des flux des ions perméants à travers la membrane. Lorsqu'un ion est déjà à l'équilibre électrochimique, toutefois, aucun mouvement *net* n'a lieu (les influx et efflux pour cet ion se contrebalancent exactement). Puisque l'équation GHK incorpore la balance des flux ioniques pour arriver au V_m de repos, tout ion dont le flux net est déjà nul n'a pas besoin d'être inclus dans l'équation. Dans notre cellule, parce que Cl^- est déjà à l'équilibre électrochimique, on peut retirer le terme $P_{Cl} \times [Cl^-]$ de l'équation GHK :

$$\begin{aligned} V_m &= \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_K [K^+]_o + P_{Na} [Na^+]_o}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i} \right) \\ &= 26.7 \ln \left(\frac{1(5) + 0.02(145)}{1(140) + 0.02(10)} \right) = -76.8 \text{ mV} \end{aligned}$$

On obtient donc le même résultat. Nous pouvons donc en conclure que lorsqu'un ion perméant est déjà à son équilibre électrochimique, cet ion n'a pas besoin d'être inclus dans le calcul du potentiel de membrane par l'équation de Goldman, Hodgkin et Katz. En d'autres termes, si V_m est égal au potentiel d'équilibre pour un ion perméant particulier, les termes impliquant cet ion peuvent être négligés dans l'équation de Goldman, Hodgkin et Katz, ceci sans aucune influence sur le résultat.

L'ÉQUATION DE NERNST CONSTITUE UN CAS PARTICULIER DE L'ÉQUATION DE GHK

L'équation de Goldman, Hodgkin et Katz permet de calculer la valeur du potentiel de membrane lorsqu'une cellule est perméable aux trois ions monovalents principaux. L'équation de Nernst, de son côté, permet de calculer la valeur du potentiel membranaire lorsque la membrane est perméable à un seul ion. Donc, l'équation de Nernst peut être comprise comme un « cas limite » de l'équation de Goldman, Hodgkin et Katz.

En d'autres termes, si les coefficients de perméabilité de tous les ions sont égaux à 0 excepté pour un ion, dans l'équation de Goldman, Hodgkin et Katz, nous aurons une simplification qui permettra en fait de retrouver l'équation de Nernst. Ainsi si $P_{Na} = P_{Cl} = 0$, l'équation de Goldman, Hodgkin et Katz devient :

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{1 [K^+]_o + 0 [Na^+]_o + 0 [Cl^-]_i}{1 [K^+]_i + 0 [Na^+]_i + 0 [Cl^-]_o} \right) = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{[K^+]_i}{[K^+]_o} \right) = E_K$$

LES VALEURS DE E_K ET E_{Na} REPRESENTENT RESPECTIVEMENT LE PLANCHER ET LE PLAFOND DE LA VALEUR DU V_m

Si nous récapitulons ce que nous venons de voir concernant la valeur du potentiel membranaire V_m , on constate que le potentiel d'équilibre du potassium E_K a une valeur très négative (entre -80 et -90 mV), tandis que la valeur du potentiel d'équilibre du sodium E_{Na} a une valeur très positive (voisine de +60 mV). Ces deux valeurs de potentiel d'équilibre définissent en fait les limites de variation du potentiel membranaire : E_K représente la valeur-plancher tandis que E_{Na} représente la valeur-plafond du potentiel membranaire. La valeur du potentiel d'équilibre du chlore, E_{Cl} , est toujours négative et très proche de la valeur du potentiel de repos membranaire. Ces constations sont décrites graphiquement dans la figure ci-dessous.

Au repos, la valeur du potentiel se situe donc entre ces deux valeurs. Notons dès à présent que la valeur de repos résulte de l'influence relative qu'exerce chaque ion sur le potentiel membranaire, et que cette influence dépend à la fois du gradient de concentration, et de la perméabilité membranaire. Si l'un de ces deux paramètres vient à changer, le potentiel membranaire changera également en conséquence. Ainsi, si des canaux ioniques perméables envers le sodium viennent à s'ouvrir, le potentiel membranaire V_m se rapprochera de E_{Na} à mesure que l'influx sodique augmente. On pourra donc estimer – dans des conditions statiques – la valeur de ce potentiel en corrigeant la valeur de la perméabilité relative de la membrane envers le sodium.

Par ailleurs, dans ce cas, le sens du déplacement de l'ion est dicté par la valeur de son potentiel d'équilibre. En d'autres termes, un ion se déplacera lorsqu'un canal membranaire est ouvert, de telle manière à ce que son flux net favorise le déplacement de la valeur du potentiel de membrane vers la valeur de son potentiel d'équilibre.

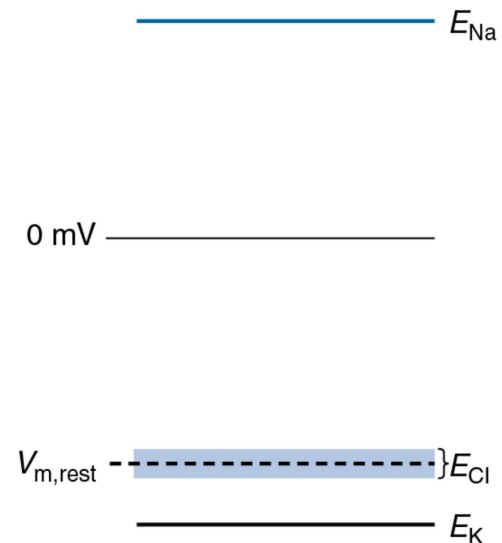


Figure 3 - Dans les cellules mammifères, le potentiel d'équilibre du potassium (E_K) est la valeur la plus basse (plancher/minima) et le potentiel d'équilibre du sodium (E_{Na}) est la valeur la plus haute (plafond/maxima) de la gamme de valeurs possibles du potentiel membranaire. La valeur du potentiel de repos membranaire est toujours légèrement plus positive que celle de E_K et proche de la valeur de E_{Cl} .

Prenons à nouveau l'exemple des ions sodium. Lorsque le potentiel membranaire V_m est à -76.8 mV, puisque la valeur du potentiel d'équilibre du sodium E_{Na} en fonction du gradient de concentration transmembranaire de cet ion est égale à +71.5 mV, le sodium se déplacera pour tenter d'amener la valeur de V_m vers +71.5 mV. Il aura donc tendance à rentrer dans la cellule lorsqu'un canal perméable au sodium s'ouvrira. Le même raisonnement appliqué aux ions K^+ cette fois permet de comprendre que lorsqu'un canal potassique est ouvert, on observera un efflux de potassium.

LA DIFFÉRENCE ENTRE LE POTENTIEL MEMBRANAIRE ET LE POTENTIEL D'ÉQUILIBRE D'UN ION DÉTERMINE LA DIRECTION DU FLUX IONIQUE – CONCEPT DE FORCE MOTRICE

Un ion d'une espèce donnée (Na, K, Cl, Ca, etc) se déplacera toujours d'une manière à rapprocher le potentiel membranaire V_m de son propre potentiel d'équilibre E_X . Cette connaissance nous permet de déduire la direction du flux ionique net de cette espèce. Par exemple, une cellule typique a un potentiel de repos $V_m = -76.8$ mV, et le potentiel d'équilibre du sodium $E_{Na} = +71.5$ mV. Ainsi, les ions Na^+ se déplaceront de manière à vouloir modifier le V_m de -76.8 mV vers 71.5 mV, c'est-à-dire, rendre l'intérieur de la cellule plus positif. Puisque les ions Na^+ ne peuvent rendre la cellule plus positive qu'en y entrant, on peut déduire que le mouvement net qui en résultera sera un *influx*. De façon analogue, la cellule a un potentiel d'équilibre pour le potassium de $E_K = -89.1$ mV. Par conséquent, tout flux de K^+ qui tend à rapprocher le V_m de la valeur de E_K ne peut être qu'un flux sortant (efflux), rendant l'intérieur de la cellule plus négatif.

Pour tout ion X^z , la différence entre le potentiel membranaire V_m et le potentiel d'équilibre électrochimique ($V_m - E_X$) détermine la direction du flux ionique ; cette différence est appelée la **force motrice**. La notion de force motrice sera évoquée ultérieurement ; c'est une quantité couramment utilisée puisqu'elle permet de prédire la direction d'un flux pour une espèce chargée en fonction du potentiel membranaire établi, et par extension, du courant.

LA CELLULE PEUT MODIFIER LA VALEUR DE SON POTENTIEL DE MEMBRANE PAR UNE MODIFICATION SÉLECTIVE DE SA PERMÉABILITÉ À CERTAINS IONS

Sur base de ce qu'il vient d'être observé concernant les relations entre les équations de Nernst et de Goldman-Hodgkin-Katz, on comprend aisément que si la perméabilité membranaire au sodium venait à changer de façon considérable, tandis que celle du potassium et du chlore restaient inchangée, la valeur du potentiel de repos membranaire se rapprocherait de la valeur du potentiel d'équilibre au sodium.

Pour bien comprendre ce raisonnement très important, reprenons le calcul réalisé avec le coefficient de perméabilité normalisé sur celui du potassium lorsque la perméabilité au sodium augmente brutalement : $P_K = 1, P_{Na} = 20, P_{Cl} = 0.5$. Toujours en gardant les mêmes distributions ioniques, le résultat de l'équation GHK pour le potentiel membranaire devient :

$$V_m = 26.7 \times \ln \left(\frac{1(5) + 20(145) + 0.5(6)}{1(140) + 20(10) + 0.5(106)} \right) = +53.5 \text{ mV}$$

Rappelons-nous que le potentiel d'équilibre au sodium dans une cellule est égal à 71.5 mV. Nous voyons que l'accroissement important de la perméabilité au sodium permet de rapprocher la valeur du potentiel de membrane V_m à la valeur du potentiel d'équilibre électrochimique du sodium E_{Na} . Sur base de ce raisonnement, nous pouvons donc conclure qu'une cellule peut modifier la valeur de son potentiel de membrane simplement en modifiant la perméabilité relative aux ions perméants en présence, c'est-à-dire en ouvrant des canaux perméables à tel ou tel ion.

EFFET DONNAN : MENACE OSMOTIQUE

Posons-nous maintenant la question de savoir pourquoi on observe une telle répartition ionique de part et d'autre de la membrane plasmique (tableau 5.1 et figure 5.1). Si l'on considère une cellule uniquement comme un petit sac rempli de certains ions baignant dans un liquide contenant des ions identiques mais à des concentrations différentes, on va au-devant de grosses désillusions sur le plan intellectuel. Sur le plan physiologique, la situation est éminemment plus complexe. Outre ces ions monovalents, une cellule contient de nombreuses protéines et des acides nucléiques qui sont des macromolécules qui portent de multiples charges électriques.

Or, ces macromolécules ne passent pas facilement ou pas du tout la membrane et donc, il existe une imperméabilité membranaire vis-à-vis de ces constituants. Si nous reprenons le raisonnement développé précédemment pour les ions monovalents comme le Na^+ , le K^+ et le Cl^- et que nous l'appliquons à ces macromolécules chargées et présentes en concentrations asymétriques de part et d'autre d'une membrane plasmique, il nous faut considérer leur effet à la fois sur le plan osmotique mais aussi sur le plan électrique.

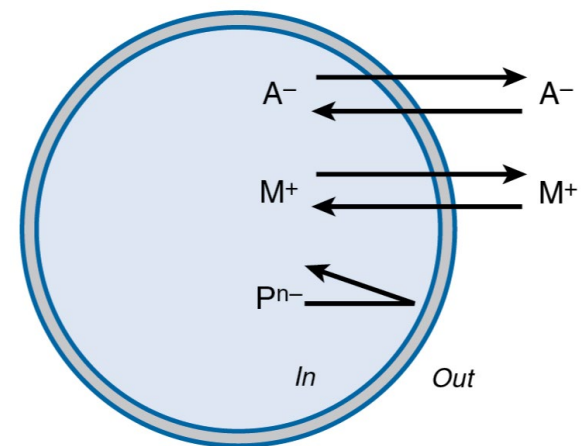


Figure 5.3 – Une cellule contenant des cations et des anions perméants (respectivement M^+ et A^-) et des polyanions imperméants (P^{n-}) est baignée par un liquide extracellulaire contenant uniquement des anions et des cations perméants.

Schématiquement, la situation peut être représentée de la manière suivante : M^+ représente un cation chargé positivement une seule fois (par exemple Na^+ ou K^+), tandis que A^- représente un anion monovalent chargé une fois négativement (par exemple Cl^-) et P^{n-} représente une macromolécule portant n charges négatives. Ces macromolécules sont des protéines et des acides nucléiques la plupart du temps. Rappelons-nous que le pH intracellulaire est égal à 7. Or à cette valeur de pH, tous les acides nucléiques portent un excès de charges négatives et la plupart des protéines qui ont un point isoélectrique inférieur à cette valeur de pH, portent également un excès de charges négatives. La membrane plasmique d'une cellule vivante a une perméabilité sélective pour la plupart des petits ions via les canaux.

Ainsi, M^+ et A^- peuvent traverser la membrane plasmique dans certaines conditions mais les polyanions P^{n-} ne peuvent le faire : il n'existe pas de canaux perméables à ces macromolécules (protéines et acides nucléiques). Dès lors, ces polyanions qui sont enfermés dans la cellule (DNA, RNA, protéines plutôt chargées négativement à pH7), ont tendance à retenir un nombre n de cations monovalents M^+ à l'intérieur de la cellule, simplement pour tenter de maintenir une électroneutralité. Les autres ions restés libres M^+ et A^- s'équilibreront de part et d'autre de la membrane plasmique.

Si l'on se rappelle maintenant ce que nous avons établi dans notre chapitre concernant l'osmose, nous devons conclure que les solutés imperméants polyanioniques intracellulaires ont tendance à attirer de l'eau vers la cellule de manière continue, de part leur concentration intracellulaire et surtout, de part le fait qu'ils retiennent « prisonniers » de nombreux cations monovalents. Dès lors, ceci fait planer une menace permanente sur la cellule qui se voit ainsi menacée de gonflement et d'éclatement (rappelons que le pouvoir osmotique est en lien direct avec le nombre de molécules en solution et ce, quelle soit leur taille). Cette situation et les conséquences découlant du fait d'avoir de multiples macromolécules chargées et enfermées dans un compartiment (la cellule) séparé par une membrane semi-perméable sont collectivement appelées effet Donnan ou équilibre de Gibbs-Donnan.

Pour contrecarrer les effets potentiellement catastrophiques de cet effet Donnan (entrée d'eau permanente et gonflement cellulaire), la cellule a deux solutions à sa disposition :

- La première est de repomper l'eau en permanence vers le liquide extracellulaire au fur et à mesure qu'elle a tendance à rentrer dans la cellule, attirée par les polyanions et les cations retenus dans la cellule par ces derniers. Jusqu'à présent cependant, aucune observation de ce type n'a pu être objectivée dans le règne du vivant. Cette stratégie serait par ailleurs lourde sur le plan énergétique car la plupart des pompes utilisent l'ATP pour fonctionner
- La seconde stratégie qui est en fait celle observée de manière courante, est d'avoir au niveau du liquide extracellulaire un soluté imperméant qui contrebalancerait le pouvoir osmotique du soluté imperméant intracellulaire.

Les cellules contrebalancent donc les effets potentiellement catastrophiques de l'effet Donnan simplement en rendant imperméant un soluté extracellulaire. Pour cela, elle a choisi l'ion Na⁺. Comment peut-elle rendre imperméant un ion sodium ? La cellule est peu perméable au sodium et elle le repompe hors de la cellule au fur et à mesure de sa rentrée dans la cellule.

Etant donné que la membrane peut être quasi totalement imperméable au Na⁺ lorsque les canaux sodiques sont fermés, très peu de sodium entre dans la cellule et donc très peu de sodium doit être repompé hors de celle-ci. Dans le cas de l'eau, la membrane plasmique y est plus perméable qu'au sodium. Dès lors, l'énergie dépensée pour repomper l'eau qui aurait tendance à re-rentrer dans les cellules en permanence serait donc plus importante si la cellule avait choisi de pomper les molécules d'eau plutôt que le sodium. Pourquoi est-ce le sodium qui a été choisi au cours de l'évolution ? On est réduit ici à des hypothèses et des conjectures.

Cependant l'hypothèse la plus plausible est que les premières cellules étant apparues dans l'océan, un milieu riche en NaCl en solution, il est vraisemblable que cela apparaissait comme logique de privilégier ce cation comme soluté rendu imperméant pour contrebalancer l'effet Donnan.

Ainsi, la plupart du temps, le flux net de sodium est égal à 0 : au fur et à mesure que quelques ions sodium rentrent dans la cellule, ils en sont aussitôt expulsés par des pompes que nous évoquerons ultérieurement. De cette façon, le sodium est rendu artificiellement imperméant en quasi permanence. Dès lors, le principal mécanisme de régulation du volume cellulaire dans toutes les cellules consiste à repomper les quelques ions sodium aussi vite qu'ils aient pu entrer dans la cellule d'une manière ou d'une autre (souvent à la faveur de co-transport). Ainsi, la pompe transmembranaire Na⁺/K⁺-ATPase, en repompant constamment les ions sodium en dehors de la cellule aux dépens d'une dépense énergétique en ATP, maintient un équilibre osmotique et contrebalance l'effet Donnan.

APPENDICES

DEMONSTRATION DE L'EQUATION DE NERNST

L'équation de Nernst ressemble de très près à l'équation qui décrit les *flux de diffusion*. Tandis qu'un gradient de concentration dirige les flux de diffusion de molécules ou d'ions, un gradient de potentiel électrique conduit les flux d'ions.

Ainsi, une espèce d'ion particulière est soumise à deux forces de nature différente (chimique et électrique), et leur flux total (net) résulte de la somme de ces deux forces motrices, causées par la diffusion et par le potentiel électrique.

$$J_{\text{Total}} = J_{\text{diff}} + J_{\text{el}} = -D \frac{dC}{dx} - zuC \frac{dE}{dx}$$

$$= -D \frac{dC}{dx} - zuC \cdot V$$

Cette équation, appelée équation de Nernst-Planck, quantifie le flux ionique guidé par le gradient de concentration et le gradient de potentiel électrique. A l'équilibre électrochimique, le flux causé par le gradient de concentration est exactement contrebalancé par le flux guidé dans la position opposée par le gradient de potentiel électrique, de sorte que le flux net vaut 0. Par conséquent,

$$J_{\text{total}} = J_{\text{diff}} + J_{\text{el}} = -D \frac{dC}{dx} - zuC \frac{dE}{dx} = 0$$

Ce qui signifie que :

$$-D \frac{dC}{dx} = zuC \frac{dE}{dx}$$

Einstein a su dériver la relation entre le coefficient de diffusion (D) et la mobilité (u) d'un ion :

$$D = \frac{uRT}{F}$$

Où R est la constante de gaz universel, T est la température absolue exprimée en Kelvins, et F est la constante de Faraday pour une capacité. En utilisant l'équation [B8], on peut réécrire l'équation [B7] :

$$zuC \frac{dE}{dx} = -\frac{uRT}{F} \frac{dC}{dx}$$

Que l'on peut réarranger de la façon suivante :

$$\frac{dE}{dx} = -\frac{RT}{zF} \frac{1}{C} \frac{dC}{dx}$$

L'équation peut être intégrée de part et d'autre de la membrane :

$$\int_{x_1}^{x_2} \frac{dE}{dx} dx = -\frac{RT}{zF} \int_{x_1}^{x_2} \frac{1}{C} \frac{dC}{dx} dx$$

$$\int_{x_1}^{x_2} dE = -\frac{RT}{zF} \int_{x_1}^{x_2} \frac{1}{C} dC$$

$$(E_2 - E_1) = -\frac{RT}{zF} (\ln C_2 - \ln C_1)$$

$$= -\frac{RT}{zF} \ln \frac{C_2}{C_1} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_1}{C_2}$$

En d'autres termes, si une membrane est sélectivement perméable à un ion particulier, et que l'ion est en équilibre électrochimique de part et d'autre de la membrane, on peut calculer son potentiel transmembranaire ($E_2 - E_1$), qui serait établi en connaissant les concentrations ioniques des deux côtés de la membrane (C_1 et C_2)

Le potentiel membranaire d'une cellule est défini comme le potentiel du milieu intérieur par rapport au milieu extérieur ($E_{in} - E_{out}$).

$$E_{eq} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_{out}}{C_{in}}$$

LES MOUVEMENTS IONIQUES NECESSAIRES A L'ETABLISSEMENT D'UN POTENTIEL MEMBRANAIRE PHYSIOLOGIQUE N'ALTERENT PAS SIGNIFICATIVEMENT LES CONCENTRATIONS IONIQUES

En réalisant que des ions doivent se déplacer à travers la membrane plasmique pour établir un potentiel membranaire (V_m), on peut se demander si de tels mouvements ioniques (par ex., fuite de K^+) altèrent significativement la concentration intracellulaire dudit ion.

Pour répondre à cette question, il se doit de connaître une propriété importante des membranes biologiques, la capacité membranaire, C. La capacité est la mesure de la quantité de charge, q, qui est séparée par la membrane à un V_m donné :

$$C = \frac{q}{V_m}$$

La quantité de charges est alors $q = C \cdot V_m$. Les unités sont le coulomb pour la charge électrique, le volt pour le potentiel électrique et le Farad pour la capacité ; 1 farad est égal à 1 coulomb par volt. La capacité des membranaires biologiques est typiquement de $1 \mu F/cm^2$ de surface membranaire ($1 \times 10^{-6} F/cm^2$). Une cellule sphérique avec un rayon de $10 \mu m$ a une surface membranaire de :

$$A_{cellule} = 4\pi r^2 = 1257 \mu m^2 = 1.257 \times 10^{-5} cm^2$$

La capacité pour une telle cellule est :

$$C = 1 \times 10^{-6} F/cm^2 \times (1.257 \times 10^{-5} cm^2) \\ = 1.257 \times 10^{-11} F$$

Si le V_m de cette cellule est égal au potentiel d'équilibre potassique, $E_K = -89.1 mV$ (i.e., $-0.0891 V$), la quantité de charges séparée par la membrane cellulaire est :

$$q = C \cdot E_K = (1.257 \times 10^{-11} F) \times (0.0891 V) \\ = 1.120 \times 10^{-12} \text{ coulombs}$$

Pour convertir la quantité de charge électrique en quantité d'ions K^+ à déplacer pour établir le E_K , on utilise la constante de Faraday ($F = 96.485 \text{ coulombs/mol}$; notez la distinction entre la constante de Faraday, F, et le farad, F) ;

$$\text{Quantité de } K^+ \text{ déplacé} = q/F = (1.120 \times 10^{-12} \text{ coulombs}) / (96.485 \\ \text{coulombs/mol}) = 1.161 \times 10^{-17} \text{ mol}$$

Pour évaluer si la fuite de $1.161 \times 10^{-17} \text{ mol}$ d'ions K^+ en dehors de la cellule diminue de façon importante la quantité de K^+ intracellulaire, il nous faut calculer la quantité molaire de K^+ originalement présente dans la cellule. Le nombre de moles de K^+ présent dans la cellule revient simplement à multiplier la concentration molaire de K^+ par le volume de la cellule, $[K^+]_{in} \times V_{cellule}$. Le volume de la cellule est :

$$V_{cell} = 4\pi r^3/3 = 4189 \mu m^3 = 4.189 \times 10^{-12} L$$

La quantité totale de K^+ initialement présente dans la cellule doit être :

$$\text{quantité } K^+ = (0.140 \text{ mol/L}) \times (4.189 \times 10^{12} L) \\ = 5.864 \times 10^{-13} \text{ mol}$$

La fraction de K^+ qui a été déplacée en dehors de la cellule pour établir le potentiel E_K (arrivé à l'équilibre) est simplement :

$$\frac{\text{Quantité de } K^+ \text{ déplacée}}{\text{Quantité initiale de } K^+} = \frac{1.160 \times 10^{-17} \text{ mol}}{5.864 \times 10^{-13} \text{ mol}}$$

$$= 1.979 \times 10^{-5} \approx \frac{20}{1,000,000} = 0.002\%$$

Ainsi, pour chaque million d'ions K^+ dans la cellule, approximativement 20 ions à peine doivent être déplacés à travers la cellule pour établir un potentiel électrochimique à l'équilibre de $E_K = -89.1 \text{ mV}$. Cette fuite de K^+ ne diminue la concentration intracellulaire de K^+ de seulement 0.002% - une fraction tout à fait négligeable. Ainsi, il est clair que les mouvements ioniques nécessaires pour établir un potentiel membranaire, bien que significatifs sur le plan électrophysiologique, n'altèrent pas significativement les concentrations.

RELATION ENTRE LES FLUX IONIQUES ET LES COURANTS IONIQUES

A ce stade de la discussion, les mouvements ioniques de part et d'autre de la membrane ont été discutés en termes de flux, J , qui correspondent au nombre de molécules (en mole) traversant une unité de surface membranaire par unité de temps. Dans les futures discussions qui parlent du comportement électrique des cellules, il est plus convenable d'employer le concept de *courant* électrique traversant la membrane (notée I), plutôt que de flux ionique.

Les deux concepts sont équivalents et liés de façon relativement simple. Le courant électrique est le mouvement de charges par unités de temps. Afin de convertir un flux en courant, cela implique de trouver la relation entre la quantité d'ions et la quantité de charges qu'elles portent. Chaque mole d'ions représente z moles de charges électriques si chaque ion est porteur d'une charge z . De plus, pour convertir des unités molaires en unités électriques, il faut utiliser la constante de Faraday, $F = 96,485 \text{ C/mol}$. La relation entre le flux ionique et le courant ionique à travers la membrane est alors :

$$\vec{I} = \vec{J} (zF \times A_{mem})$$

Où A_{mem} est la surface membranaire à travers laquelle les flux/courants ont lieu. Les deux quantités, flux et courant, sont directement liées par des facteurs de conversion et peuvent être considérées comme une même quantité avec des unités différentes.

Différentes conventions de signes sont utilisées dans la description des flux et des courants ioniques en physiologie cellulaire. Tandis que dans la théorie des flux, le passage de « particules » (ions positifs, négatifs ou molécules neutres) *dans* la cellule est défini comme un flux positif, le passage de charges positives *en dehors* de la cellule est défini comme un courant positif dans la théorie électrique.

Les quatre cas de figure physiquement possibles sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Flow of Positive or Negative Ions Relative to Cell	Direction and Sign of Flux, J	Direction and Sign of Current, I
	Outward, negative ($J < 0$)	Outward, positive ($I > 0$)
	Inward, positive ($J > 0$)	Inward, negative ($I < 0$)
	Inward, positive ($J > 0$)	Outward, positive ($I > 0$)
	Outward, negative ($J < 0$)	Inward, negative ($I < 0$)

CALCUL ILLUSTRANT L'EFFET DONNAN

On utilise l'équation de Nernst et le concept de potentiel d'équilibre d'un ion perméant pour examiner l'effet Donnan. Toujours sur base de la figure 4.5, on adopte les symboles suivants : $[M^+]_i$ et $[M^+]_o$ pour les concentrations intracellulaire et extracellulaire de M^+ , respectivement ; $[A^-]_i$ et $[A^-]_o$ pour les concentrations intracellulaire et extracellulaire de A^- , respectivement. $[P^{n-}]$ est la concentration en macromolécules imperméables à l'intérieur de la cellule. On sait que si un ion perméant peut traverser et se distribuer de part et d'autre de la membrane, un potentiel membranaire sera établi qui contrebalance tout mouvement additionnel de cet ion mu par son gradient de concentration. A ce point d'équilibre, il n'y a plus de mouvement net de l'ion perméant à travers la membrane, et le potentiel de membrane est atteint au potentiel d'équilibre de cet ion.

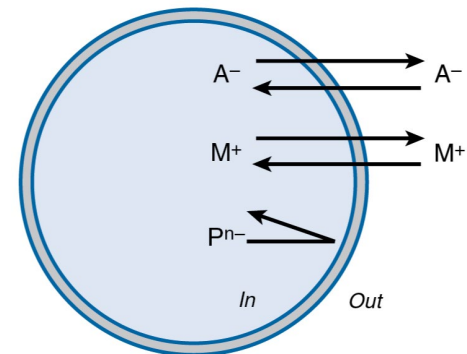


Figure 5.3 – Une cellule contenant des cations et des anions perméants (respectivement M^+ et A^-) et des polyanions imperméants (P^{n-}) est baignée par un liquide extracellulaire contenant uniquement des anions et des cations perméants.

Dans la situation présente, à la fois M^+ et A^- sont perméables à travers la membrane cellulaire ; par conséquent, le potentiel d'équilibre pour chaque ion sera établi éventuellement :

$$E_M = \frac{RT}{(+1)F} \ln \frac{[M^+]_o}{[M^+]_i}$$

$$E_A = \frac{RT}{(-1)F} \ln \frac{[A^-]_o}{[A^-]_i}$$

Puisque que les deux espèces ioniques (M^+ et A^-) sont simultanément à l'équilibre à travers la même membrane, le potentiel d'équilibre obtenu doit être identique, à savoir, $E_M = E_A$.

$$\frac{RT}{(+1)F} \ln \frac{[M^+]_o}{[M^+]_i} = \frac{RT}{(-1)F} \ln \frac{[A^-]_o}{[A^-]_i}$$

En simplifiant l'équation, on obtient :

$$\frac{[M^+]_o}{[M^+]_i} = \frac{[A^-]_i}{[A^-]_o}$$

Où, l'expression équivalente :

$$[M^+]_i [A^-]_i = [M^+]_o [A^-]_o$$

Ces deux dernières équations sont connues comme la condition de Donnan. On peut voir à partir de la condition de Donnan que la distribution d'un cation perméant à travers la membrane est l'inverse de la distribution d'anions perméant à travers la même membrane. Ainsi, la présence de macromolécules imperméantes qui portent plusieurs charges négatives résulte en une plus haute concentration de cations perméants à l'intérieur de la cellule par rapport à l'extérieur, tandis que la concentration d'anions perméants est accordement inférieur à l'intérieur de la cellule par rapport à l'extérieur. Tout système où les cations et anions perméants obéissent à la condition de Donnan sont dites à l'équilibre de Donnan.

On analyse maintenant la situation sur base du principe d'électroneutralité : dans toute solution, le nombre total de charges positives et négatives doit être égal, de façon à ce que la solution reste électriquement neutre globalement. Le principe d'électroneutralité stipule ainsi que, à l'intérieur de la cellule :

$$[M^+]_i = [A^-]_i = n[P^{n-}]$$

Parce que chaque A^- requiert seulement un M^+ , tandis que chaque P^{n-} doit avoir $n \times M^+$ pour la balance des charges. La balance des charges doit aussi tenu compte du milieu extracellulaire :

$$[M^+]_o = [A^-]_o$$

En donnant au ratio de Donnan le symbole R_D pour l'équation B4.20, l'équation B4.22 peut être réécrite :

$$R_D [M^+]_o = \frac{[M^+]_o}{R_D} + n[P^{n-}]$$

En multipliant par R_D chaque terme de l'équation et en réarrangeant les termes, on obtient l'équation quadratique suivante :

$$[M^+]_o R_D^2 - n[P^{n-}]R_D - [M^+]_o = 0$$

L'équation a pour solution :

$$R_D = \frac{n[P^{n-}]}{2[M^+]_o} + \sqrt{1 + \left(\frac{n[P^{n-}]}{2[M^+]_o}\right)^2}$$

Une supposition raisonnable est que $[M^+]_o = [A^-]_o = 150$ mM. De plus, on suppose que la cellule contient approximativement 5 mM de macromolécules polyanioniques, chacune portant 50 charges négatives en moyenne. Ainsi, $n = 50$ et $[P^{n-}] = 5$ mM.

Pour ces estimations, la condition de Donnan devient :

$$R_D = \frac{50(5)}{300} + \sqrt{1 + \left(\frac{50(5)}{300}\right)^2} \approx 2.14$$

Ce qui signifie que :

$$R_D = \frac{[M^+]_o}{[M^+]_i} = \frac{[A^-]_i}{[A^-]_o} = 2.14$$

Ce calcul vérifie que la présence de macromolécules chargées négativement à l'intérieur de la cellule provoque un excès de cations perméant à l'intérieur de la cellule par rapport au fluide extracellulaire, ainsi qu'un déficit correspondant d'anions perméants dans la cellule par rapport au fluide extracellulaire, sur base du principe d'électroneutralité. Ce phénomène est un aspect de l'effet Donnan. La seconde conséquence, plus importante, d'avoir des macromolécules chargées imperméantes à l'intérieur de la cellule peut être comprise en examinant la concentration totale de solutés à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. Puisque $[M^+]_o = [A^-]_o = 150$ mM, le ratio de Donnan requiert que :

$$[M^+]_i = 2.14 [M^+]_o = 2.14 (150) = 321 \text{ mM}$$

$$[A^-]_i = [A^-]_o / 2.14 = 150 / 2.14 = 70 \text{ mM}$$

De plus, on a toujours $[P^{n-}] = 5$ mM. Par conséquent, la concentration totale de soluté à l'intérieur de la cellule devient :

$$[\text{Solutés}]_i = [M^+]_i + [A^-]_i + [P^{n-}]_i = 321 + 70 + 5 = 396 \text{ mM}$$

Tandis que la concentration totale en soluté à l'extérieur de la cellule est :

$$[\text{Solutés}]_o = [M^+]_o + [A^-]_o = 150 + 150 = 300 \text{ mM}$$

Il est clair que la concentration en solutés intracellulaire est significativement supérieure à la concentration extracellulaire. On en conclut que, en raison de l'effet Donnan, la présence de macromolécules à multiple charge à l'intérieur de la cellule provoque une augmentation de l'osmolarité intracellulaire. Ce déséquilibre osmotique attire l'eau vers l'intérieur de la cellule, ce qui aboutit à son gonflement et sa rupture éventuelle. Par conséquent, pour survivre, une cellule vivante doit avoir évolué des mécanismes d'adaptation pour contrer ce déséquilibre osmotique. Le principal pour l'osmorégulation est la pompe sodique.

LES CANAUX IONIQUES SONT DES DÉTERMINANTS FONDAMENTAUX DU COMPORTEMENT ÉLECTRIQUE DES MEMBRANES

Ce chapitre et les chapitres qui suivent se concentrent sur les propriétés des membranes cellulaires qui déterminent le comportement électrique global de la cellule. Pour mettre cette matière dans son contexte, considérons un neurone typique, tel que le motoneurone illustré dans la figure 5.1. Le corps cellulaire (soma) contient le noyau, des mitochondries, et le réticulum endoplasmique. C'est à cet endroit que se déroule la majeure partie de la synthèse protéique.

Le neurone est caractérisé par l'existence de deux types de structures cellulaires qui sont des prolongements, à savoir les dendrites et l'axone. Les *dendrites* sont des extensions cytoplasmiques relativement courtes, de faible diamètre, qui se ramifient intensément et reçoivent des signaux d'autres neurones. L'axone est un prolongement long, cylindrique, qui peut atteindre des distances de trois mètres dans certaines espèces (chez l'homme, les plus longs axones mesurent un mètre). L'axone est responsable de la transmission d'influx nerveux à d'autres neurones ou à d'autres cellules excitables (tissu musculaire). L'axone prend naissance au niveau du soma dans une région particulière appelée le **collet axonal** et se termine de manière légèrement arborisée en faisant contact avec plusieurs neurones (dans certains cas, jusqu'à 1000 neurones différents), ou avec plusieurs cellules excitables. Ces jonctions interneuronales sont des endroits également spécialisés que l'on appelle **synapses**. Ces synapses sont en fait des points de contact entre un neurone d'une part et une autre cellule qui peut être un neurone, une cellule glandulaire ou une cellule musculaire.

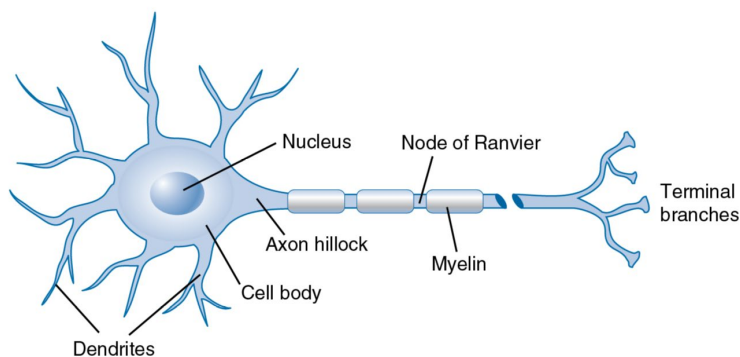


Figure 4 Structure générale d'un neurone myélinisé. Le corps cellulaire ou soma donne naissance à deux types de prolongements : les dendrites et les axones. Les dendrites et le corps cellulaire (soma) forment le « pôle récepteur » du neurone. L'axone prend naissance au collet (hillock) et peut atteindre de longues distances. L'axone transmet l'influx nerveux à une cellule cible. Les branches terminales de l'axone se ramifient et forment des synapses sur leurs cellules cibles (autre neurone, cellule glandulaire ou cellule musculaire).

Les neurones ont plusieurs fonctions sur le plan électrique. Ils sont capables de sommer, c'est-à-dire d'intégrer des stimuli électriques venant d'un grand nombre d'autres neurones. En second lieu ces neurones sont capables de générer un potentiel d'action qui, comme nous le reverrons par la suite, est une dépolarisation membranaire transitoire rapide. Troisièmement, ils sont capables de propager un signal, c'est-à-dire un potentiel d'action, à un autre type cellulaire au niveau de la synapse. Ces trois propriétés particulières des neurones, qui ne sont en fait qu'une extension des propriétés électriques de la plupart des autres types cellulaires, sont dépendantes de l'activité de plusieurs types de **canaux ioniques**. Les canaux ioniques sont des protéines membranaires intégrales capables de former, à l'intérieur de la membrane, des pores hydrophiles autorisant un passage transitoire et spécifique d'ions. Elles constituent donc des canaux de passage perméable envers des ions.

Le rôle premier du corps cellulaire et des dendrites des neurones est d'intégrer dans le temps et dans l'espace l'activité de plusieurs stimuli synaptiques arrivant sur la cellule neuronale. Les caractéristiques de ces processus d'intégration sont déterminées de manière prédominante par les propriétés électriques passives de la membrane. Lorsque le potentiel de membrane atteint une certaine valeur au niveau du collet axonal, un potentiel d'action peut être déclenché à cet endroit. Le potentiel d'action est un comportement cellulaire caractérisé par un changement brutal de la polarité électrique de la membrane cellulaire et est dépendant de la présence de deux types de canaux ioniques présents au niveau de la membrane cellulaire des neurones, les canaux ioniques dépendants du voltage et perméables au sodium ou au potassium. Une fois que le potentiel d'action a été généré, il est propagé le long de l'axone jusqu'à la terminaison nerveuse en gardant son amplitude maximale. La propagation du potentiel d'action est un processus qui inclut à la fois les propriétés électriques passives de la membrane et l'activité dynamique active des canaux ioniques voltage-dépendants et perméables au sodium (Na^+) ou au potassium (K^+). Avant d'envisager en détails les propriétés électriques des membranes, il est bon de dire quelques mots de ces canaux.

PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES (COMMUNES) DES CANAUX IONIQUES

La perméabilité de la bicouche phospholipidique envers les ions (Na^+ , K^+ , Cl^- et Ca^{2+}) est extrêmement réduite, pour ne pas dire inexistante. Rappelons qu'en l'absence de canaux, les coefficients de perméabilité pour ces ions se situent entre 10^{-11} et 10^{-13} cm/sec. A cause de cette perméabilité intrinsèque vis-à-vis des ions quasiment égale à 0, ceux-ci ne peuvent traverser la membrane que par d'autres mécanismes : soit en se liant de manière réversible à un transporteur ou pompe ou par diffusion à travers un pore membranaire hydrophile. Comme nous le verrons par la suite, la vitesse maximale de transport par les transporteurs est de l'ordre de 5000 ions/sec.

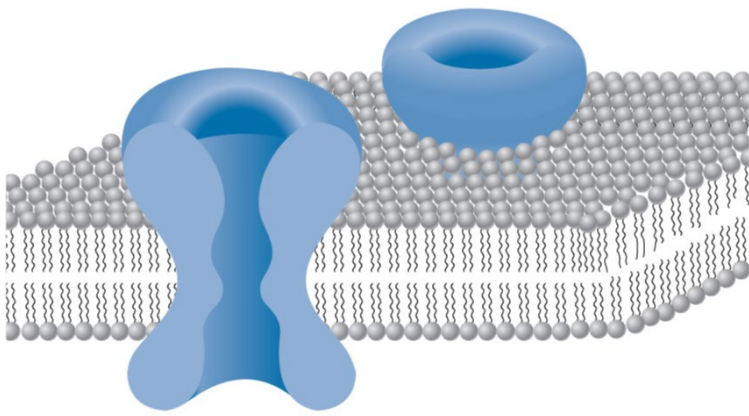


Figure 5 - Schéma d'un canal ionique ouvert et inséré dans la double couche lipidique membranaire. Le canal est une protéine membranaire d'une taille relativement importante, souvent multimérique, qui traverse la membrane et entre en contact avec les deux environnements aqueux extra- et intracellulaire. La perméabilité des canaux vis-à-vis des ions est sélective, c'est-à-dire qu'un canal sodique ne laisse passer que des ions Na^+ .

Ceci est beaucoup trop lent pour générer des changements rapides au niveau du potentiel membranaire. Or, ces changements rapides sont requis pour la signalisation nerveuse, à savoir par la génération de potentiel d'action qui correspondent à une inversion transitoire du potentiel membranaire. L'excitation des neurones et des cellules musculaires requiert des mouvements ioniques extrêmement rapides que seule la vitesse de diffusion des ions à travers les canaux membranaires permet.

CALCUL DE LA VITESSE DES MOUVEMENTS IONIQUES À TRAVERS UN CANAL IONIQUE

L'équation de la diffusion peut être utilisée pour calculer la vitesse d'un mouvement ionique à travers une membrane garnie de canaux ioniques. Rappelons que l'équation est :

$$J = -D \frac{\delta C}{\delta x}$$

Dans cette équation, J est le flux par unité de surface et de temps (en moles/cm²/sec), D est le coefficient de diffusion, δC est la différence de concentration de l'ion de part et d'autre de la membrane et δx est la longueur du canal ionique. Le canal ouvert a globalement la forme d'un cylindre ayant un rayon r_p et une longueur δx (c'est-à-dire l'épaisseur de la membrane). Pour calculer un flux d'ions ayant comme unités des moles/sec, nous devons multiplier les deux termes du flux de l'équation par la section de surface du pore ($\pi \times r_p^2$) :

$$J \text{ (moles/sec)} = -\pi \times r_p^2 \times D \frac{\delta C}{\delta x}$$

Comme nous le reverrons par la suite, un canal est fermé la plupart du temps. Néanmoins, divers mécanismes permettent à ces canaux de s'ouvrir transitoirement et donc de mettre directement en contact le liquide extracellulaire avec le cytoplasme.

Dans ces conditions, lorsque le canal est ouvert, le coefficient de diffusion d'un ion particulier à travers le pore du canal est le même de part et d'autre de la membrane puisque le milieu est identique. Une valeur moyenne d'un coefficient de diffusion d'un ion dans ces conditions est égale à $2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}$. Le rayon moyen du pore d'un canal ionique équivaut à $3 \times 10^{-8} \text{ cm}$. Imaginons que la différence de concentration ionique de part et d'autre de la membrane est égale de 100 mM et que la longueur du canal ionique est de $5 \times 10^{-7} \text{ cm}$. Ces valeurs sont des valeurs moyennes pour la plupart des ions et des canaux ioniques. Si l'on rentre ces valeurs dans l'équation ci-dessous, nous obtenons :

$$J = \pi(3 \times 10^{-8} \text{ cm})^2 \times (2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}) \times \frac{0.1 \text{ mol}/10^3 \text{ cm}^2}{5 \times 10^{-7} \text{ cm}} \\ = 1 \times 10^{-17} \text{ moles/sec}$$

Si l'on multiplie maintenant ce nombre par le nombre d'Avogadro qui est en fait le nombre de molécules contenues dans une mole, on se rend compte dès lors que le flux d'ions à travers un canal ionique est de 6 millions de molécules d'ions/sec, ce qui correspond en fait à un transport ionique mille fois plus important que celui que peut réaliser un transporteur dans le même temps (pour rappel, un transporteur ou une pompe transporte au maximum 5 000 ions à la seconde).

Ceci souligne donc bien la capacité des canaux à permettre à un grand nombre d'ions de diffuser à travers une membrane très rapidement. Or ce transfert rapide d'un grand nombre d'ions d'un côté à l'autre de la membrane est nécessaire à la plupart des propriétés électriques des membranes que nous détaillerons dans les trois prochains chapitres.

LES CANAUX IONIQUES SONT DES PROTÉINES MEMBRANAIRES INTÉGRALES QUI FORMENT DES PORES

Les canaux ioniques sont des protéines souvent multimériques formées de plusieurs sous-unités peptidiques. Ces protéines qui forment les canaux ioniques traversent à plusieurs reprises la double couche phospholipidique et sont au contact de l'environnement aqueux présent de part et d'autre de la membrane. Le canal ionique forme donc un pore hydrophile permettant un passage ionique à travers la membrane par diffusion (diffusion facilitée). Nous venons de réaliser le calcul de la vitesse d'ions transportables à travers un canal en moyenne. En fonction de la différence de concentration d'un ion particulier, des dimensions du pore d'un canal, on se rend compte cependant que les canaux ioniques conduisent selon les cas, entre 1 et 100 millions d'ions/sec.

Une caractéristique principale de canaux ioniques est que leur pore n'est pas ouvert de manière permanente. Les canaux s'ouvrent et se ferment en réponse à de nombreux stimuli (certaines formes particulières de canaux peuvent cependant s'ouvrir spontanément).

Il faut donc comprendre les canaux ioniques comme une sorte de porte qui est fermée la plupart du temps mais qui peut s'ouvrir dans diverses circonstances et qui, lorsqu'elle est ouverte, permet la diffusion passive des ions d'une face membrane à l'autre selon leur force motrice ($J \propto (V_m - E_x)$). Classiquement, on classe les canaux en fonction de la nature des stimuli qui provoquent leur ouverture :

- Les **canaux à fonction passive**, ou **canaux de fuite**, s'ouvrent et se ferment de manière aléatoire et spontanément. Toutes les membranes plasmiques possèdent beaucoup de canaux de fuite potassique, responsables de la haute perméabilité relative de la membrane envers les ions K^+ , comparée aux ions Na^+ où de tels canaux n'existent pratiquement pas.
- Les **canaux ioniques voltage-dépendants** s'ouvrent lors d'un changement du potentiel membranaire. Ils interviennent essentiellement dans la production et la propagation des potentiels d'actions.
- Les **canaux ioniques ligand-dépendants** s'ouvrent ou se ferment en réponse à un stimulus chimique particulier. Une vaste gamme de ligands chimiques – dont les neurotransmetteurs, les hormones et certains ions – peuvent ouvrir ou fermer les canaux sensibles à un ligand. L'acétylcholine, par exemple, est un neurotransmetteur qui provoque l'ouverture de canaux cationiques qui permettent aux ions Na^+ et Ca^{2+} de diffuser vers l'intérieur de la cellule, et aux ions K^+ de diffuser vers l'extérieur. Les canaux sensibles à un ligand fonctionnent de deux façons. D'une part, la molécule du ligand peut elle-même entraîner l'ouverture ou la fermeture du canal en se liant à une partie de la protéine qui forme le canal. D'autre part, le ligand peut agir *indirectement* par l'intermédiaire d'une protéine membranaire appelée protéine G. Celle-ci active une autre molécule dans le cytosol, laquelle se comporte ensuite comme « second messager » qui ouvre ou ferme les vannes du canal. Certaines hormones et neurotransmetteurs fonctionnent ainsi par l'intermédiaire de seconds messagers.
- Des **canaux ioniques mécanosensibles** s'ouvrent ou se ferment en fonction des contraintes mécaniques, déformant la surface du récepteur. Ils sont le plus souvent **étirement-dépendants**.

On retrouve parfois dans la littérature la mention de canaux « tensiodépendants » ; ils peuvent tantôt dire des canaux voltages-dépendants (tension électrique), tantôt des canaux étirement-dépendants (tension mécanique). Afin d'éviter toute confusion, nous utiliserons les termes introduits voltage-dépendant et étirement-dépendant. Les canaux qui sont ouverts de façon permanente, sans présence d'un dispositif de « clapet » (*gate*) permettant de refermer ce canal, ne sont pas considérés comme des canaux à proprement parler ; ils sont qualifiés de *pores*. Ces pores feront l'objet d'une description ultérieure, mais ils n'interviennent pas dans le potentiel membranaire et les flux ioniques.

LES CANAUX IONIQUES ONT UNE SÉLECTIVITÉ IONIQUE

A côté de leur mécanisme d'ouverture, une des plus remarquables propriétés des canaux ioniques est leur capacité à être perméable à un ion spécifique. Ainsi, un canal ionique perméable au potassium, est capable de conduire 10 millions d'ions potassium/sec et en même temps, est 100 à 1000 fois moins perméable au sodium qu'au potassium (en d'autres termes, il ne laissera passer que 10,000 à 100,000 ions sodium/sec). Ceci est d'autant plus remarquable si l'on se souvient que le rayon d'un ion sodium est égal à 0,095 nm tandis que le rayon d'un ion potassium est égal à 0,133 nm et que les deux ions portent tout deux une charge positive. Il existe donc une reconnaissance ionique tout à fait sélective permettant ainsi un passage spécifique d'un ion d'une espèce par rapport à l'autre. Nous reviendrons sur le mécanisme moléculaire expliquant cette spécificité ionique importante.


STRUCTURE GÉNÉRALE DES CANAUX IONIQUES

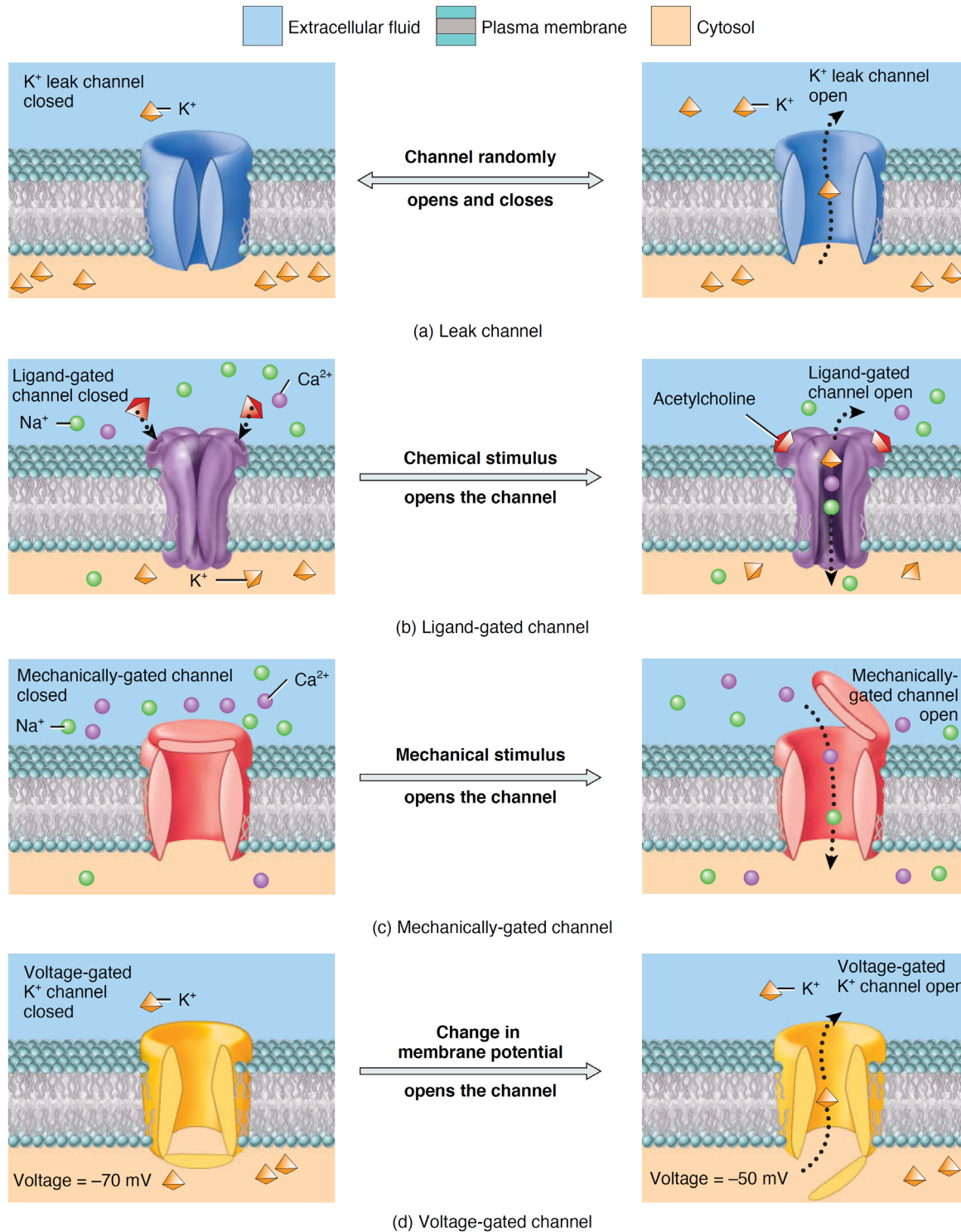
Pour bien comprendre comment un canal ionique fonctionne, il est intéressant de connaître certains aspects de la structure des canaux ioniques. Au début des années septante, on s'est rendu compte que les canaux étaient formés de protéines oligomériques. Sur les 30 dernières années, les techniques de biochimie des protéines et de biologie moléculaire ont permis d'isoler et de caractériser en détails la structure des protéines entrant dans la composition des canaux ioniques. Les premiers canaux à être isolés sont des canaux ligand-dépendants qui ont été purifiés sur base de leur affinité vis-à-vis de ce ligand, par des techniques de chromatographie. Ces canaux isolés étaient alors analysés : on a ainsi découvert que ces canaux étaient de larges protéines glycosylées, souvent constitués de plusieurs sous-unités.


Par exemple, le canal voltage-dépendant perméable au Na^+ a été purifié sur la base de sa capacité à lier une toxine avec une très haute affinité, la **tétrodotoxine** (TTX) isolée à partir d'un poisson, le tétrodon. Ce poisson inocule à ses proies un poisson paralysant, la tétrodotoxine, qui réalise cette paralysie en inhibant les canaux sodiques voltage-dépendants. La principale sous-unité de ce canal, la sous-unité α , a un poids moléculaire de 250 kDa et est formée d'une séquence linéaire d'à peu près 1800 acides aminés. La sous-unité α contient toutes les caractéristiques fonctionnelles des canaux Na^+ , comprenant la région formant le pore du canal, un senseur de voltage, et le site de liaison à la tétrodotoxine.

Le canal Na^+ contient également deux sous-unités β plus petite. Les sous-unités β modulent l'activité du canal sodique, et des mutations concernant les gènes qui codent pour ces sous-unités sont liées à des formes génétiques d'épilepsie, de troubles du rythme cardiaque, et d'autres maladies. Le rôle exact de ces sous-unités n'est pas complètement élucidé.

Figure 12.11 Ion channels in the plasma membrane. (a) Leak channels randomly open and close. (b) A chemical stimulus—here, the neurotransmitter acetylcholine—opens a ligand-gated channel. (c) A mechanical stimulus opens a mechanically-gated channel. (d) A change in membrane potential opens voltage-gated K^+ channels during an action potential.

 The electrical signals produced by neurons and muscle fibers rely on four types of ion channels: leak channels, ligand-gated channels, mechanically-gated channels, and voltage-gated channels.



 What type of gated channel is activated by a touch on the arm?

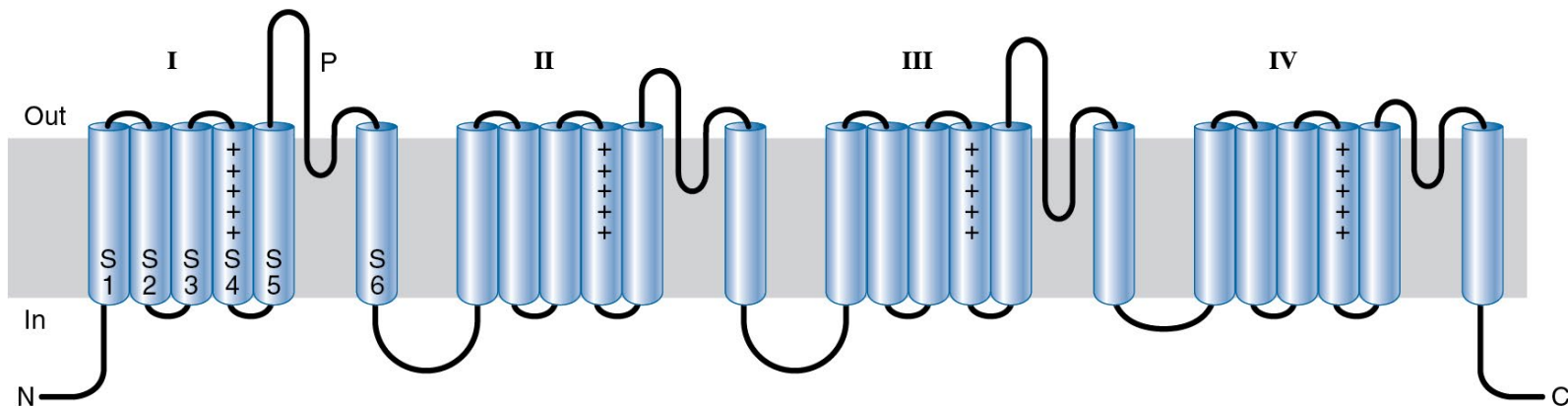


Figure 4.3 - Structure et topologie (organisation de la protéine dans la membrane) de la sous-unité α du canal sodique dépendant du voltage. On remarque la présence de quatre régions homologues (I, II, III et IV). Chacune de ces régions contient six segments transmembranaires (S1 à S6) schématisés par des cylindres et qui correspondent à six hélices α . Les segments S4 de chaque région à la particularité de contenir un AA chargé positivement sur trois. Chaque domaine contient aussi une région P entre les segments S5 et S6. Cette région P se projette à la fois vers l'espace extracellulaire et vers la membrane et cette dernière région forme une partie de la zone d'ouverture du pore vers le compartiment extracellulaire.

En 1984, la sous-unité α du canal sodique dépendant du voltage a été clonée, révélant sa séquence amino-acide. Sur base de cette séquence un modèle de structure secondaire du canal fut développé, confirmé plus tard par des études biochimiques et fonctionnelles. Il existe en fait quatre régions homologues désignées par des chiffres romains I, II, III et IV. Chacune de ces régions contient six hélices α qui correspondent à six segments transmembranaires (S1 à S6). Le segment S4 a la particularité d'être chaque fois chargé positivement dans chacune des quatre régions. Ces charges positives se retrouvent sur un acide aminé sur trois de manière régulière dans chaque segment S4. Nous verrons ultérieurement que c'est à cet endroit que le voltage membranaire est détecté. Une séquence de résidus présents entre les segments S5 et S6 de chacun des domaines se retrouve au niveau de la face extracellulaire de la membrane. Cette région, appelée la **région P** ou **boucle P**, intervient dans le mécanisme d'ouverture du canal vers le compartiment extracellulaire.

Les canaux voltage-dépendants perméables au Ca^{2+} et au K^+ ont une structure relativement similaire à celle des canaux sodiques que nous venons de décrire brièvement : ils sont constitués de quatre répétitions du même motif de base contenant des segments transmembranaires S1 à S6, un segment S4 positivement chargé et une boucle P. Les canaux Ca^{2+} voltage dépendant comprennent les quatre domaines liés en une seule sous-unité α . En revanche, les **canaux K^+ dépendants du voltage** sont constitués de 4 sous-unités peptidiques, chacune étant composée d'un seul domaine fait des 6 segments classiques.

En examinant la structure primaire de tous ces canaux ioniques voltage-dépendant, on se rend donc compte qu'il existe une grande similarité des acides aminés qui fait que, très vraisemblablement, tous les membres de cette famille appartiennent à une superfamille de gènes et ont évolué à partir d'un seul gène commun ancestral.

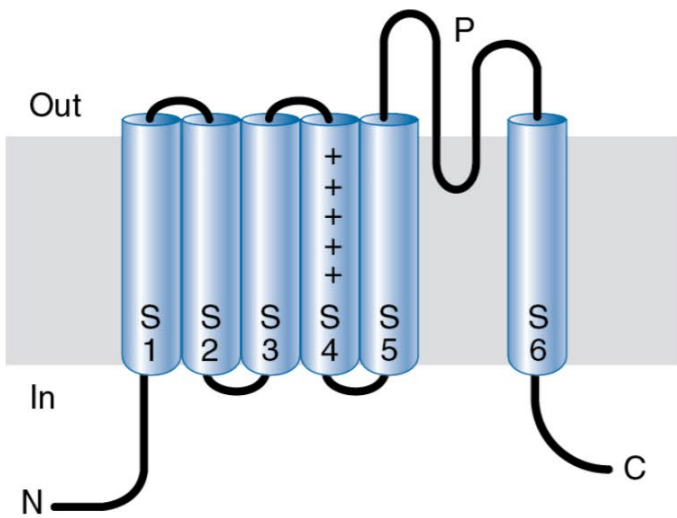
Les **canaux K^+ dépendants du voltage** sont également liés à deux autres familles de canaux ioniques perméables sélectivement au potassium. Les canaux potassiques, en général, possèdent une très large diversité de structures. Par exemple, les sous-unités des **canaux potassiques rectifiants** sont constitués de seulement deux hélices α transmembranaires connectés par une boucle P formant la région d'ouverture du pore. Quatre sous-unités de ce type s'assemblent pour former un seul canal K^+ rectifiant. Au centre du canal, les quatre boucles du pore se rassemblent pour former un tunnel étroit permettant au K^+ de s'écouler à travers la protéine et ainsi traverser la membrane. Le pore du canal est formé par les boucles de pores de chaque sous-unité, ainsi que par les domaines adjacents.

CRISTALLOGRAPHIE AUX RAYONS X DES CANAUX POTASSIQUES

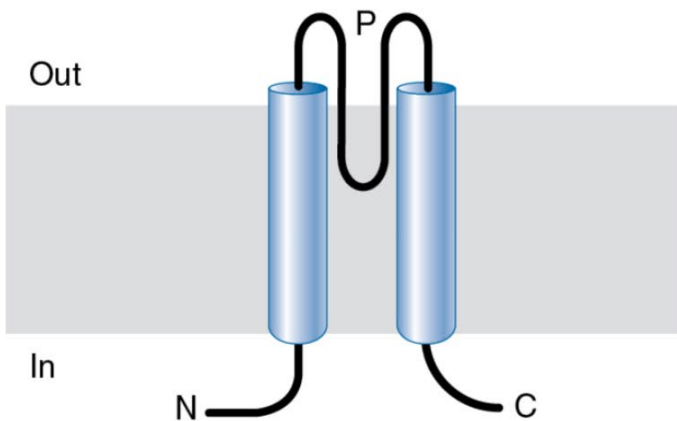
La méthode la plus directe pour déterminer la structure d'une protéine est par l'analyse du motif de diffraction obtenu par **cristallographie aux rayons X** de la protéine. Les protéines qui constituent les canaux ioniques sont difficiles à cristalliser, en partie à cause de la large quantité de protéines requises. MacKinnon et ses collègues ont cristallisé un canal de la famille des canaux potassiques à courant entrant rectifiant, KcsA, à partir de la bactérie *Streptomyces lividans*. Ce canal présente une grande homologie structurale avec les canaux potassiques rencontrés chez les mammifères, ce qui suggère que les canaux bactériens et mammaliens sont issus d'un ancêtre commun. La protéine KcsA fut relativement aisée à cristalliser notamment parce qu'elle n'est pas glycosylée, est relativement petite, et peut être produite en larges quantités par sa surexpression chez *Escherichia coli*.

La structure cristallisée de KcsA fournit un tableau détaillé de la structure du canal ainsi que des indices critiques sur le mécanisme du filtre de sélectivité au K^+ . Le canal KcsA est un tétramère constitué de quatre sous-unités identiques formant un pore aqueux central.

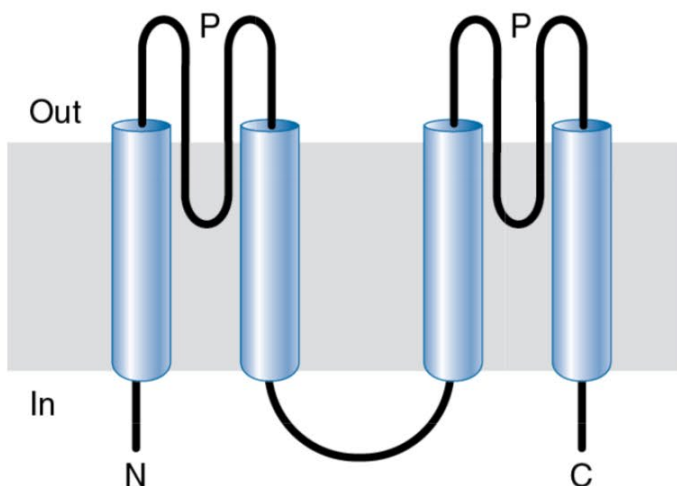
A Voltage-gated K⁺ channel subunit



B Inward-rectifier K⁺ channel subunit



C Two-pore domain K⁺ channel subunit



Chaque sous-unité est caractérisée par deux segments transmembranaires (hélices) reliés par une boucle P extracellulaire : une hélice α interne (S1) qui forme le mur du canal et une hélice α externe (S2) beaucoup plus en contact avec la double couche phospholipidique. Les quatre sous-unités, chacune donc formé de deux segments hélicoïdaux transmembranaires, se rassemblent autour d'un pore pour former un canal rectifiant perméable au potassium en forme de cône (ou de « tipi » inversé »).

La région P de chaque sous-unité connecte les deux hélices du côté de la face extracellulaire et comprend elle-même trois composants : (1) la tourelle, chaîne de résidus aminoacides qui fait le pourtour de la face extracellulaire du canal (2) l'hélice, qui est insérée dans la membrane entre les hélices internes et maintient les quatre sous-unités ensemble et (3) la région du filtre de sélectivité, formé d'une boucle d'acides aminés. Cette région est proche de l'embouchure extracellulaire du canal.

Au centre du canal, les hélices internes sont rassemblées de manière à former un tunnel étroit permettant au K⁺ de s'écouler à travers la protéine et ainsi traverser la membrane. La longueur totale du pore est de 4.5 nm. La structure du pore est bien adaptée à la conduction de K⁺ grâce à son filtre de sélectivité : la partie la plus étroite se trouve près de l'embouchure extérieure du canal et est tellement resserrée par la présence du filtre de sélectivité de la boucle P que seul un ion K⁺ non hydraté peut passer à travers le goulot. Les cations plus grands, comme le Cs⁺, sont trop grands pour traverser cette région du pore, alors que les cations plus petits comme le Na⁺ ne peuvent pas entrer dans le pore parce que les « parois » du pore sont trop éloignées pour stabiliser un ion Na⁺ déshydraté.

Avant d'aller plus loin, il est nécessaire de faire quelques rappels : les ions porteur d'une charge positive telles que le K⁺ et le Na⁺ sont fortement hydratés dans la solution qu'ils occupent (cytosol ou liquide extracellulaire), c'est-à-dire qu'ils sont entourés de plusieurs molécules d'eau qui forment une « couverture externe » par attraction électrostatique avec les atomes d'oxygène des molécules d'eau (forces de van der Waals). Le nombre de molécules d'eau par ion dépend de sa charge, mais aussi son rayon atomique.

Les ions K⁺ pénètrent dans le pore du canal sous une forme hydratée et traversent d'abord un tunnel de 1.8 nm de long (le pore interne), avant d'atteindre une large cavité de 1 nm de diamètre située au centre du canal. A ce niveau, les résidus hydrophobes du canal qui tapissent cette cavité ainsi que l'attraction électrostatique générée par les quatre hélices du pore pointant directement vers le centre de la cavité stabilise les ions K⁺ dans leur forme hydratée, leur permettant de surpasser la barrière énergétique imposée par le centre de la bicouche lipidique.

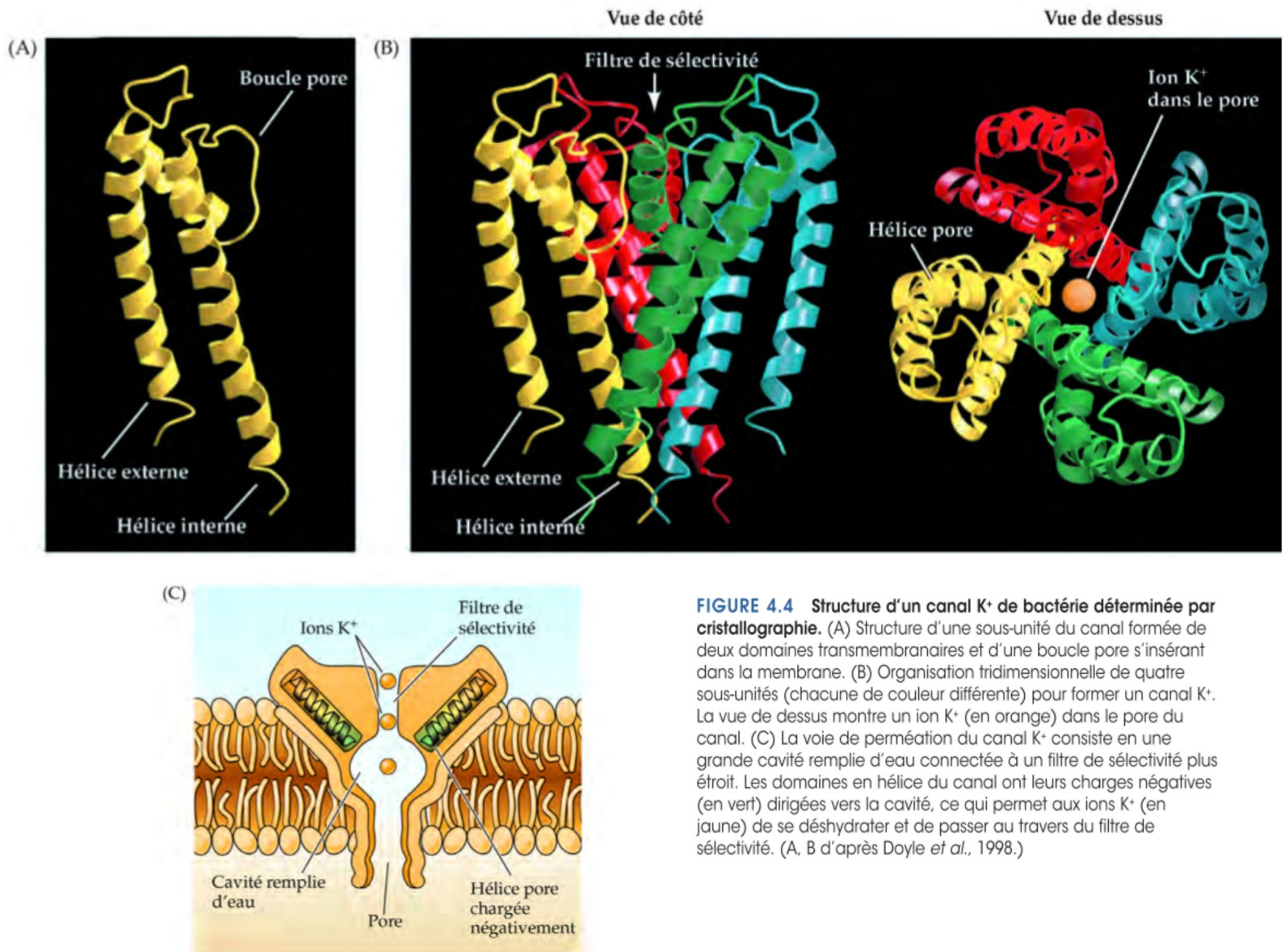


FIGURE 4.4 Structure d'un canal K^+ de bactérie déterminée par cristallographie. (A) Structure d'une sous-unité du canal formée de deux domaines transmembranaires et d'une boucle pore s'insérant dans la membrane. (B) Organisation tridimensionnelle de quatre sous-unités (chacune de couleur différente) pour former un canal K^+ . La vue de dessus montre un ion K^+ (en orange) dans le pore du canal. (C) La voie de perméation du canal K^+ consiste en une grande cavité remplie d'eau connectée à un filtre de sélectivité plus étroit. Les domaines en hélice du canal ont leurs charges négatives (en vert) dirigées vers la cavité, ce qui permet aux ions K^+ (en jaune) de se déshydrater et de passer au travers du filtre de sélectivité. (A, B d'après Doyle *et al.*, 1998.)

Avant de rejoindre le milieu extracellulaire, les ions K^+ passent par le filtre de sélectivité, canal étroit de 0.35 nm de large, constitué d'un arrangement rigide de cinq groupes carbonyles très polaires formés par les résidus Thréonine-Valine-Glycine-Tyrosine-Glycine. Le passage au travers de ce filtre n'est possible que pour l'ion K^+ partiellement déshydraté. La stabilisation de l'ion K^+ sous forme déshydratée est réalisée par les oxygènes des résidus carbonyles qui, en quelque sorte miment les oxygènes des molécules d'eau et se substituent exactement aux molécules d'eau normalement autour de l'ion positif : elles stabilisent donc exactement l'ion K^+ déshydraté pour rétablir des conditions comme s'il était hydraté. En d'autres termes, l'énergie d'interaction de l'ion avec ces groupes carboxyles et carbonyles portés sur les résidus du filtre de sélectivité de la boucle P est exactement égale à l'énergie d'interaction de cet ion avec des molécules d'eau. Cette structure est suffisamment rigide pour que les ions plus petits, tels que le sodium, ne puissent pas être stabilisés sous une forme déshydratée, leur forme hydratée étant trop volumineuse pour traverser le filtre.

La sélectivité ici est remarquable en ce sens que la compensation d'énergie entre les groupes carboxyles et carbonyles du filtre compense exactement l'énergie d'interaction de l'hydratation du K^+ mais ne compense pas l'énergie d'hydratation du Na^+ (en plus d'être un peu trop large pour accueillir le Na^+ déshydraté sous une forme stable). Deux ions K^+ déshydraté occupent en même temps le filtre de sélectivité, la répulsion électrostatique entraîne leur localisation aux extrémités opposées du filtre. Lorsqu'un troisième ion K^+ arrive à la base du filtre, il provoque l'expulsion dans le milieu extracellulaire de l'ion situé au sommet du filtre par répulsion électrostatique. Les ions K^+ sont donc d'abord collectés dans la cavité du pore sous la forme hydratée, puis expulsés un à un de manière sélective sous l'effet de la répulsion électrostatique que les ions déshydratés exercent l'un sur l'autre. Cette répulsion électrostatique rend la vitesse de transit à travers le pore en réalité très rapide. La perméabilité de ces canaux rectifiant envers le K^+ exclusivement peut donc être comprise en termes structurels. Nous savons maintenant que des principes très similaires s'appliquent également à d'autres types de canaux.

LE DETECTEUR DE VOLTAGE DANS LES CANAUX VOLTAGE-DÉPENDANTS

Ainsi que nous l'avons mentionné précédemment, les canaux voltage-dépendants ont une structure typique composée de plusieurs domaines, chaque domaine comportant six segments nommés S1 à S6. On a pu déterminer récemment par cristallographie d'un canal potassique activé par le voltage appartenant à un mammifère. Ces travaux ont fourni un certain nombre d'éclaircissements sur la façon dont le potentiel membranaire contrôle les canaux ioniques sensibles au voltage. A l'instar du canal K^+ rectifiant KcsA (canal de fuite potassique) que nous venons de décrire, les canaux voltage-dépendants possèdent un filtre de sélectivité porté sur la boucle P. Ces canaux voltage-dépendants possèdent cependant des structures complémentaires du côté cytoplasmique de la protéine, notamment un détecteur du potentiel membranaire qui régit son ouverture.

Les domaines de chaque sous-unité fonctionnent de façon indépendante et possèdent des acides aminés chargés positivement grâce auxquels ils réagissent aux changements du potentiel de membrane. Il semblerait que la fonction de détection du voltage soit principalement portée sur le segment S4 de chaque domaine. Les segments S4 de chaque domaine, qui forment ensemble *domaine de détection du voltage (VSD, voltage-sensing domains)*, sont arrangés de façon symétrique autour du pore central.

Ils sont mis en mouvement par une dépolarisation de la membrane ; la dépolarisation pousse le segment S4 l'extérieur, alors que l'hyperpolarisation le tire vers l'intérieur. Ces mouvements des détecteurs de voltage exercent alors une force sur une structure en hélice reliant le détecteur au pore du canal : en tirant cette attache, elle ouvre le pore, en poussant elle le ferme. On peut donc maintenant expliquer en termes de structure comment le voltage contrôle les canaux ioniques. On n'a toutefois pas déterminé précisément les mouvements du détecteur de voltage lors de la dépolarisation de la membrane.

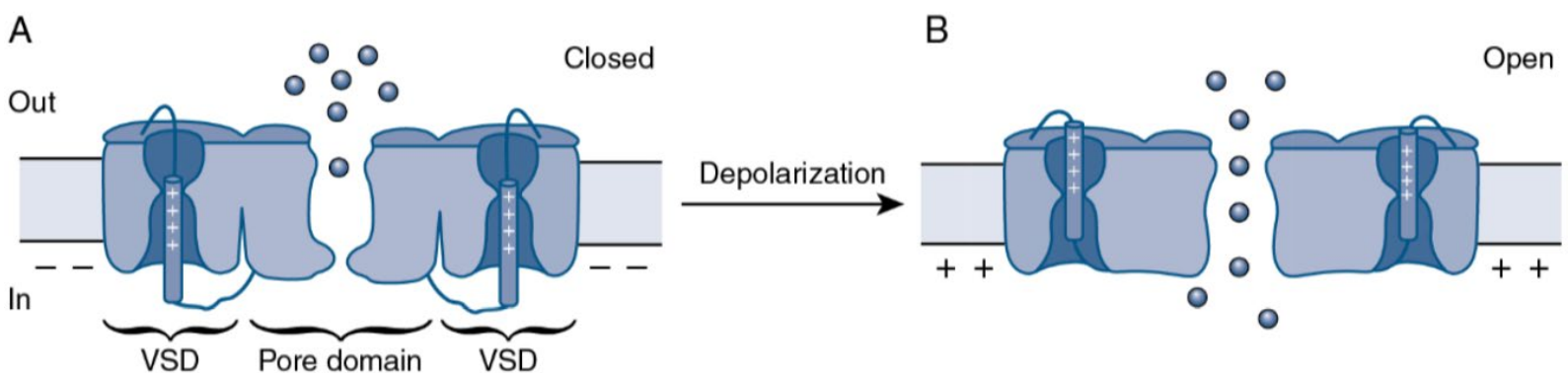


Figure 6 – représentation schématique d'un canal ionique sensible au voltage montrant le pore central et deux des quatre domaines de détection du voltage (VSD). Le cylindre représentant S4 est relié aux autres segments du domaine auquel il appartient par une chaîne polypeptidique. (A) En état de repos ou en hyperpolarisant, devant un V_m négatif, le segment S4 est attiré vers l'intérieur de la membrane, ce qui bloque le canal à l'état de fermeture. (B) Lors d'une dépolarisation, le segment S4 est déplacé vers l'extérieur. Ce mouvement est couplé à l'ouverture du canal.

LES CANAUX IONIQUES PEUVENT EXISTER SOUS PLUSIEURS ETATS FONCTIONNELS

Jusqu'ici, nous avons vu que les canaux étaient caractérisés par un état d'ouverture et de fermeture. Nous n'avons pas investigué le cas du canal de fuite : c'est un canal qui reste ouvert la plupart du temps, mais ce canal peut s'ouvrir ou se fermer de façon irrégulière et imprévisible. Ses mécanismes d'ouverture et de fermeture représentent peu d'intérêt pour l'étude généralisée des canaux, dont l'état fonctionnel d'ouverture et de fermeture est beaucoup plus organisé et répond à des stimuli.

Comme nous l'avons mentionné, les canaux sont catégorisés en fonction du type de stimuli qui provoquent un changement d'état (ouverture ou fermeture). Ceux qui répondent au voltage membranaire sont donc des canaux voltage-dépendants, ceux qui répondent à des substances chimiques sont dits ligand-dépendants et ceux qui répondent à des contraintes physiques sont dits mécanosensibles.

La plupart des canaux existent donc au minimum sous deux états fonctionnels :

- **L'état ouvert, activé** : le pore est ouvert et les ions sont capables de passer d'un côté à l'autre de la membrane.
 - Dans le cas des canaux voltage dépendant, un changement de voltage provoque un déplacement d'un segment (S4) dont le mouvement est couplé à l'ouverture du pore.
 - Dans le cas des canaux ligand-dépendant, la liaison (ligation) d'un messenger au récepteur d'un côté ou l'autre de la membrane provoque un changement de conformation aboutissant à l'ouverture du canal.
 - Dans le cas des canaux mécanosensibles, la déformation du canal par une force physique, le plus souvent un étirement ou de la chaleur, provoque l'ouverture du canal.

- **L'état fermé** : le pore est fermé et empêche les ions de traverser les membranes. Le canal est en l'attente d'une activation (stimulus) pour pouvoir s'ouvrir. Des stimuli peuvent, au contraire d'activer le canal, le maintenir dans un état fermé : il s'agira alors de stimuli inhibiteurs, par opposition aux stimuli excitateurs. La notion « d'inhibiteur » et « excitateur » est toutefois réservée pour la tendance d'un stimulus à provoquer ou au contraire d'empêcher la propagation de potentiel d'action.

En plus des deux états ouvert/fermé, certains canaux possèdent un troisième état fonctionnel : c'est **l'état d'inactivation**. L'état d'inactivation correspond à un état bref qui suit l'activation (ouverture du canal) et où le pore du canal est fermé mais ne peut réouvrir jusqu'à ce qu'il soit à nouveau à l'état fermé. L'état d'inactivation survient de façon spontanée après un laps de temps variable suivant l'activation du canal, et revient automatiquement vers un état fermé où le canal redevient activable. C'est donc une période où le canal n'est pas stimuable (période réfractaire absolue).

DIVERSITÉ DES CANAUX IONIQUES (VUE D'ENSEMBLE)

Les travaux de génétique moléculaire ont considérablement accru nos connaissances sur les canaux ioniques. Plus de 200 gènes de canaux ioniques ont été découverts, chiffre que n'auraient pas laissé prévoir les premiers travaux sur les fonctions des canaux ioniques. Pour tenter de comprendre la signification fonctionnelle de cette multitude de gènes, on les a fait exprimer sélectivement des canaux dans des préparations expérimentales bien définies, comme des cellules en culture ou des ovocytes de batracien, et ces canaux ont été ensuite étudiés par patch-clamp et d'autres techniques physiologiques.

On peut également supprimer les gènes des canaux chez des organismes qui se prêtent aux recherches de génétique, tels que la souris ou la drosophile, pour déterminer le rôle qu'ils jouent chez l'organisme intact. Ces travaux ont amené la découverte de nombreux canaux activés par le voltage et répondant au potentiel de membrane de la même façon que les canaux Na^+ et K^+ impliqués dans le potentiel d'action, ainsi que la découverte d'autres canaux (mécanosensibles et ligand-dépendants).

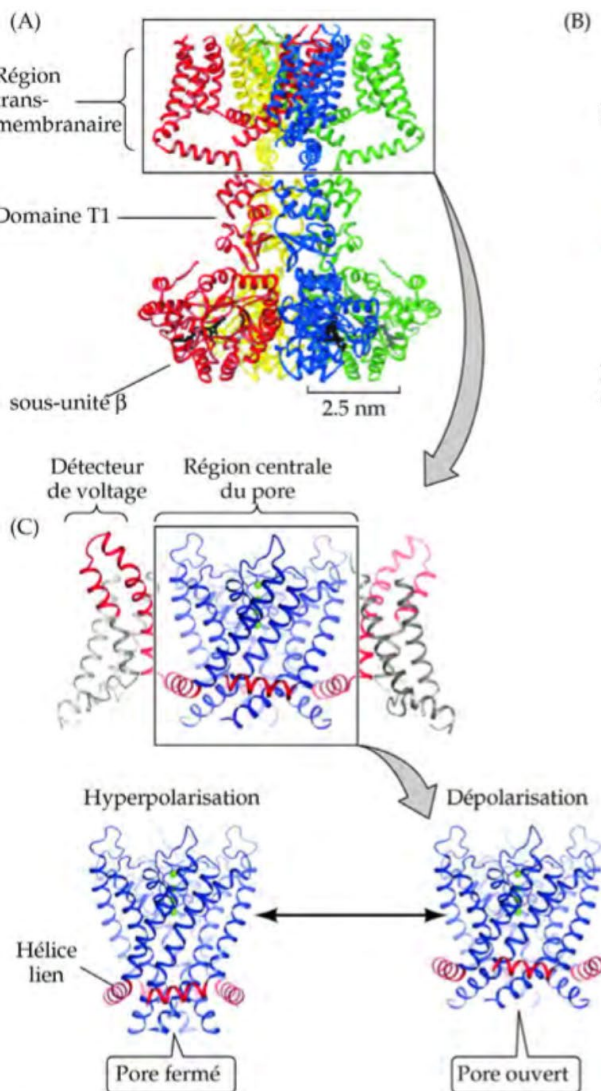


FIGURE 4.5 Structure d'un canal K^+ activé par le voltage chez un mammifère. (A) Le canal comprend quatre sous-unités (différentes couleurs) dont chacune possède un domaine transmembranaire et un domaine T1. Une sous-unité β est attachée à chaque domaine T1. (B) Une vue de dessous montre que le domaine transmembranaire comporte des domaines distincts pour la détection du voltage et pour former le pore par où transite le K^+ (symbolisé par une boule noire au milieu du pore). (C) Modèle d'activation par le voltage d'un canal K^+ . Haut : Structure du domaine du pore central du canal en état ouvert. Bas : la dépolarisation pousse le domaine détecteur de voltage vers la surface extracellulaire de la membrane, tirant l'hélice (rouge) qui fait le lien entre le détecteur et le pore (bleu) et dès lors ouvrant le canal. Inversement, l'hyperpolarisation tire le senseur de voltage vers le bas et ferme le canal. (D) Modèles du mouvement du détecteur de voltage. Le domaine constituant le détecteur de voltage est en forme de pagaie; une dépolarisation le fait se mouvoir vers la face extracellulaire de la membrane et une hyperpolarisation vers la face intracellulaire (A, B d'après Long *et al.*, 2005; C d'après Tao *et al.*, 2010; D d'après Lee, 2006).

Ainsi, bien que les signaux électriques fondamentaux du système nerveux soient relativement stéréotypés, les protéines qui en contrôlent la production présentent une diversité importante conférant aux multiples types de neurones qui peuplent le système nerveux des propriétés spécifiques de signalisation.

LES CANAUX IONIQUES VOLTAGE-DÉPENDANTS

A l'heure actuelle, on a découvert des canaux ioniques dépendant du voltage qui présentent une perméabilité spécifique aux quatre principaux ions physiologiques, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- . On a même découvert un grand nombre de gènes différents pour chaque type de canal ionique activé par le voltage. On a, par exemple, identifié chez l'homme 10 gènes du canal sodique. Il s'agit là d'un résultat inattendu, car les canaux Na^+ de nombreux types cellulaires distincts ont des propriétés fonctionnelles semblables pouvant laisser penser qu'ils dérivent tous d'un seul et unique gène. Il est toutefois clair aujourd'hui que tous ces gènes du canal Na^+ (appelés gènes SCN) ont pour produit des protéines qui diffèrent quant à leur structure, leur fonction et leur expression dans des tissus spécifiques. On a, par exemple, identifié dans les axones de mammifères, à côté des canaux sodiques à inactivation rapide découverts par Hodgkin et Huxley dans l'axone de calmar, un canal sodique sensible au voltage qui ne s'inactive pas complètement. Comme on peut le prévoir, ce canal donne naissance à des potentiels d'action de longue durée et est la cible d'anesthésiques locaux tels que la procaine ou la lidocaïne.

Les canaux Na^+ sont constitués de 4 motifs de six domaines transmembranaires semblables à ceux des canaux K^+ voltage-dépendants montrés à la figure 4.5, ce qui donne un total de 24 régions transmembranaires. Ainsi, une protéine de canal Na^+ forme une structure très similaire à celle produite par quatre sous-unités du canal K^+ . Quatre de ces domaines transmembranaires servent de détecteurs de voltage qui permettant l'activation de canaux Na^+ en fonction du potentiel de membrane. Au centre des canaux Na^+ se trouve un pore qui relie les côtés extracellulaire et intracellulaire de la membrane. Le filtre de sélectivité du pore de canal Na^+ , comme celui des canaux K^+ illustrés aux figures 4.4 et 4.5, est formé de quatre boucles de pores. Cependant, le filtre de sélectivité est plus étroit pour permettre au Na^+ , et non au K^+ qui possède un diamètre plus important que le Na^+ , de s'écouler à travers le pore du canal sodique et de pénétrer à travers la membrane. Les protéines accessoires, appelées sous-unités, contrôlent la fonction des canaux Na^+ .

D'autres réponses électriques dans les neurones reposent sur des canaux Ca^{2+} voltage-dépendants. La structure des canaux Ca^{2+} voltage-dépendants. La structure des canaux Ca^{2+} est similaire à celle des canaux Na^+ , composés de six domaines transmembranaires qui sont répétés quatre fois et qui possèdent quatre domaines chargés positivement qui constituent des senseurs de voltage permettant une activation du canal en fonction du potentiel de membrane.

Les canaux Ca^{2+} contiennent également des boucles de pores ; celles-ci produisent un pore qui est sélectivement perméable à Ca^{2+} mais dont la structure est similaire à celle des canaux Na^+ et K^+ . Dans certains neurones, les canaux Ca^{2+} voltage-dépendants donnent lieu à des potentiels d'action à peu près de la même façon que les canaux Na^+ voltage-dépendants. Dans d'autres neurones, les canaux Ca^{2+} prolongent la durée des potentiels d'action dont les phases ascendantes sont générées par des courants traversant les canaux Na^+ , produisant une « phase plateau ».

Plus généralement, en affectant les concentrations intracellulaires de Ca^{2+} , l'activation des canaux Ca^{2+} contrôle une vaste gamme de processus de signalisation biochimique au sein des cellules. Le processus cérébral le plus important contrôlé par les canaux Ca^{2+} sensibles au voltage est peut-être la libération de neurotransmetteurs des synapses. Afin d'assurer la médiation de ces fonctions diverses et cruciales, dix gènes de canaux Ca^{2+} différents (gènes CACNA) ont été identifiés. Les différents types de canaux Ca^{2+} varient dans leurs propriétés d'activation et d'inactivation, ce qui permet des variations subtiles dans les processus de signalisation électrique et chimique médiés par le Ca^{2+} . Les médicaments qui bloquent les canaux Ca^{2+} voltage-dépendants sont utiles pour traiter une série de pathologies qui vont de la maladie cardiaque aux troubles anxieux.

Les canaux K^+ sont de loin la classe la plus importante et la plus diversifiée de canaux ioniques voltage-dépendants. Près de 100 gènes du canal K^+ (gènes KCN) sont connus et se répartissent en plusieurs groupes distincts qui diffèrent considérablement dans leurs propriétés d'activation et d'inactivation. Certaines prennent quelques minutes pour s'inactiver, comme c'est le cas pour les canaux K^+ des axones de calmar. D'autres s'inactivent en quelques millisecondes, ce qui rappelle la plupart des canaux Na^+ , et d'autres encore, plus rapidement. Ces propriétés influencent la durée et la fréquence de décharge des potentiels d'action, avec des conséquences importantes pour la conduction axonale, la transmission synaptique et le traitement de l'information. Certaines canaux K^+ voltage-dépendants présentent généralement les caractéristiques structurales décrites ci-dessus : quatre sous-unités – chacune avec six domaines transmembranaires, une boucle de pore et un senseur de voltage – qui s'assemblent pour former un canal ionique fonctionnel unique.

Deux autres types de canaux K^+ sont responsables du potentiel de repos des neurones : les canaux à rectification entrante qui répondent à l'hyperpolarisation de la membrane et les canaux K^+ 2-P. Ces canaux K^+ au repos s'écartent structurellement des autres canaux de plusieurs façons. Aucun d'entre eux ne possède de senseur de voltage. De plus, les canaux K^+ à rectification entrante n'ont que deux domaines transmembranaires et une seule boucle de pore tandis que les canaux 2-P ont quatre domaines transmembranaires et deux boucles de pore (2P).

LES CANAUX IONIQUES LIGANDS-DÉPENDANTS

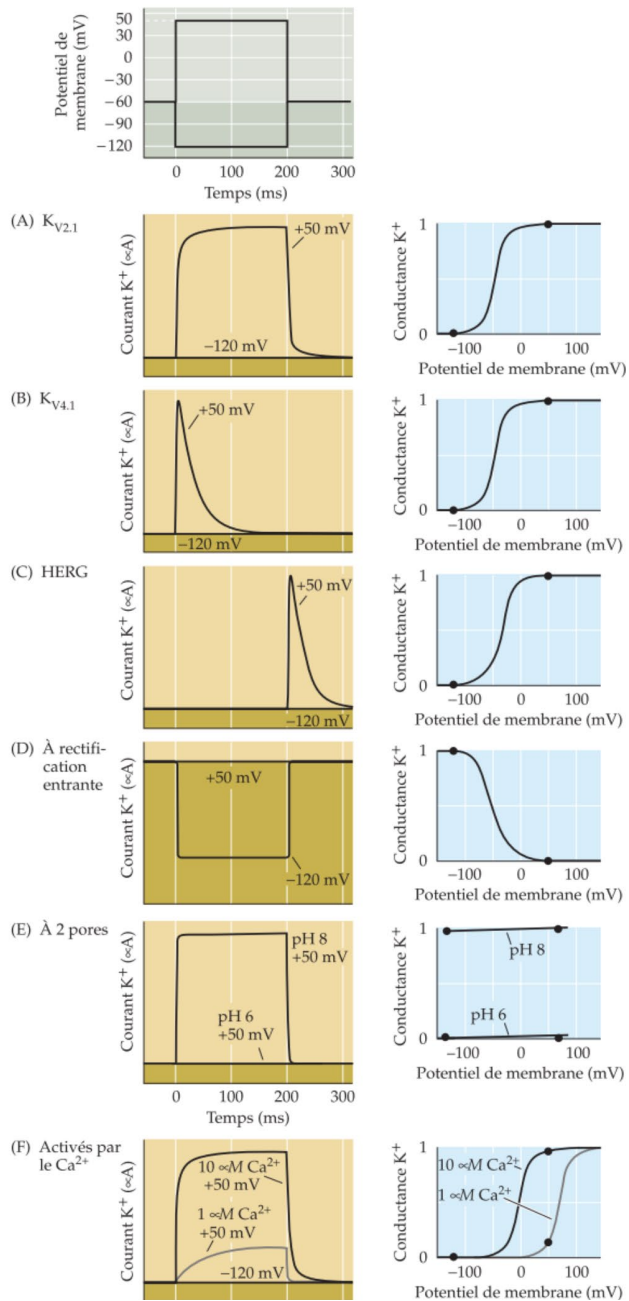


Figure 7 Propriétés diverses des canaux K^+ . Différents types de canaux potassiques ont été exprimés dans des cellules expérimentales et l'on a utilisé la méthode du voltage imposé pour modifier le potentiel de membrane et mesurer les courants résultants passant par chaque type de canal. Ces canaux K^+ ont des propriétés d'activation qui varient de façon importante, comme le montrent leurs courants (à gauche) et leurs conductances (à droite). (A) les canaux $K_{V2.1}$ ne présentent guère d'inactivation et sont étroitement apparentés aux canaux K^+ à rectification retardée, qui interviennent dans la repolarisation du potentiel d'action. (B) les canaux $K_{V4.1}$ s'inactivent durant une dépolarisation et participent au contrôle de l'intervalle entre les potentiels d'action lors de décharges répétées. (C) Les canaux HERG ($KCNH2$) s'inactivent si vite qu'il n'y a de courant qu'au moment où l'inactivation cesse brusquement à la fin de la dépolarisation. (D) les canaux potassiques à rectification entrante laissent passer davantage de courant quand la membrane est hyperpolarisée que lorsqu'elle est dépolarisée. (E) les canaux K^+ à deux pores répondent habituellement à des signaux chimiques tels que le pH plutôt qu'à des variations du potentiel de membrane. (F) Les canaux K^+ activés par le Ca^{2+} s'ouvrent en réponse à des ions Ca^{2+} intracellulaires et, dans certains cas, en réponse à une dépolarisation membranaire.

Beaucoup de types de canaux ioniques répondent à des signaux chimiques (ligands) plutôt qu'à des changements du potentiel de membrane. Dans le système nerveux, les plus importants de ces canaux ioniques ligands-dépendants sont ceux qui sont activés par la liaison de neurotransmetteurs. Ces canaux sont essentiels pour la transmission synaptique et pour d'autres formes de signalisation de cellule à cellule. Alors que les canaux ioniques voltage-dépendants qui interviennent dans le potentiel d'action ne laissent typiquement transiter qu'un seul type d'ion, les canaux activés par des ligands extracellulaires sont d'ordinaire moins sélectifs, permettant souvent le flux de plusieurs types d'ions.

Par exemple, les récepteurs de neurotransmetteurs impliqués dans la transmission synaptique excitatrice sont généralement perméables à la fois au Na^+ et au K^+ , ainsi qu'aux autres cations. Les structures et les mécanismes d'activation des récepteurs de neurotransmetteurs seront examinés dans le chapitre consacré à l'étude des neurotransmetteurs et des récepteurs qui leurs sont associés.

Une autre classe importante de canaux activés par des signaux chimiques extracellulaires est celle des canaux ioniques détecteurs d'acide (canaux ASIC pour *Acid-Sensing Ion Channel*). Ces canaux Na^+ sont activés par les protons externes plutôt que par le potentiel de membrane, et sont importants pour un large éventail de fonctions, y compris le goût et la sensation de douleur.

D'autres canaux activés par des ligands sont sensibles à des signaux chimiques émanant du cytoplasme du neurone ; ils peuvent présenter une sélectivité à l'égard d'ions particuliers comme le K^+ ou le Cl^- ou être perméables à tous les cations physiologiques. Ces canaux ont, sur leur face intracellulaire, des domaines de liaison du ligand qui entrent en interaction avec des seconds messagers tels que le Ca^{2+} , les nucléotides cylindriques AMPc et GMPc ou les protons. Parmi les canaux répondant à des signaux intracellulaires, on trouve des canaux K^+ activés par le Ca^{2+} , les canaux cationiques activés par un nucléotide cyclique. La principale fonction de ces canaux est de convertir des signaux chimiques intracellulaires en signaux électriques. Il s'agit là d'un processus particulier important dans la transduction sensorielle, où des canaux activés par des nucléotides cycliques convertissent des odeurs ou des stimuli lumineux en signaux électriques.

Un certain nombre de canaux ioniques à activation intracellulaire sont situés à la surface de la membrane cellulaire ; d'autres sont dans les membranes d'organites intracellulaires telles que les mitochondries ou le réticulum endoplasmique. Certains canaux de cette dernière catégorie sont sélectivement perméables au Ca^{2+} et régulent la libération de Ca^{2+} dans le cytoplasme à partir de la lumière du réticulum endoplasmique. Le calcium ainsi libéré peut alors déclencher une large gamme de réponses cellulaires.

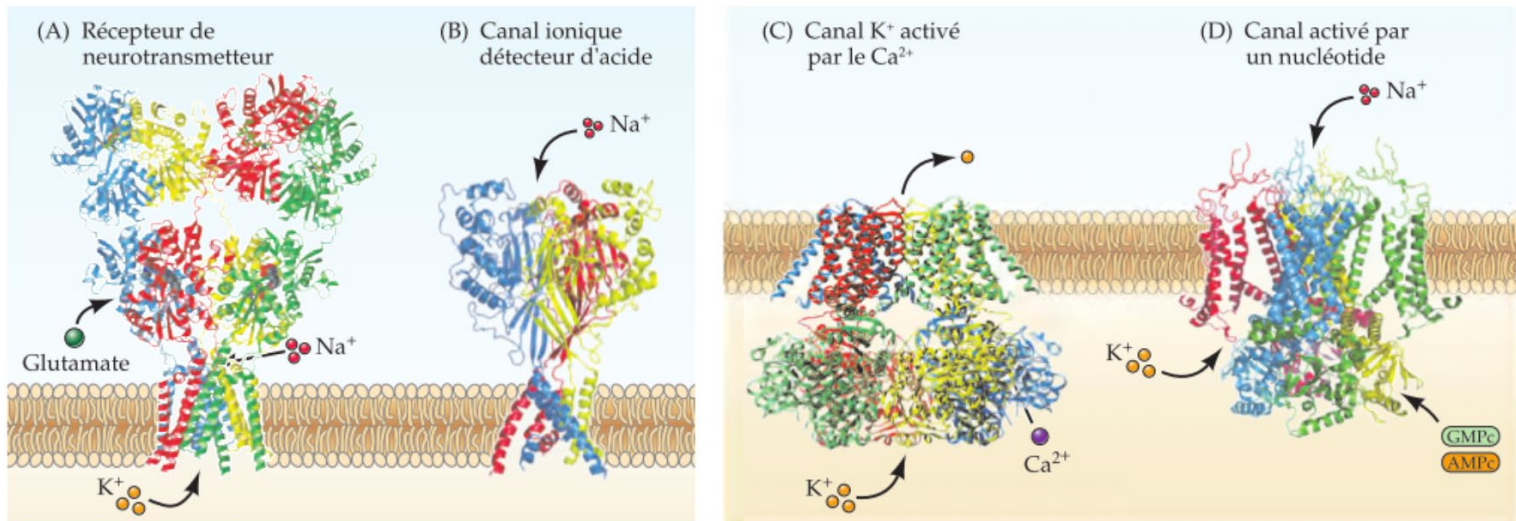


FIGURE 4.8 Canaux ioniques activés par un ligand. Certains canaux ioniques sont activés par la présence extracellulaire de neurotransmetteurs, comme le glutamate (A), tandis que d'autres sont activés par les protons extracellulaires (B). D'autres canaux

sont activés par des seconds messagers intracellulaires, tels que Ca^{2+} (C) ou les nucléotides cycliques AMPc et GMPc (D). (A d'après Sobolevsky *et al.*, 2009; B d'après Gonzalez *et al.*, 2009; C d'après Hite *et al.*, 2017; D d'après Li *et al.*, 2017.)

LES CANAUX IONIQUES MÉCANOSENSIBLES

D'autres canaux ioniques réagissent à d'autres formes de stimuli, comme la chaleur. Certains de ces canaux ioniques thermosensibles appartiennent à la famille des canaux ioniques TRP (*Transient Receptor Potential*) et interviennent dans les sensibilités nociceptive et thermique. Ces canaux cationiques s'ouvrent en réponse à des plages de températures spécifiques, certains étant activés par le froid plutôt que par la chaleur. Dans certains cas, l'activation du canal est médiée par un mécanisme unique basé sur un déplacement des lipides membranaires en fonction de la température. De nombreux canaux TRP thermosensibles sont également activés par des ligands et sont utilisés pour détecter les signaux chimiques. Par exemple, le même canal TRP (appelé TRPV1) qui répond à des températures supérieures à 40° C est également sensible à la capsaïcine (l'ingrédient qui rend les piments chili épicés) ; ce canal transforme donc deux types différents de stimuli physiques en sensation de « chaud ». Les canaux TRP thermosensibles participent à de nombreuses autres fonctions, dont la sensation de douleur et l'inflammation.

D'autres canaux ioniques, y compris certains canaux TRP et les canaux Piézo, réagissent à la distorsion mécanique de la membrane du plasma. Ces canaux mécanosensibles sont les composantes essentielles des récepteurs d'étirement et des réflexes d'étirement neuromusculaires. Une forme spécialisée de ces canaux est à la base de l'audition en permettant aux cellules ciliées auditives de répondre aux ondes sonores. La structure trimère des canaux piézoélectriques est quelque peu inhabituelle par rapport à celle de la plupart des autres canaux ioniques. Bien qu'ils possèdent toujours un pore central, les canaux Piezo ont des structures de lames extracellulaires qui servent apparemment de leviers pour ouvrir le pore du canal en réponse à des stimuli mécaniques.

En résumé, la fantastique diversité des canaux ioniques donne aux neurones la possibilité de répondre par des signaux électriques à une multitude de stimuli, notamment les changements du potentiel de membrane, les entrées synaptiques, les seconds messagers intracellulaires, les odeurs, la lumière, la chaleur, le son, le contact, la pression, le pH et beaucoup d'autres stimuli.

CANAUX POTASSIQUES ET POTENTIEL MEMBRANAIRE DE REPOS

Comme nous l'avons vu en étudiant le potentiel membranaire de repos, la membrane possède à l'état basal une perméabilité beaucoup plus haute envers les ions K^+ qu'envers les autres cations monovalents. Cette perméabilité, qui s'exprime par une perméabilité au passage de ces ions à travers la membrane, est due à la présence de canaux ioniques perméables au potassium, ouverts à l'état de repos : ils constituent des « canaux de fuite ». De tels canaux n'existent pratiquement pas pour le sodium, ce qui explique que le potentiel membranaire est relativement proche du potentiel électrochimique du potassium.

Les canaux de fuite sont exprimés dans virtuellement toutes les cellules du corps, aussi bien les cellules non-excitables que les cellules excitables. Ils sont responsables à eux seuls de près de 90% du potentiel membranaire de repos.