

Physiologie

FICHE
COMPLETE
MAJ**POTENTIEL ELECTRIQUE ET
COURANTS OSMOTIQUES****PLAN DU COURS**I. Potentiel électriqueII. Canaux ioniquesIII. Co-transporteurs, échangeurs et pompesIV. Potentiel de reposVI. Flux osmolaire à travers les épithéliums (absorption et sécrétion)

A) Epithélium → « membrane » séparant milieu intérieur et extérieur

B) Mesure des flux trans-épithéliaux

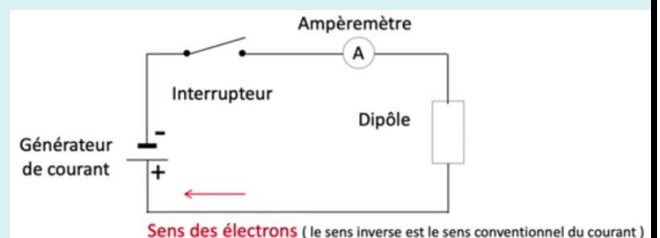
C) Fonctionnement des épithéliums

I. Potentiel électrique**A) Courants électriques et courants osmotiques :****Courant électrique**

Le courant électrique passe à travers des conducteurs. Ce sont les électrons qui sont mobilisés dans les conducteurs.

- Un **générateur** de courant délivre un potentiel électrique.
- Un **dipôle** correspond à n'importe quel appareil électrique (Ex. ampoule)
- Un **ampèremètre** enregistre l'intensité du courant.

En physiologie, les ampèremètres doivent détecter des courants infiniment petits. Dans ce cas, on les appelle alors des **galvanomètres** (du nom de Galvani qui a mis en évidence l'électricité animale en premier) qui sont des ampèremètres ultrasensibles.

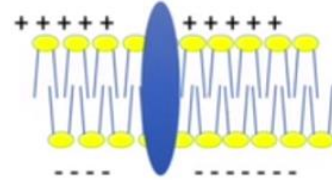


Courant osmotique

En pratique, les courants osmotiques se distribuent dans l'organisme à travers la membrane plasmique qui constitue un dipôle avec ses protéines transmembranaires.

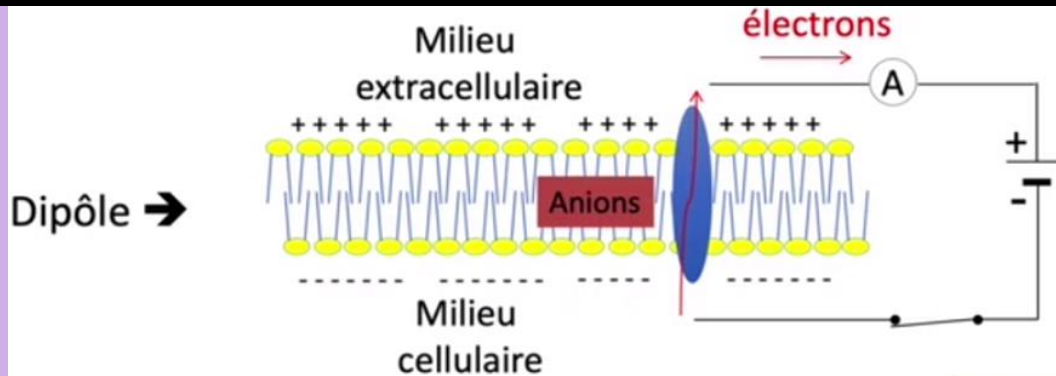
On a donc une répartition des charges qui est **positive vers le milieu extracellulaire** et **négative vers le milieu cellulaire.**

Milieu extracellulaire



Milieu cellulaire

Montage expérimental : continuité des courants osmotique et électrique



→ Il est possible expérimentalement de mettre en continuité **les courants électriques, avec un circuit externe et les courants osmotiques dans une membrane biologique ou un tissu.**

Le montage est réalisé de la façon suivante :

- Un **générateur**
- Un **ampèremètre**
- Le **dipôle**, constitué par la membrane plasmique : le courant qui traverse cette membrane n'est pas un électron, mais un anion ou un cation.

Règles générales

- Le potentiel électrique d'une molécule est **proportionnel à** : ⚡
 - ⇒ **Sa charge**
 - ⇒ **Sa mobilité dans le dipôle**
 - ⇒ **L'intensité du champ électrique**
- On considère, en physiologie et en médecine, que le champ électrique est **homogène dans la membrane plasmique.**
- Pour savoir comment se déplace une osmole électriquement chargée il suffit de savoir qu'elle va **vers l'endroit où les charges de signes opposées prédominent.**

Loi d'Ohm

- ♥ Cette loi indique que la conductance **est proportionnelle au rapport entre l'intensité du courant et le potentiel électrique.**

$$\text{Loi d'Ohm} \Rightarrow \frac{\text{Intensité}}{\text{Potentiel électrique}} = \text{Conductance}$$

Comparaison point par point des éléments qui déterminent les courants électriques et osmotiques : ♥

	Courant électrique	Courant osmotique
Porteurs de charges	Electrons	Ions (anions et cations)
Potentiel électrique (Volt)	Quantité d'électrons en 1 point du conducteur	Quantité d'ions en 1 point du conducteur (potentiel chimique)
Intensité (Ampère)	Quantité de charges passant en 1 point d'un conducteur par unité de temps	
Conductance (Siemen)	Facilité de mobiliser une charge dans un conducteur	
Nature de la conductance	Câble métallique	Membrane plasmique et transporteur moléculaire

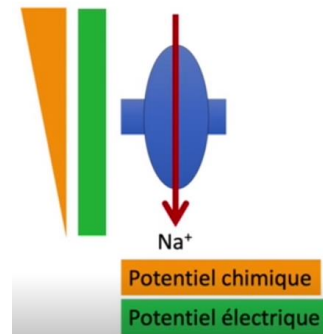
B) Equilibre entre les courants : Relation de Nernst (prix Nobel en 1920) :

- Nernst a mis en équation le potentiel électrique et le potentiel chimique. Il a démontré que **la somme des potentiels chimique et électrique était nulle**. Autrement dit, le potentiel chimique d'une substance dissoute (osmole électriquement chargée) équilibre son potentiel électrique.

$$\text{Potentiel électrique} + \text{Potentiel chimique} = 0$$

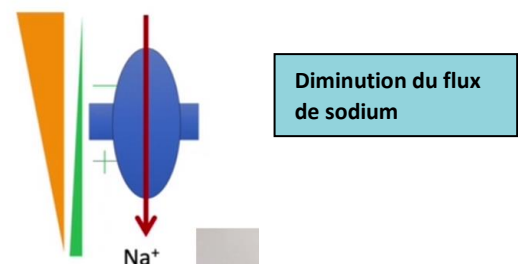
- Si on prend une membrane plasmique avec une protéine transmembranaire qui transporte du sodium (Na^+) de haut en bas. On a ici **un potentiel électrique nul** représenté par le rectangle et **un potentiel chimique qui dicte le transfert** de haut en bas (base du triangle en haut et pointe en bas)

Pas de potentiel électrique



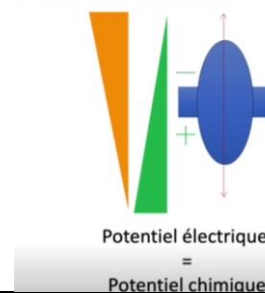
- Si l'on exerce un potentiel électrique (à l'aide d'un circuit extérieur), on va mettre des charges négatives en haut et positives en bas. On va **contrarier le flux de sodium** puisque les charges positives (en bas) vont repousser les cations.

Faible potentiel électrique



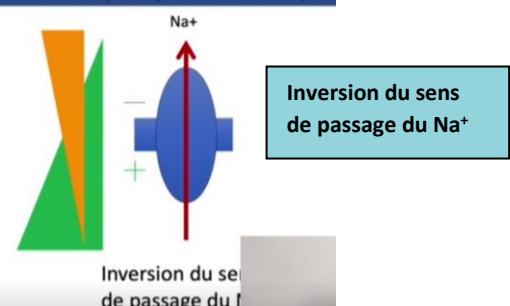
- Si l'on exerce un potentiel électrique encore plus fort, on va finir par **équilibrer le potentiel chimique** du sodium et il y aura autant d'ions sodium qui vont passer de haut en bas que de bas en haut. Cela est possible à l'intérieur des circuits biologiques grâce à différents montages expérimentaux que vous verrez par la suite

Fort potentiel électrique



- On peut même parvenir à **inverser complètement le flux de sodium**, c'est-à-dire le faire progresser en sens inverse de son potentiel chimique

potentiel électrique > potentiel chimique



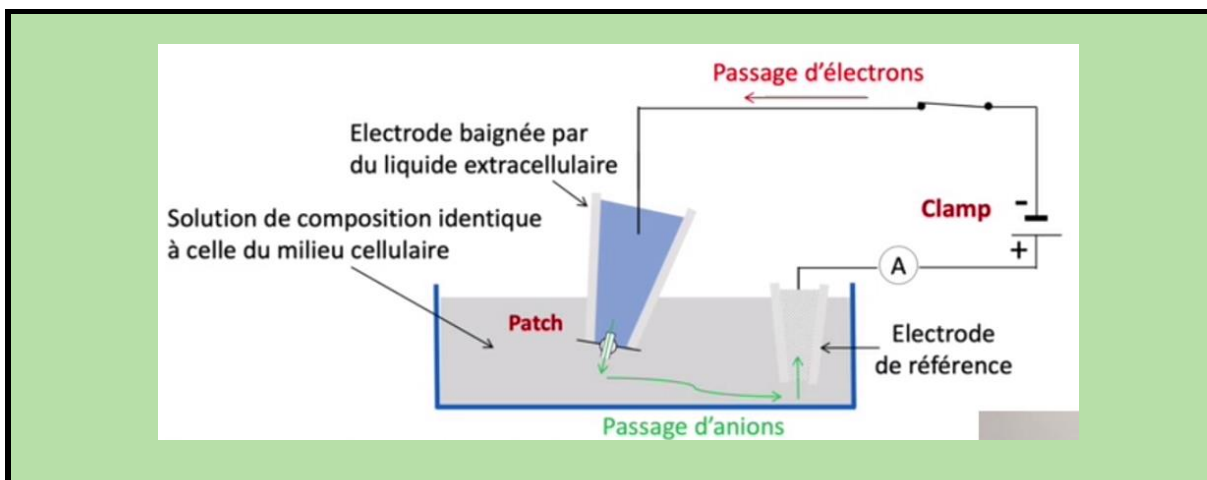
Conclusion :

- ♥ Les phénomènes électriques **sont essentiels** en physiologie et médecine.
- ♥ Les potentiels électriques et chimiques des molécules chargées **s'équilibrent**.
- ♥ **Des montages expérimentaux permettent de mesurer les courants osmotiques dans l'organisme.**

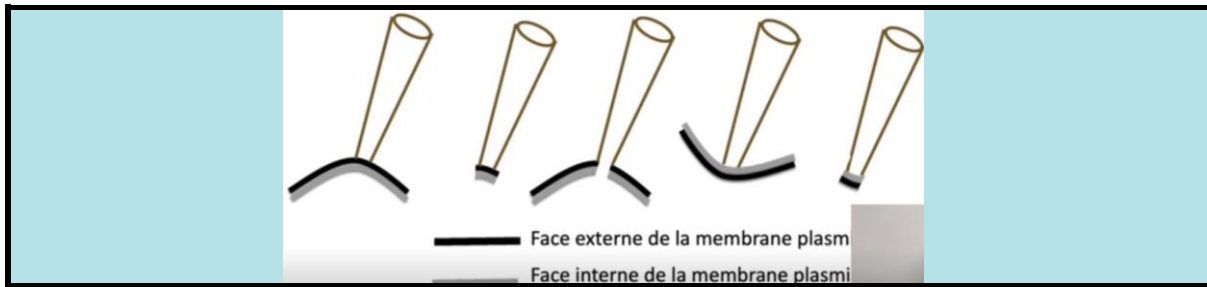
II. Les canaux ioniques

- ⇒ **Les canaux ioniques sont des éléments transmembranaires (des membranes biologiques) qui vont permettre le passage d'osmoles chargées ou non à travers la membrane.**
- ↗ Pour arriver à ces conclusions, nous avons utilisé des montages expérimentaux comme celui du **patch-clamp** que nous allons décrire.
- Pour bien comprendre ce qu'est un canal ionique, nous prendrons l'exemple du canal sodique épithélial (ENaC) et nous verrons quels sont les intérêts de ces mesures en physiologie et en médecine

A) Le patch-clamp :



- ♣ Grâce à cette représentation très simplifiée du montage Patch-Clamp, on voit qu'il y a dans un bain correspondant au milieu cellulaire, **une membrane qui trempe accrochée à l'extrémité d'une pipette.**
- De l'autre côté de la membrane, il y a **le liquide extracellulaire.**
- Un peu plus loin dans le bain, il y a **une électrode de référence.**
- ♣ Entre la membrane patchée sur la pipette et l'électrode de référence, on peut **observer le passage d'un courant ionique osmotique.** Le montage électrique **relie l'électrode de référence à l'électrode comportant la membrane.**
- On peut ainsi exercer des voltages différents sur le système osmotique pour mesurer l'intensité du courant dans le système. Ce montage et la maîtrise de cette technique ont valu un **Prix Nobel de Physiologie et Médecine en 1991 à Neher et Sackmann.**



- ✓ Le patch désigne **l'adhésion d'un fragment de membrane plasmique à l'extrémité d'une pipette de verre** microforée extrêmement fine.

Cette adhésion peut se réaliser **de plusieurs manières** :

- Face extérieure ou intérieure de la membrane,
 - Détachement ou non d'un morceau de membrane
 - Ou encore transperction éventuelle du premier feuillet de la membrane pour aller patcher le deuxième feuillet.
- A ce moment-là, on peut arracher le petit morceau de membrane (configuration à l'extrême droite).

- ♥ La loi d'Ohm nous indique que la facilité avec laquelle le courant va traverser notre système, autrement dit **la conductance, est proportionnelle au rapport de l'intensité sur le voltage.** ⚡*

$$\frac{\text{Mesuré}}{\text{Clampé}} = \frac{\text{Intensité}}{\text{Voltage}} = \text{Conductance} \quad \text{Calculée}$$

- Le **Clamp** désigne la manière de **définir** le voltage.
- L'**Intensité** se mesure avec un ampèremètre ou un galvanomètre.
- La **conductance** se calcule en fonction de l'intensité pour un potentiel.

Mais qu'apprend-t-on grâce au patch-clamp ?

- ➔ La principale information donnée par le patch-clamp est **qu'il existe des variations de conductance qui révèlent la présence de molécules transmembranaires facilitant la diffusion des osmoles à travers les membranes biologiques.**

D'après la loi d'Ohm, une intensité faible en présence d'un voltage fort révèle une faible conductance, c'est-à-dire :

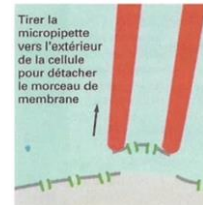
- Soit l'absence de molécules facilitant le transport
 - Soit la conformation fermée de ces molécules dans les conditions expérimentales dans lesquelles on se place.
- ❖ Le patch-clamp permet donc **d'étudier les propriétés physiques des molécules transmembranaires qui sont à l'origine de la diffusion facilitée.**

B) Propriétés électriques du canal sodique épithélial (ENaC) :

- ★ Le canal sodique épithélial est présent dans le poumon, le rein.
- ➔ C'est une protéine transmembranaire qui permet la diffusion facilitée du sodium.

❖ Que nous apprend la technique de patch-clamp sur le fonctionnement de ce canal ?

- ✚ On extrait un petit fragment membranaire en posant une pipette et en exerçant une petite succion pour détacher un petit morceau de membrane.



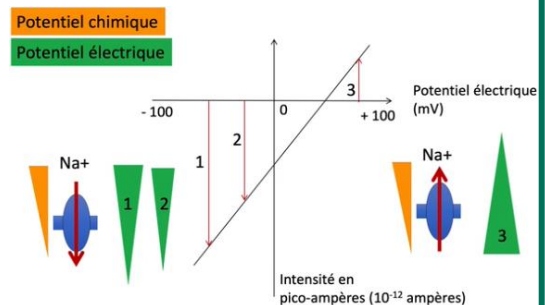
- La première information que l'on tire, c'est la valeur de **conductance (en picosiemens (pS))**.
- ♥ La conductance de ce canal sodique épithélial est de **4 pS**.

$$\frac{\text{Intensité}}{\text{Voltage}} = \text{Conductance} = 4 \text{ pS}$$

- La deuxième information est la relation intensité-voltage : en faisant varier le potentiel électrique (voltage), on va modifier l'intensité électrique.

Ici, le potentiel électrique sur l'axe horizontal et l'intensité sur l'axe vertical. On voit que **la relation entre intensité et voltage est linéaire**. ⚡*

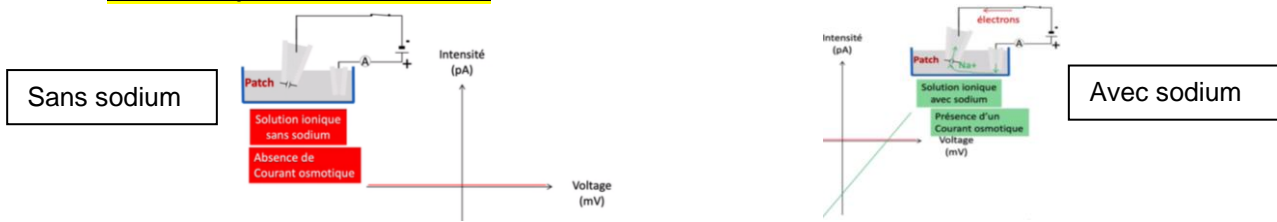
- Si l'on se place au niveau de potentiels électriques de -100 mV en bas, **on a un passage du sodium dans le même sens que le veut le potentiel chimique**. Le potentiel électrique potentialise ici l'effet du potentiel chimique.



- Si l'on baisse un peu le voltage, **l'intensité du courant diminue** car le potentiel chimique ne change pas mais le potentiel électrique diminue.
- Dans la dernière situation, si on inverse les choses en passant à une différence de potentiel électrique de +100 mV, à ce moment-là, **le sodium passe en sens inverse de son potentiel chimique**.

- ♥ **Cette propriété de la relation intensité-voltage fait partie de la carte d'identité du canal sodique épithélial.**

❖ **Comment étudie-t-on la spécificité de canal ? Comment détermine-t-on qu'il laisse passer du sodium et pas un autre cation ?**



On modifie composition de la solution ionique dans laquelle trempe la pipette de patch.

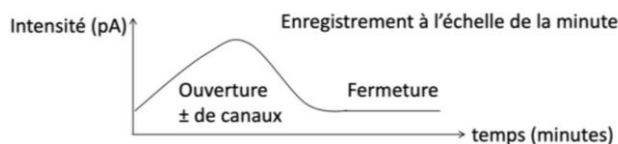
- Si on prend une solution ionique sans sodium, même si on exerce la plus forte différence de potentiel électrique on n'aura **aucun passage osmotique** entre la pipette de patch et l'électrode de référence.
- En revanche, si l'on se place dans une solution ionique contenant du sodium, on retrouve la forme de la relation intensité-voltage vue précédemment.

On vient donc d'étudier la **sélectivité** du canal.

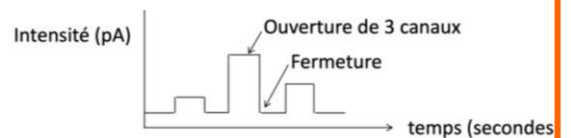
➔ Les canaux sont des molécules qui ont une durée de vie et **des propriétés intrinsèques**. Ainsi, lorsqu'on enregistre pendant une période de temps assez prolongée, les variations d'intensité pour un potentiel électrique donné, on observe **des variations d'intensité dépendant de l'ouverture et de la fermeture des canaux**. 🌟

Ici, les relations sur une échelle de temps :

⇒ **En minutes :**

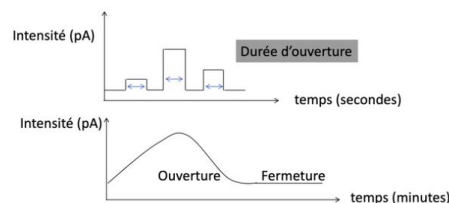
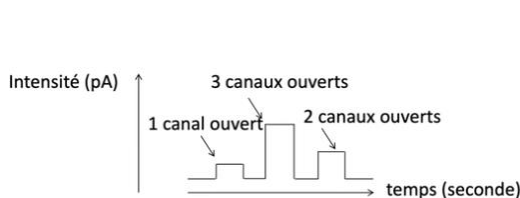


⇒ **En secondes :**



On observe sur la deuxième figure que ce qui apparaissait arrondi, apparaît désormais rectangulaire.

⇒ Chaque « petit rehaussement » de rectangle correspond à l'ouverture d'un ou plusieurs canaux. Autrement dit, **plus le rectangle est haut, plus il y a de canaux ouverts** (cf. graphique ci-dessous)



$$\text{Probabilité d'ouverture} = \frac{\text{Temps d'ouverture}}{\text{Durée d'enregistrement}}$$

➤ Le nombre de canaux ouverts par unité de temps définit la **probabilité d'ouverture**.

↪ Cette probabilité d'ouverture se mesure par le rapport entre la durée d'ouverture et le temps d'enregistrement. On peut ainsi caractériser cette propriété du canal sodique épithélial.

Chaque canal va donc avoir une identité précise selon le système biologique qui sert à l'exprimer (donc qui se trouve sous la pipette de patch). On peut caractériser :

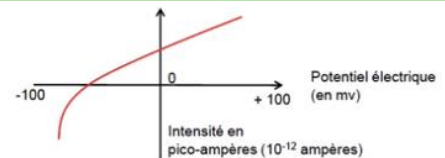
- ♥ La forme de la relation intensité-voltage
- ♥ La probabilité d'ouverture
- ♥ La durée d'ouverture
- ♥ La sélectivité
- ♥ La conductance

Carte d'identité du canal sodique épithélial (dans un tubule distal de rein ex vivo chez le rat Sprague Dawley)

	Relation intensité-voltage	Sélectivité ionique	Conductance pour le sodium	Durée d'ouverture	Probabilité d'ouverture
Canal sodique épithélial	Linéaire	Sodium (lithium)	4 à 5 pS	1 seconde	0,5

Voici l'exemple d'un autre canal (*peu importe lequel*), pour lequel la **relation intensité-voltage n'est pas linéaire** et dont les propriétés sont différentes du canal sodique épithélial :

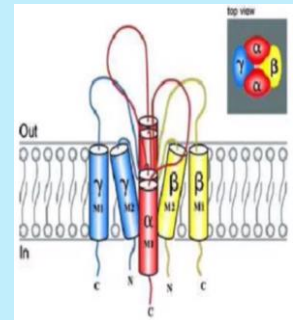
Exemple de relation intensité-voltage non linéaire



Pour aller plus loin... Une fois que l'on a caractérisé les propriétés biophysiques et que l'on a identifié un canal, on cherche à en connaître **la structure moléculaire**.

Le prof vous présente alors la structure moléculaire du canal sodique épithélial (clonée par l'équipe de Bernard Rossier à Lausanne en 1993).

Il s'agit de sous-unités transmembranaires : α , β , γ réparties par deux selon quatre dipôles qui constituent un port moléculaire à travers lequel passe le sodium.



❖ Quel intérêt comporte l'étude des canaux ioniques ?

- L'intérêt est de comprendre comment se passe la **diffusion facilitée** à travers les membranes plasmiques : il y a des canaux ioniques pour le sodium, des canaux ioniques pour **des substances non électriquement chargées comme le glucose ou encore l'eau**.
- Ces canaux sont des **cibles thérapeutiques**.
 - Ex : le canal sodique épithélial est **inhibé par l'amiloride** qui est un **médicament diurétique** que l'on utilise pour traiter les œdèmes et les épanchements.
- La compréhension de la régulation du canal ENaC permet de comprendre pourquoi il y a des **hypers ou des hypotensions artérielles** en cas de **mutation du gène codant pour le canal ENaC**.
- Certains **canaux cationiques non-sélectifs** sont des **capteurs de pression mécanique**. Ils vont être à l'origine de :
 - Régulation artérielle
 - Perception de la position des membres (proprioception)
 - Sens du toucher
- D'autres **canaux cationiques non-sélectifs** sont des **capteurs de température** qui vont influencer sur :
 - La régulation de la température corporelle
 - Les réactions d'évitement (chaleur ou froid) (*le fait de retirer rapidement la main quand tu te brûles U know*)
- Des canaux sodiques et potassiques sont présents sur les cardiomyocytes et les cellules nodales à l'intérieur du cœur et **déterminent le rythme cardiaque** (revu dans un autre cours)
 - Des médicaments qui ciblent ces canaux sont des **médicaments anti-arythmiques**.

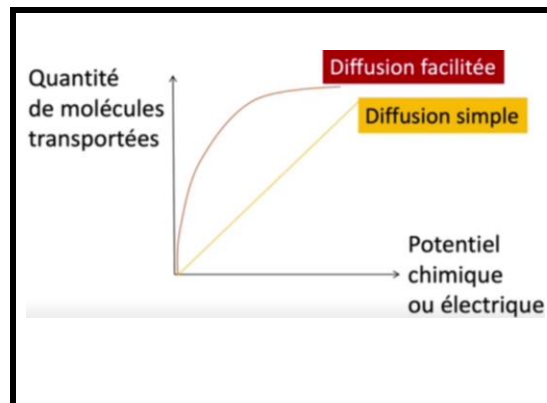
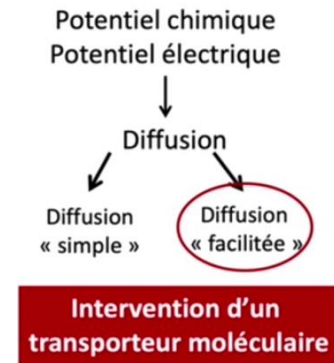
Conclusion :

- ♥ Il faut bien comprendre que la diffusion facilitée à travers les membranes plasmiques se passe grâce à des molécules transmembranaires et **c'est le patch-clamp qui permet de caractériser les propriétés biophysiques de ces molécules**.
- ♥ Ces molécules sont des **cibles thérapeutiques**.
- ♥ Il n'y a pas que des canaux, il y a aussi **des co-transporteurs et des échangeurs**, c'est-à-dire des molécules transmembranaires qui vont **asservir le passage d'une substance au passage dans le même sens ou dans le sens opposé d'une autre ou de plusieurs autres substances**. *Ex : si le glucose doit passer à travers un co-transporteur avec le sodium, s'il n'y a pas de sodium, le glucose ne peut pas passer seul. Il a besoin du glucose pour passer.*
- ♥ Certaines molécules transmembranaires consommant de l'ATP vont générer des potentiels chimiques ou électriques. Ces molécules sont appelées des pompes.

III. Co-transporteurs, échangeurs et pompes

⇒ Nous devons d'abord définir ce qu'est la diffusion facilitée avant de voir différents exemples pour aboutir à ce qu'est un transport osmolaire actif et un transport osmolaire secondairement actif.

- **Diffusion facilitée** : passage transmembranaire d'osmoles électriquement chargées ou non à l'aide de **l'intervention d'un transporteur moléculaire**. Les forces motrices sont les potentiels chimiques et électriques.
- Par opposition, la **diffusion simple** ne fait **pas intervenir de transporteurs moléculaires**. Cette situation reste rare dans l'organisme.



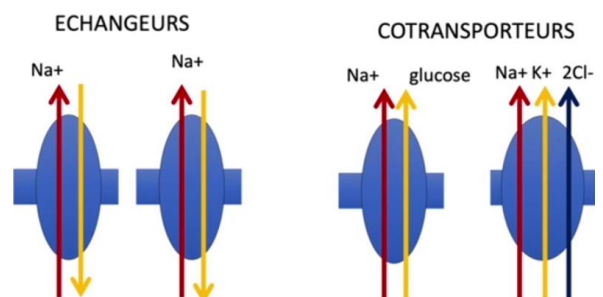
La quantité de molécules transportées varie en fonction du potentiel chimique et électrique :

- ❖ Selon une relation **linéaire** en cas de **diffusion simple** ;
- ❖ Selon une relation **exponentielle** dans le cas de la **diffusion facilitée**. ♥

On observe donc que la présence de transporteurs moléculaires permet une grande quantité de transport pour une faible valeur de potentiel.

Il existe des **échangeurs** : Na^+/Cl^- ou Na^+/H^+

Et des **co-transporteurs** : $\text{Na}^+/\text{glucose}$ ou $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$



- Nous allons étudier un de chacun de ces éléments afin de bien comprendre leur fonctionnement.

❖ **Co-transporteur sodium/glucose**

- Si l'on fait tremper une cellule dont la membrane comporte un co-transporteur sodium glucose dans un bain dont la **concentration de sodium est fixe** et dont **la concentration de sucre est croissante**, on remarque des **variations d'intensité de courant pour un voltage donné proportionnellement à l'augmentation de la concentration de sucre**.

Ainsi, sur ce graphique on voit que :

- ⇒ 0,1 mmol/L de sucre donne une intensité de l'ordre de -200 nA
- ⇒ 10 mmol/L de sucre donne une intensité proche de -1200 nA

- A présent, on réalise l'expérience *en miroir* pour montrer que le sodium a, lui aussi, une influence sur l'intensité électrique.

Ici, la concentration de sucre est constante et la concentration de sodium est croissante.

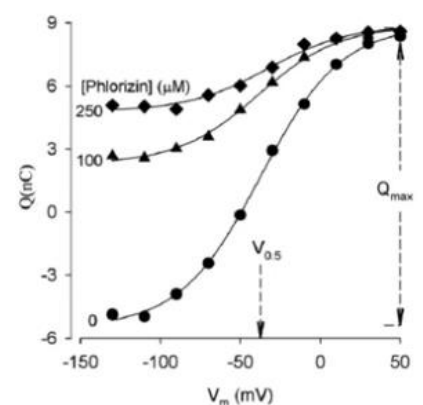
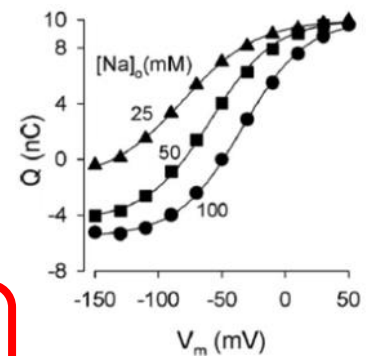
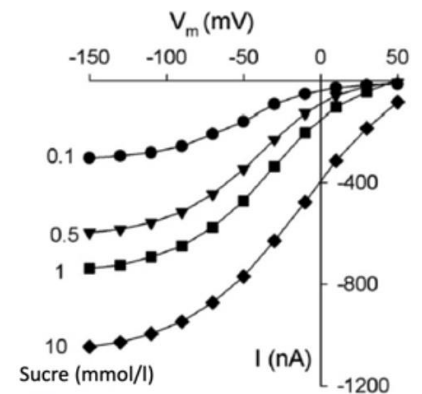
- Là encore, comme précédemment, on voit **l'intensité du courant augmenter à mesure que la concentration en sodium augmente**.

- ♥ On montre ainsi que l'intensité du courant à travers ces molécules membranaires dépend du sodium ET du glucose.

- On peut également caractériser les inhibiteurs pharmacologiques du co-transporteur sodium/glucose en optimisant les concentrations de sucre et de sodium dans le bain dans lequel trempe la cellule dont la membrane comporte les co-transporteurs et en introduisant différentes molécules.

Ici, on introduit de **la phlorizine** (extrait de pépins de pomme). Cette molécule **va bloquer le co-transporteur** sodium/glucose.

- ⇒ En l'introduisant à 250 $\mu\text{mol/L}$, on n'a quasiment plus d'intensité de courant pour des potentiels très variables.

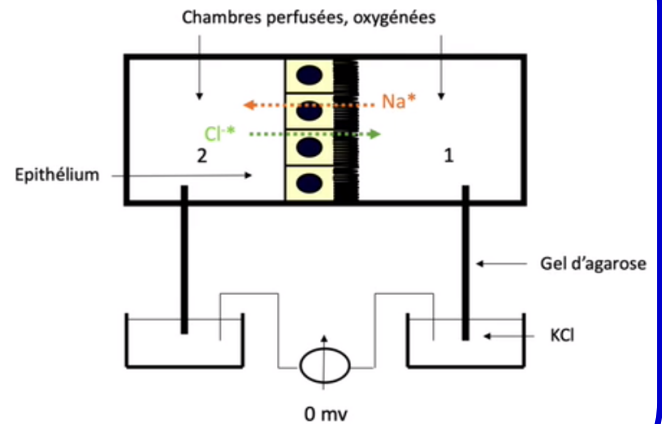


❖ **Echangeur sodium/chlore :**

↪ Ici nous avons le montage des chambres de Hussing.

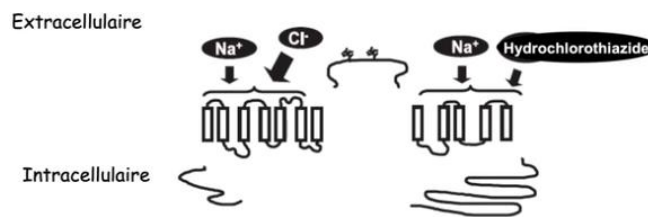
✚ Si l'on veut étudier un échangeur électroneutre, on peut avoir recours à la mesure de la radioactivité dans la composition des chambres 1 et 2.

➔ On montre qu'il existe des variations de concentrations sans variation de potentiel électrique dans le circuit externe relié par des gels d'agarose.



➔ L'échangeur sodium/chlorure a été décrit en 2009.

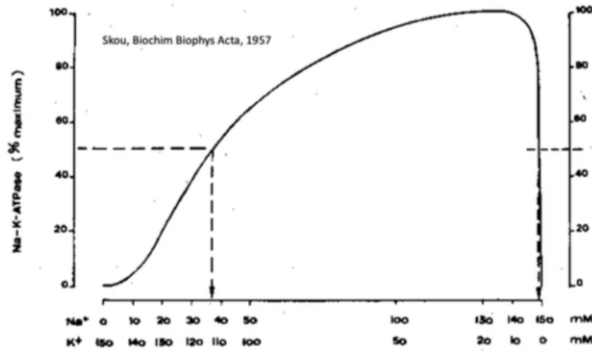
➤ Il s'agit d'un système à **plusieurs segments transmembranaires reliés par des boucles extra et intra-cellulaire.**



- On peut précisément déterminer à quel endroit le sodium ou le chlorure traverse cette structure.
- Et on peut également aisément déterminer à quel endroit **un inhibiteur pharmacologique, ici l'hydrochlorothiazide**, se fixe pour bloquer l'échangeur sodium chlorure.
- En ce qui concerne la pompe à sodium, sa description fonctionnelle a eu lieu en 1957 et Jens Skou fut récompensé par un Prix Nobel pour cette description 40 ans plus tard en 1997.

➤ **Comment fonctionne cette pompe ?**

- On voit sur l'axe vertical, l'activité ATPasique de la pompe de 0 à 100% de bas en haut et sur l'axe horizontal, on voit la quantité de sodium et de potassium, de 0 à 150 mmol de gauche à droite pour le sodium et vice-versa pour le potassium.

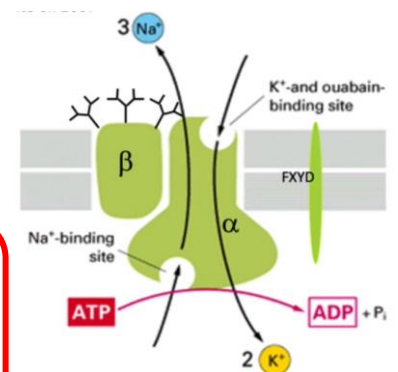


➔ S'il **manque** du sodium (extrême gauche) ou du potassium (extrême droite), l'**activité ATPasique est nulle**.

➔ En revanche, en présence d'une **concentration optimale de sodium et de potassium**, l'activité ATPasique est **maximale**.

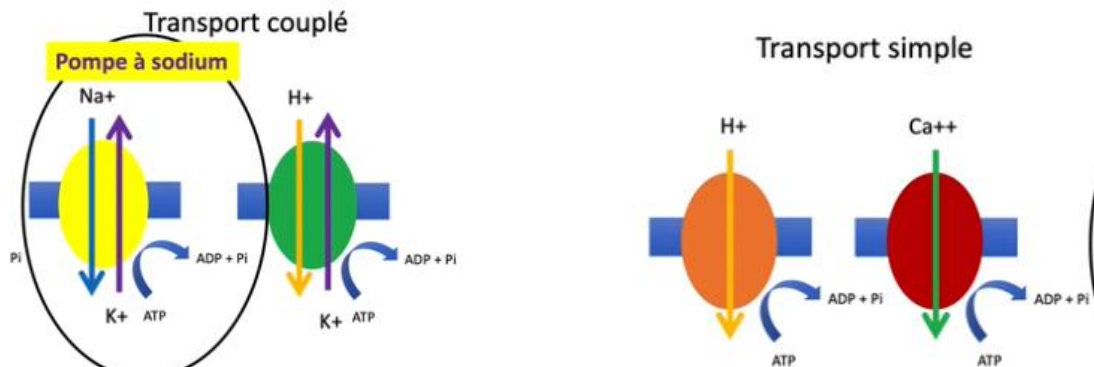
↪ Et c'est dans ces conditions que la **pompe fonctionne**.

La structure cristalline de la pompe à sodium a été décrite 10 ans après le Prix Nobel, en 2007 : on sait que la pompe à sodium comporte 3 sous-unités : α , β et FXYP.



- ♥ La pompe à sodium distribue 3 sodiums en échange de 2 potassiums en hydrolysant une molécule d'ATP.
- ♥ L'ouabaine est un inhibiteur pharmacologique de cette pompe.

On dit que la pompe à sodium réalise un transport couplé (échange de sodium et potassium). On trouve aussi la pompe H^+/K^+ ATPase qui assure un transport couplé (protons dans un sens et potassium dans l'autre).



Il y a aussi d'autres pompes qui effectuent des transports simples de **protons ou de calciums**.

- *Le prof précise qu'il n'y a pas d'autres pompes que ces quatre-là dans l'organisme humain.*

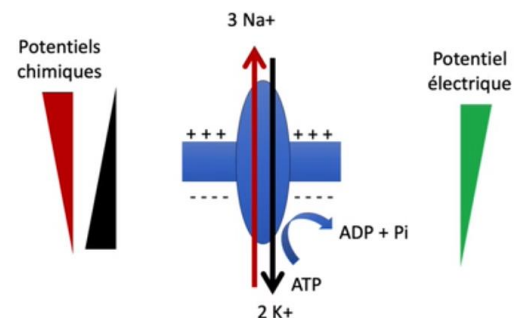
ATTENTION :

Dès qu'il s'agit de **pompe**, on a des **transports actifs** qui consomment de **l'ATP** ! 💡

❖ Transport osmolaire actif et secondairement actif

- Qu'est-ce qu'un transport osmolaire « actif » ?

- ♥ Il s'agit d'un **transport qui se passe à travers une pompe et qui nécessite la consommation directe d'ATP**.



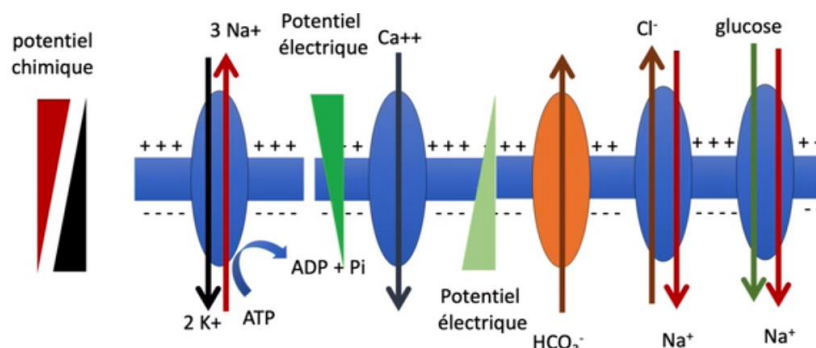
- ↪ Ici la pompe à sodium déplace **3 cations sodium vers le haut** et **2 cations potassium vers le bas**.

- ↪ Elle génère donc des potentiels chimiques en sens opposés pour le sodium et le potassium et elle génère également des potentiels électriques (représentés du + vers le - à droite de l'image).

- ➔ **Les transports de sodium et de potassium sont ici actifs.**

- Qu'est-ce qu'un transport osmolaire secondairement « actif » ?

- ↪ Lorsque la pompe a créé une situation déterminée sur le plan des potentiels chimiques et électriques, la présence d'autres molécules de transports (canaux, co-transporteurs ou échangeurs) va permettre des transports osmolaire **secondairement actifs**. Ces transports secondairement actifs constituent **la grande majorité** des transports dans l'organisme.



La pompe Na^+/K^+ (à gauche) a généré des potentiels chimiques et des potentiels électriques.

- Si on prend l'exemple du **canal calcique**, on voit bien que **le calcium (Ca^{2+})** va avoir tendance à passer de haut en bas, **des charges positives vers les charges négatives (potentiel électrique)**.
- Si on prend un canal à bicarbonate, **le bicarbonate va passer de bas en haut**, fuyant les charges **négatives (toujours selon le potentiel électrique)**.
- Si on prend l'échangeur sodium-chlorure, **le sodium va passer de haut en bas** selon son **potentiel chimique** (créé préalablement par la pompe, **le chlorure**, passera lui en **sens inverse** (de bas en haut) chassé par **son potentiel électrique**.
- Si on prend le cas du co-transporteur sodium glucose, **le sodium passe toujours de haut en bas selon son potentiel chimique** et le glucose dont le **passage est asservi à celui du sodium le suit**.

Conclusion :

- ♥ Dans l'organisme, **la pompe à sodium crée les gradients chimiques et électriques qui mobilisent la plupart des osmoles entre les compartiments**.
- ♥ Il est important de comprendre que les échangeurs et les co-transporteurs **s'arrêtent complètement de fonctionner lorsqu'il manque une seule des molécules qu'il transporte** ♥☹️.
- Ex. un co-transporteur sodium/glucose en l'absence de glucose ne transporte pas de sodium ou un échangeur sodium/chlorure en l'absence de chlorure ne transporte pas de sodium.
- ♥ L'ensemble de ces canaux ioniques, échangeurs, co-transporteurs et pompes **sont extrêmement régulés dans l'organisme**.

IV. Potentiel de repos

A) Composition ionique des milieux cellulaire et extracellulaire :

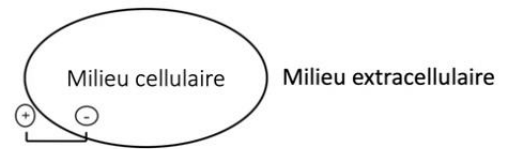
- ➔ Les principaux constituants du milieu extracellulaire : **sodium (Na^+)**, **potassium (K^+)** et **chlorure (Cl^-)** ont une **répartition asymétrique par rapport au cytoplasme** :

	Milieu cellulaire	Milieu extracellulaire
Na^+	10 mmol/L	144 mmol/L
K^+	160 mmol/L	4 mmol/L
Cl^-	6 mmol/L	114 mmol/L

B) Polarité électrique de la membrane plasmique :

- Si l'on place une électrode à l'intérieur d'une cellule et une électrode de référence à l'extérieur dans le milieu extracellulaire, on observe **un potentiel transmembranaire de l'ordre de -80 mV** en moyenne.
- Ce potentiel transmembranaire est **extrêmement variable d'une cellule à l'autre** et est dépendant du type cellulaire.

Potentiel transmembranaire mesuré - 80 mV

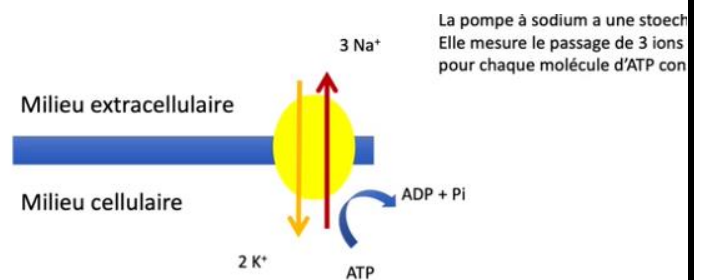


C) Pompe à sodium et courants de fuite :

- *Quels sont les liens entre cette répartition asymétrique des principales osmoles électriquement chargées du milieu extracellulaire et le potentiel de repos ?*

Le lien passe par la pompe à sodium et les courants de fuite.

La pompe à sodium assure une asymétrie de répartition du sodium et du potassium puisqu'elle a une **stœchiométrie de 3/2** c'est-à-dire qu'elle **mesure le passage de 3 ions sodium vers l'extérieur et de 2 ions potassium vers l'intérieur de la cellule à chaque fois qu'elle hydrolyse une molécule d'ATP.** 🧠❤

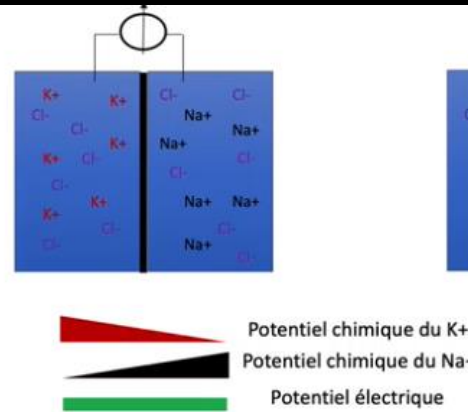


L'asymétrie de répartition du sodium et du potassium est assurée par la pompe à sodium.

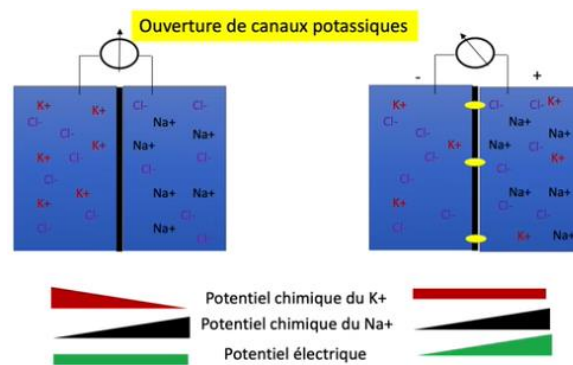
Si l'on considère 2 compartiments séparés par une membrane :

- Un compartiment intracellulaire fait de chlorure de potassium (KCl)
- Un compartiment extracellulaire fait de chlorure de sodium (NaCl)

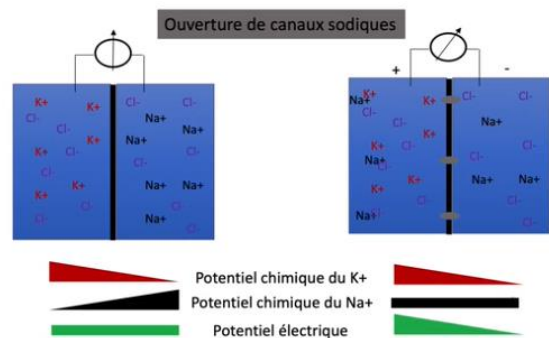
- ❖ On voit qu'au départ, il n'y a **pas de potentiel électrique**. En revanche, on a un **potentiel chimique de même force mais de sens opposé pour le sodium et le potassium**.



- ❖ Si l'on ouvre des **canaux potassiques** sur la membrane qui sépare ces deux compartiments, on va observer le passage du potassium selon la règle de la diffusion (selon son potentiel chimique), du compartiment de gauche vers le compartiment de droite et ainsi **le potentiel chimique du sodium ne va pas changer mais le potentiel chimique du potassium va s'annuler**. D'autre part, **un potentiel électrique va apparaître** puisqu'il va exister, d'un coup, une répartition asymétrique des charges positives.



- ❖ Si l'on fait la même chose avec **des canaux sodiques**, le phénomène inverse se produit : le sodium équilibre sa concentration par diffusion entre les deux milieux générant ainsi **un potentiel électrique**. Il **annule son potentiel chimique sans modifier le potentiel chimique du potassium**.



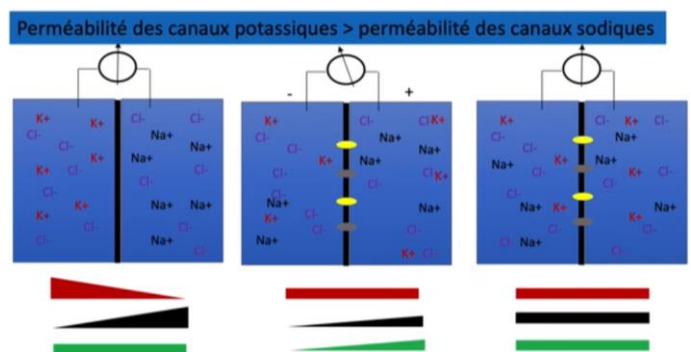
↪ *Maintenant que nous avons montré cela expérimentalement, nous revenons à la membrane cellulaire.*

➔ Dans l'organisme, sur la membrane cellulaire, il existe des courants de fuite du potassium et du sodium, selon une perméabilité différente :

❖ **La perméabilité des canaux potassiques est supérieure à celle des canaux sodiques :**

on observera un passage plus abondant de charges de gauche à droite que de droite à gauche, générant ainsi une asymétrie de composition des milieux et un potentiel électrique.

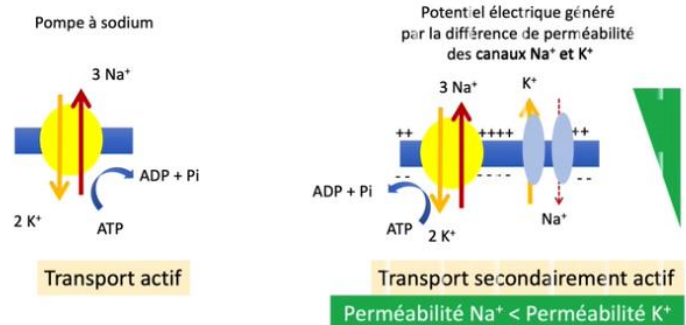
Dans un système inerte, les potentiels disparaissent au bout d'un certain temps puisqu'il s'agit d'une différence de perméabilité donc d'une différence de vitesse de passage ionique.



❖ Dans l'organisme, l'activité permanente des pompes à sodium sur les cellules entretient cette différence de répartition ionique et la présence de canaux sodiques moins perméables que les canaux potassiques assurent un bilan de charges, un potentiel électrique.

Donc les membranes plasmiques se retrouvent polarisées positivement sur leur feuillet extracellulaire et négativement sur le feuillet intra-cellulaire. ♥

Il suffit de la répartition asymétrique d'un ion sur 10^5 d'un côté ou de l'autre de la membrane plasmique pour créer une différence de potentiel électrique de 100 mV.



Récap :

Le potentiel de repos est expliqué par :

- ♥ La perméabilité inégale des canaux sodiques et potassiques va générer un potentiel électrique de repos.
- ♥ Et la pompe Na,K-ATPase et son activité permanente sur la membrane plasmique vont entretenir ce potentiel de repos, cette répartition asymétrique des charges. Le transport actif de Na^+ et K^+ par la Na,K-ATPase explique que cette différence de potentiel électrique persiste.

	Milieu cellulaire	Milieu extracellulaire
Na+	10 mmol/L	144 mmol/L
K+	160 mmol/L	4 mmol/L
Cl-	6 mmol/L	114 mmol/L
Cations	212 meq/L	153 meq/L
Anions	212 meq/L	153 meq/L
Bilan de charges	nul	nul

- Cette asymétrie **ne modifie pas la pression osmotique** qui n'est pas du tout du même ordre de grandeur.
- Les milieux cellulaire et extracellulaire sont pour cette raison considérés comme **électriquement neutres**.
- ↪ C'est-à-dire que **la somme des cations et la somme des anions dans chacun des milieux cellulaire et extracellulaire est nulle**.

Conclusion :

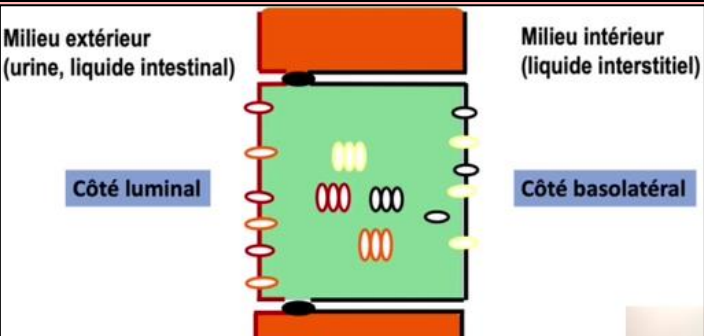
- ♥ Le potentiel de repos **dépend des pompes à sodium et des courants de fuite** pour le sodium et le potassium ;
- ♥ La diffusion des osmoles à travers une membrane plasmique **dépend des potentiels électriques et des potentiels chimiques** selon la relation de Nernst ;
- ♥ Les propriétés électriques des cellules **déterminent le rythme cardiaque et la transmission des signaux neuronaux (revu plus tard)**.

V. Flux osmolaire à travers les épithéliums (absorption et sécrétions)

- Le dernier type de membrane biologique que nous allons étudier s'appelle un épithélium.
- A travers les épithéliums, il y a des flux osmolaires qui correspondent à des flux d'absorption et de sécrétions.

A) Epithélium → « membrane » séparant milieu intérieur et extérieur

Epithélium → membrane biologique entre milieu intérieur et extérieur



→ Cette membrane biologique est composée de cellules qui sont polarisées.

- Le **côté basolatéral baigne du côté sanguin**.
- Le **côté luminal est à l'extérieur de l'organisme** dans l'urine primitive ou le liquide intestinal par exemple.

➤ Chacun des côtés reçoit **des protéines particulières selon un programme cellulaire bien précis**. Chaque cellule est **séparée d'une autre par des jonctions dont les propriétés sont variables**.

↪ Les **protéines de transport étant spécifiquement destinées au côté luminal ou au côté basolatéral**, et ces deux côtés étant isolés par des jonctions intercellulaires, il y a donc une polarisation.

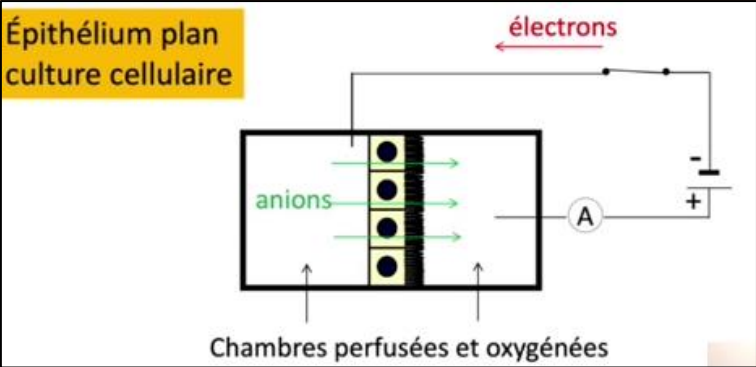
Paramètres fonctionnels :

- **Les pompes transportent activement des osmoles sur une face ou l'autre de l'épithélium.**
- ⇒ Elles créent ainsi des **gradients chimiques ou des gradients électriques**, si bien que **l'équipement en canaux/échangeurs/co-transporteurs sur la membrane plasmique va permettre des transports secondairement actifs de chaque côté.**
- ✚ Ce qui est important c'est que **les deux membranes plasmiques situées du côté basolatéral et du côté luminal sont fonctionnellement couplées pour générer des flux transépithéliaux**. Ces flux s'appellent : des **flux absorbatifs** quand on va **du milieu extérieur vers le milieu intérieur** et **des flux sécrétoires quand on va en sens inverse**.

B) Mesure des flux trans-épithéiaux :

Chambre d'Ussing

Épithélium plan
culture cellulaire

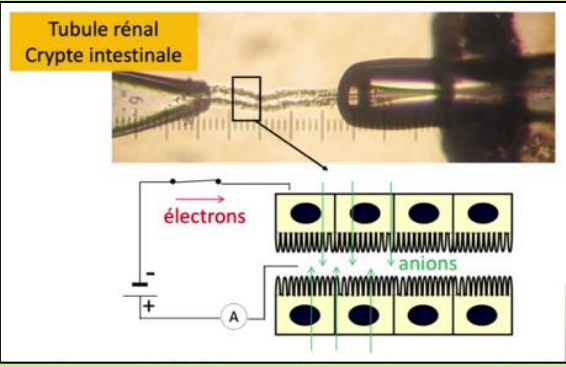


Chambres perfusées et oxygénées

- ✓ Pour mesurer le **fonctionnement et les flux transépithéiaux**, on utilise différents **montages expérimentaux**.
- ➔ La **chambre d'Ussing** permet de monter un **épithélium plan** entre deux **chambres perfusées et oxygénées** que l'on va relier à un **circuit électrique externe**.
- ↪ Ainsi, nous allons pouvoir étudier **les changements de concentration ionique** entre les **deux phases de l'épithélium** et par rapport à ça les mouvements de charges correspondant aux courants osmotiques.

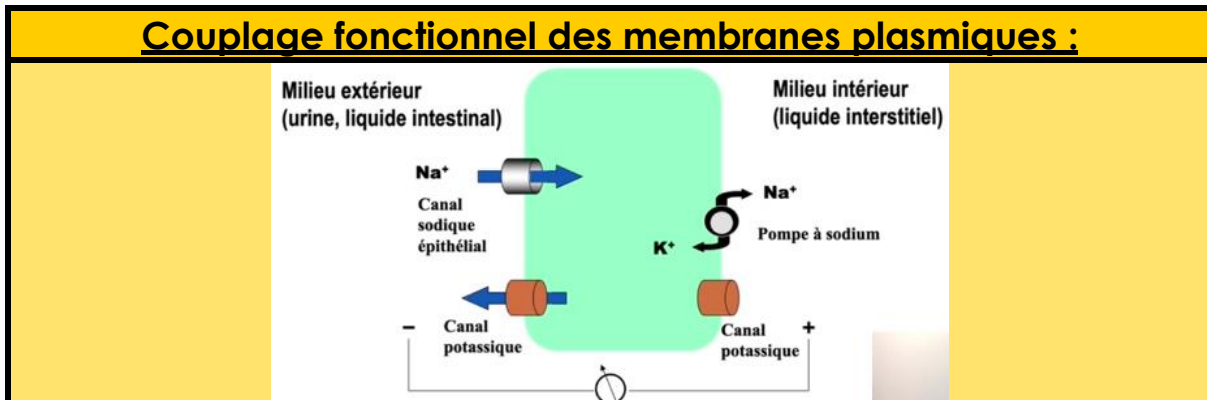
Microperfusion in vitro :

Tubule rénal
Crypte intestinale



- ➔ Il existe des **épithéliums cylindriques** que l'on étudie par **microperfusion in vitro**.
- ✚ Sur cette diapo on peut observer **un tubule rénal qui est canulé entre deux micropipettes de verre microforgées**. On peut mesurer la concentration ionique qui est à l'extérieur de ce cylindre et le flux ainsi que la concentration ionique du liquide intra-canalair.
- ✓ Un même montage électrique peut être couplé comme pour **la chambre d'Ussing**, permettant de **caractériser la polarisation électrique transépithéliale**.

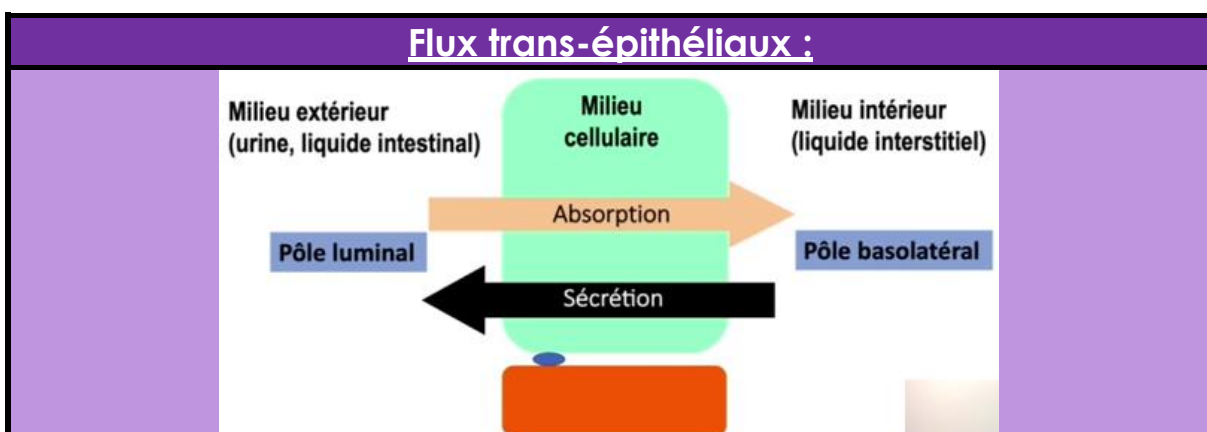
C) Fonctionnement des épithéliums :



➔ Prenons l'exemple de la cellule principale du canal collecteur qu'on observe sur le schéma qui possède **une pompe à sodium sur son côté basolatéral**.

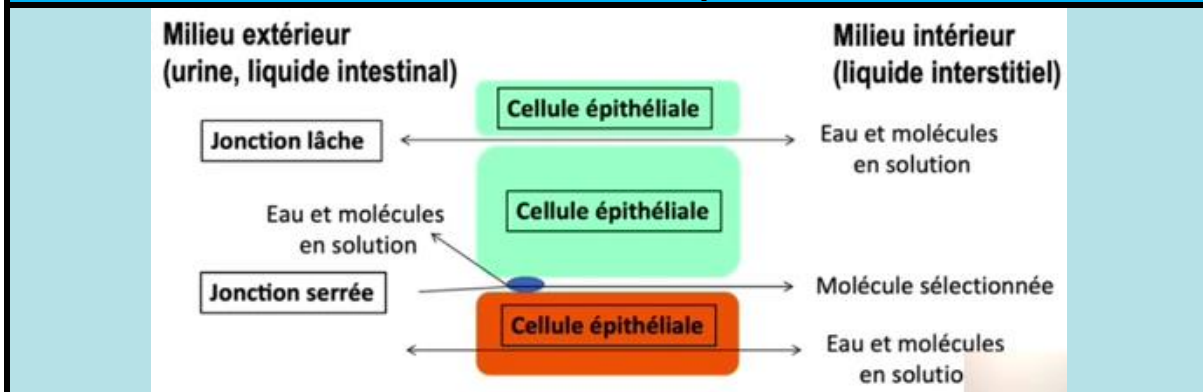
- ✓ Cette pompe à sodium va **créer un gradient chimique favorable à l'entrée du sodium dans le cytoplasme** et en présence d'un canal sodique épithélial au pôle luminal, le sodium va rentrer dans le cytoplasme puis ressortir du côté droit du schéma.
- ✓ On transporte des **charges positives** et donc on crée une **polarisation électrique avec une lumière (du côté du milieu extérieur) électro-négative**.
- ✓ Le **potassium** qui s'est accumulé à l'intérieur de la cellule va donc **pouvoir en sortir puisqu'il existe des canaux potassiques au pôle luminal et basolatéral**.
- ✓ De plus, le **gradient chimique est favorable à la sortie**. Cependant le fait d'avoir un gradient électrique favorable à la sortie du potassium vers le pôle luminal, va le conduire à être évacué vers ce pôle.

♥ **Le couplage fonctionnel désigne cette association de gradient chimique et gradient électrique qui selon l'équipement moléculaire aboutit à un flux ici de gauche à droite pour le sodium et de droite à gauche pour le potassium.** ♥



- **Le flux de gauche à droite, c'est-à-dire du milieu extérieur vers le milieu intérieur est un flux d'absorption.**
- **Le flux de droite à gauche, du pôle basolatéral au pôle luminal (du milieu intérieur vers le milieu extérieur) est un flux de sécrétion.**

Flux trans-cellulaire et/ou para-cellulaire :



→ Les flux peuvent être soit trans-cellulaires ou para-cellulaires.

- ❖ Lorsque les jonctions qui séparent les cellules sont lâches, il peut y avoir un passage para-cellulaire (c'est-à-dire que l'eau ou les molécules en solution passent ENTRE deux cellules).
- ❖ Lorsque les jonctions sont serrées certaines molécules de ces jonctions permettent un passage sélectif comme dans la diffusion facilitée. Mais globalement, il y a une imperméabilité à l'eau et aux molécules en solution.
- ✓ Le flux transépithélial est souvent trans-cellulaire comme on l'a illustré précédemment dans le couplage fonctionnel.

Conclusion :

- ♥ Les épithéliums séparent le milieu intérieur des milieux extérieurs.
- ♥ Flux trans-épithéliaux ⇒ association de transporteurs moléculaires.
- ♥ Nature des flux ⇒ type de transporteurs.
- ♥ Intensité des flux ⇒ perméabilité des transporteurs et/ou des jonctions intercellulaires.