



Chapitre 1 – Zooms

VALENCE D'UN ION

La valence d'un ion (notée z) correspond au nombre d'électrons qu'un ion possède en plus ou en moins par rapport à son nombre de protons. Si un proton est en excédent par rapport au nombre d'électrons, l'ion est noté $+$. Si un électron est en excédent par rapport au nombre de protons, l'ion est noté $-$.

La valence est indiquée dans le nom même de chaque ion : c'est par exemple le « $+$ » en exposant qui suit le nom de l'élément sodium dans « Na^+ » ou le « $-$ » qui suit le nom de l'élément chlorure dans « Cl^- ».

On appelle cations les ions qui ont une valence positive ($+1, +2, +3\dots$) et anions les ions qui ont une valence négative ($-1, -2, -3\dots$).

Quand on veut calculer le potentiel d'équilibre (E_{ion}) pour un ion donné, on utilise l'équation de Nernst, qui nécessite de savoir la valeur de z :

$$E_{\text{ion}} = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[\text{ion}]_e}{[\text{ion}]_i} \right)$$

$$E_{\text{ion}} = \frac{58}{z} \log \left(\frac{[\text{ion}]_e}{[\text{ion}]_i} \right)$$

Voici les valences des ions les plus communément étudiés dans notre cours :

Pour l'ion sodium Na^+ , $z = +1$.

Pour l'ion potassium K^+ , $z = +1$.

Pour l'ion calcium Ca^{2+} , $z = +2$.

Pour l'ion chlorure Cl^- , $z = -1$.

Attention : pensez à bien inclure z (avec son signe) dans vos calculs !

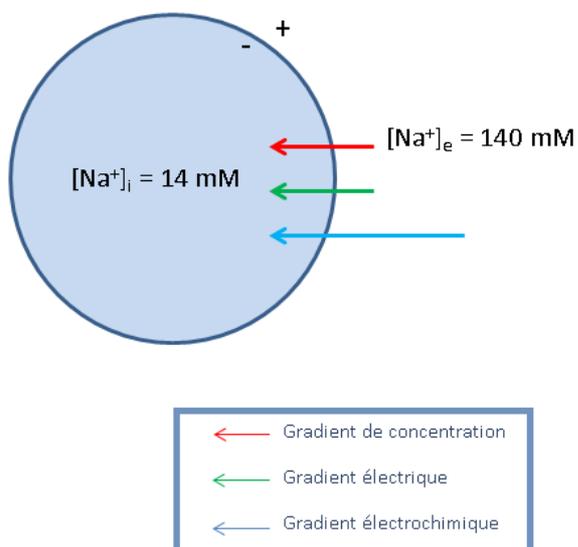


L'EQUATION DE NERNST PERMET DE CALCULER LE POTENTIEL D'EQUILIBRE D'UN ION

Le sens du transport passif d'une espèce ionique dépend de sa concentration de part et d'autre de la membrane : les ions bougent passivement du milieu où ils sont le plus concentrés vers le milieu où ils sont le moins concentrés.

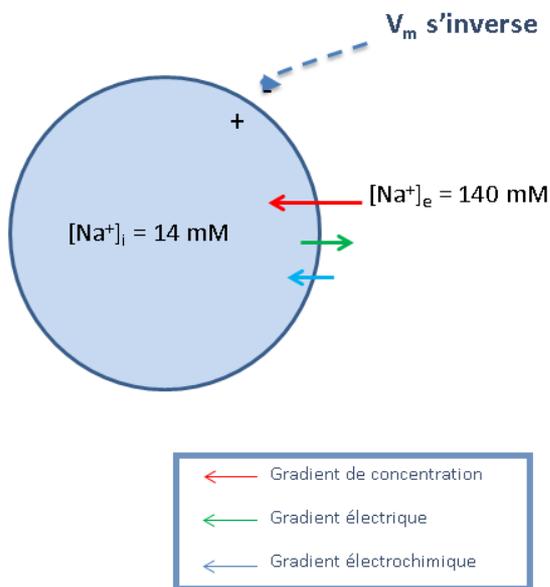
Comme les ions sont des molécules chargées, le sens de leur transport passif à travers la membrane dépend aussi du potentiel de la membrane ($V_m = V_i - V_e$) : les ions chargés – sont attirés par le côté de la membrane chargé + et vice versa.

Les concentrations ioniques étant constantes, la seule variable est le potentiel de la membrane, qui change en fonction des signaux reçus par le neurone. Ainsi le passage d'un ion peut changer de sens en fonction de V_m .



Prenons l'exemple des ions Na^+ : par gradient de concentration (flèche rouge) ils ont tendance à entrer dans les neurones à travers les canaux Na^+ ouverts. Par gradient électrique aussi (flèche verte) tant que la face interne de la membrane est chargée plus négativement que la face externe. Le flux net d'ions Na^+ est par conséquent entrant (flèche bleue) dans ces conditions.

Mais quand V_m s'inverse pendant le potentiel d'action, que font les ions Na^+ ?



Sur ce 2ème schéma, on voit que la force liée au gradient de concentration est constante mais que celle liée au gradient électrique a changé de sens. Est-elle supérieure ou inférieure à la force liée au gradient de concentration?

Pour résoudre ce problème, il faut le quantifier. C'est l'équation de Nernst qui donne le potentiel d'équilibre d'un ion (E_{ion}). La définition du potentiel d'équilibre est la suivante : quand V_m = E_{ion}, le flux net de cet ion est nul. Quand V_m = E_{ion}, cet ion est à l'équilibre. C'est autour de ce potentiel d'équilibre E_{ion} que le flux net de cet ion s'inverse.

$$E_{\text{ion}} = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[\text{ion}]_e}{[\text{ion}]_i} \right)$$

où :

- R est la constante des gaz parfaits,
- T est la température absolue en °K,
- z est la valence de l'ion,
- F est la constante de Faraday.

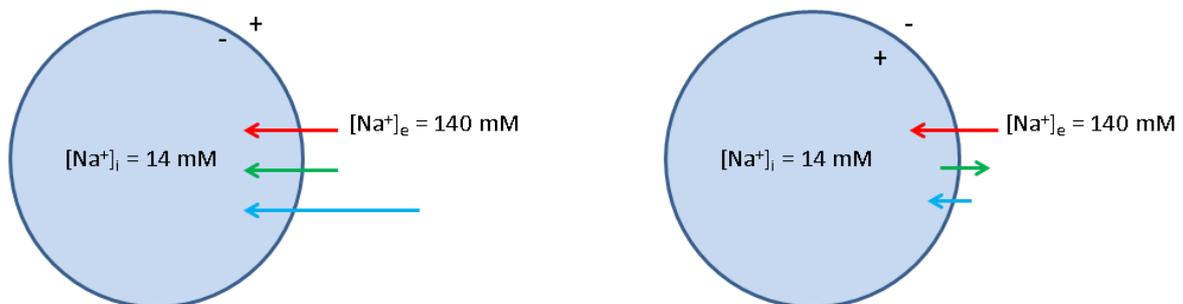
Autrement dit :

$$E_{\text{ion}} = \frac{58}{z} \log \left(\frac{[\text{ion}]_e}{[\text{ion}]_i} \right)$$

Pour les ions Na⁺, et avec les concentrations données,
E_{Na} = 58/1 log(140/14) = +58 mV



Tant que V_m est plus hyperpolarisé que +58 mV, les ions Na^+ entrent passivement dans les neurones à travers les canaux Na^+ ouverts. Comme V_m n'atteint jamais +58 mV, on peut dire que les ions Na^+ entrent toujours passivement dans les neurones mais avec une force variable (comparez les flèches bleues entre les deux figures) :



Quelle est la situation pour les autres espèces ioniques?

Vous pouvez vérifier que les ions K^+ sortent toujours passivement à travers les canaux K^+ ouverts, sachant que $[\text{K}^+]_e = 3 \text{ mM}$ et $[\text{K}^+]_i = 140 \text{ mM}$.

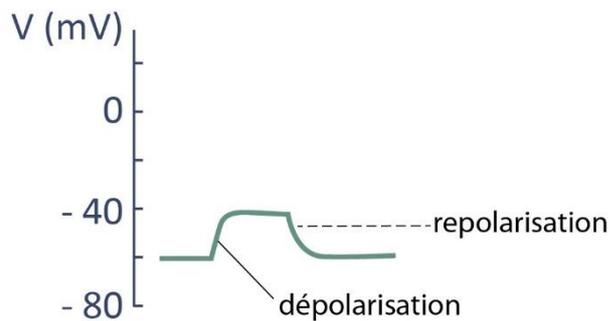
En revanche, la situation est beaucoup plus compliquée pour les ions chlorures. Elle est expliquée au chapitre 5 (transmission synaptique GABAergique).



DEPOLARISATION, HYPERPOLARISATION, REPOLARISATION

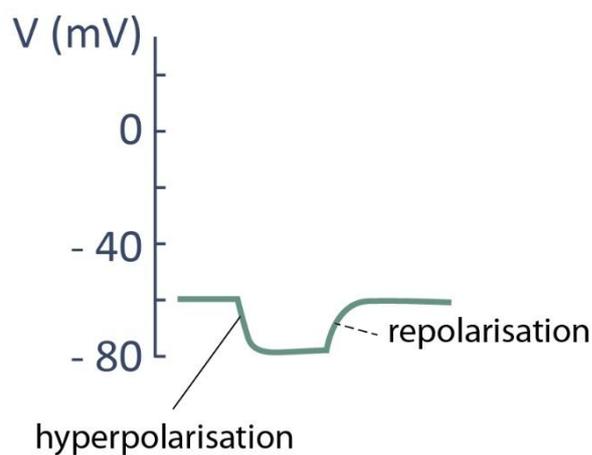
Le point de référence pour les changements de potentiels membranaires est le plus souvent le potentiel de repos (dans les enregistrements en courant imposé) ou le potentiel de maintien (dans les enregistrements en potentiel imposé).

Une dépolarisation est un changement de potentiel vers des potentiels moins hyperpolarisés que le potentiel de repos ou de maintien. Par exemple, si la membrane passe de -60 à -40 mV, on dit qu'elle se dépolarise.



Elle se dépolarise aussi si elle passe de -60 mV à +20 mV.

Une hyperpolarisation est un changement de potentiel vers des potentiels plus hyperpolarisés que le potentiel de repos ou de maintien. Par exemple, si la membrane passe de -60 à -80 mV, on dit qu'elle s'hyperpolarise.



Une repolarisation est un retour au potentiel de repos ou de maintien. A partir d'une valeur dépolarisée, la membrane se repolarise en s'hyperpolarisant. A partir d'une valeur hyperpolarisée, le potentiel de membrane se repolarise en se dépolarisant.

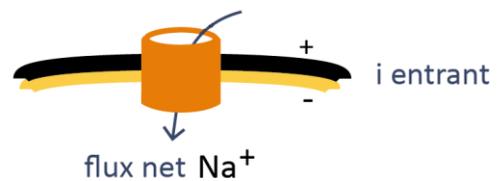
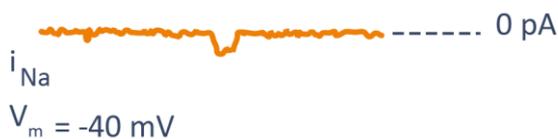


COURANT ENTRANT ET SORTANT

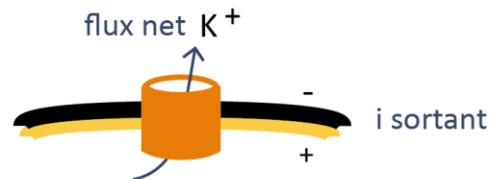
Un courant est un mouvement de charges. En biologie, un courant est un mouvement d'ions. **Par définition, « courant entrant ou sortant » signifie « courant entrant de charges + ou sortant de charges + ».**

Des charges + qui vont du milieu extérieur vers le milieu intérieur d'un neurone ou des charges - qui vont dans le sens inverse créent un courant entrant. Par exemple, une entrée d'ions Na^+ à travers des canaux Na^+ est un courant entrant (Figure a). De même, une sortie d'ions Cl^- à travers des canaux GABAA est un courant entrant.

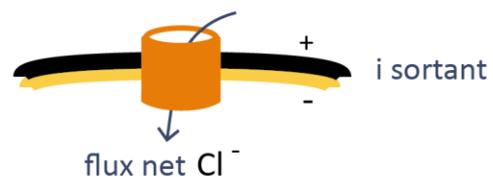
(a) Courant entrant d'ions Na^+



(b) Courant sortant d'ions K^+



(c) Courant sortant d'ions Cl^-



A l'inverse, des charges + qui vont du milieu intérieur vers le milieu extérieur d'un neurone ou des charges - qui vont dans le sens inverse créent un courant sortant. Par exemple, une sortie d'ions K^+ à travers des canaux K^+ est un courant sortant (Figure b). De même, une entrée d'ions Cl^- à travers des canaux GABAA est un courant sortant (Figure c).

Par convention, un courant entrant est négatif : on le représente allant de 0 pA vers des valeurs négatives, Figure a). Inversement, un courant sortant est positif : on le représente allant de 0 pA vers des valeurs positives, Figure b). Ainsi, un courant Na^+ aura une valeur négative (-15 pA par exemple) alors qu'un courant K^+ aura une valeur positive (+20 pA par exemple).



VOLTAGE IMPOSE / COURANT IMPOSE

Il y a deux grands modes d'enregistrement de l'activité neuronale : le mode voltage imposé et le mode courant imposé. L'expérimentateur choisit l'un ou l'autre mode en fonction de ce qu'il veut mesurer : mesure du courant en mode voltage imposé et mesure des changements de potentiel en mode courant imposé.

En **mode voltage imposé** (voltage clamp), le potentiel de toute la membrane (configuration cellule-entière) ou d'un petit morceau de membrane (configurations cellule-attachée ou outside-out) est maintenu constant à une valeur fixée par l'expérimentateur et appelée V_H (V pour potentiel et H pour *Hold*, « maintenir » en anglais). Pour maintenir ce potentiel, au cours de l'enregistrement, toute modification de sa valeur par rapport à la valeur fixée est immédiatement compensée par l'injection d'un courant positif ou négatif à travers l'électrode d'enregistrement. Si on utilise une métaphore liquide, c'est comme si on rajoutait constamment de l'eau dans un récipient percé pour que la hauteur d'eau soit toujours la même. Le mode voltage imposé permet de mesurer I (courant à travers toute la membrane neuronale) ou i (courant à travers un canal ionique), suivant la configuration de patch choisie. Les modifications de I ou i ne dépendent alors que de G ou γ (conductance totale ou unitaire), suivant la formule $I = GV_H$ ou $i = \gamma V_H$

En **mode courant imposé** (current clamp), l'expérimentateur mesure les variations du potentiel de membrane. Dans ce mode, la valeur du courant injecté à travers l'électrode est choisie par l'expérimentateur.

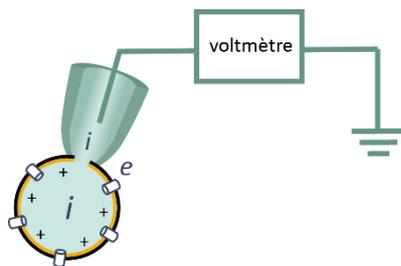
LE POTENTIEL DE REPOS

Lorsqu'on enregistre le potentiel de la membrane en configuration cellule entière et en mode courant imposé, on constate l'existence d'une différence de potentiel entre les deux faces de la membrane telle que la face interne est chargée plus négativement que la face externe. Cela est vrai pour toutes les cellules vivantes.

Définition : le potentiel de repos est le potentiel de membrane d'un neurone lorsqu'il n'émet pas de potentiels d'action. Il varie d'un neurone à un autre mais il est toujours négatif, de l'ordre de -80 à -50 mV.

Comment mesurer le potentiel de repos ?

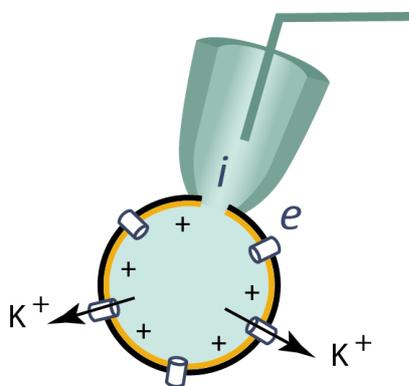
On mesure la différence de potentiel entre la pipette (qui mesure V_i) et la « terre », autre électrode qui baigne dans le milieu extracellulaire.



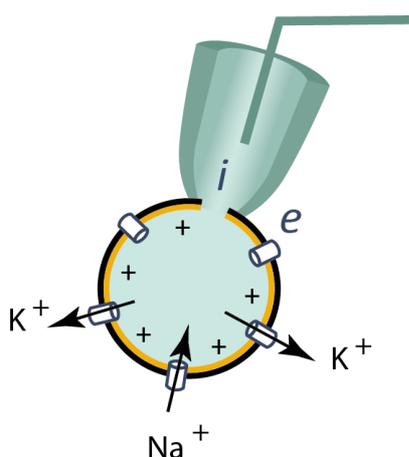
Mesure du potentiel de repos

On peut aussi mesurer la différence de potentiel entre les deux faces de la membrane, V_i et V_e .

Mécanismes ioniques à l'origine du potentiel de repos



Si uniquement des canaux K^+ sont ouverts dans la membrane, alors les ions K^+ vont sortir jusqu'à ce que le potentiel de la membrane atteigne E_K ($E_K = -90$ mV environ). A ce potentiel, il y a autant d'ions K^+ qui sortent que d'ions K^+ qui entrent. C'est un état stable. Le potentiel de la membrane va se stabiliser à cette valeur tant que d'autres types de canaux ioniques ne s'ouvrent pas.



Cependant, on constate très souvent que le potentiel de repos est plus dépolarisé que E_K , d'environ 20-30 mV ($V_{\text{repos}} = -60$ mV). Il y a toujours quelques canaux Na^+ et quelques canaux cationiques (Na^+/K^+) ouverts au potentiel de repos. Des ions Na^+ entrent ainsi dans les neurones au repos et tendent à faire évoluer le potentiel de membrane vers E_{cations} et E_{Na} (c'est-à-dire vers -30 mV et +60 mV environ), valeurs beaucoup plus dépolarisées que E_K . Pour cette



raison, la membrane au repos a un potentiel situé entre E_K et E_{Na} mais plus proche de E_K que de E_{Na} car à ces potentiels hyperpolarisés, beaucoup plus de canaux K^+ sont ouverts que de canaux perméables aux ions Na^+ .

Suivant la proportion de canaux K^+ ouverts par rapport aux canaux Na^+ et cationiques, le potentiel de repos prend des valeurs plus ou moins hyperpolarisées. Par exemple, les neurones du striatum du système nerveux central ont un potentiel de repos vers -80 mV car leur membrane renferme une forte proportion de canaux K^+ ouverts dans cette gamme de potentiels. D'autres neurones ont un potentiel de repos vers -60 mV voire même -50 mV car la proportion entre canaux K^+ et canaux Na^+ ouverts est différente.

Quels types de canaux sont ouverts au potentiel de repos ?

On les a longtemps appelés canaux de fuite, suggérant ainsi que ces canaux sont insensibles à tout facteur. En fait, ce sont des canaux qui peuvent être sensibles au voltage mais qui sont ouverts dans cette gamme de potentiels hyperpolarisés. Ce sont aussi des canaux K^+ sensibles à des facteurs chimiques (tension en oxygène, pH), biochimiques (protéines G), mécaniques (étirement de la membrane), etc.

Les appeler canaux de fuite n'est pas juste car cela laisse supposer que ce sont des « protéines-trous » de la membrane qui ne seraient soumises à aucune régulation.

En résumé, le potentiel de repos d'un neurone a une valeur qui ne correspond ni exactement à E_K (bien qu'elle en soit proche), ni à $E_{cations}$, ni à E_{Na} . Sa valeur dépend de la proportion de canaux K^+ , Na^+ et cationiques ouverts dans ces gammes de potentiels hyperpolarisés exprimés par le neurone.

Toutefois, pour certains neurones qui sont continuellement actifs, cette notion de potentiel de repos (c'est-à-dire d'un potentiel de membrane stable en état d'inactivité) est une notion abstraite : leur membrane traverse très brièvement des périodes d'inactivité pendant laquelle leur potentiel de membrane est instable. Pour ces neurones, il est très difficile de mesurer un potentiel de repos.

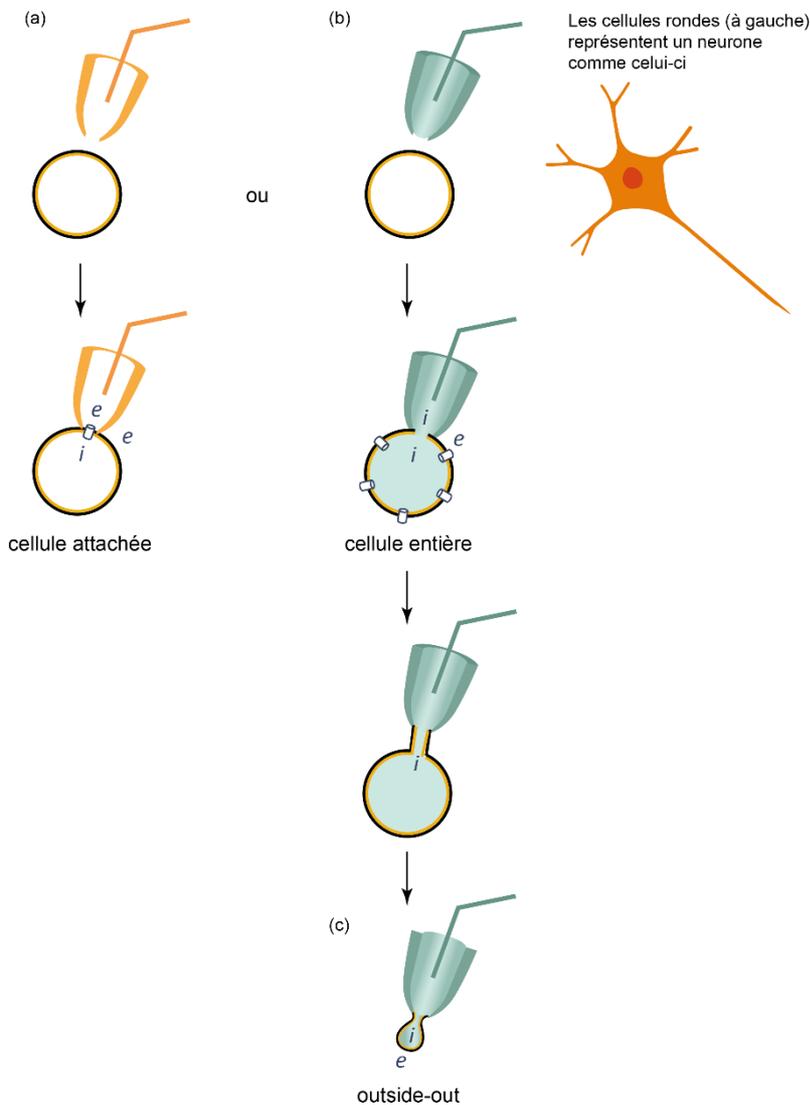


CONFIGURATIONS DE PATCH

Patch signifie morceau. Dans le jargon des neurophysiologistes, il s'agit d'un morceau de membrane neuronale. Les chercheurs ont inventé une technique dite de patch clamp, permettant d'enregistrer le courant à travers un seul canal ionique, quelques canaux ioniques ou bien à travers tous les canaux ioniques ouverts de la membrane d'un neurone. Pour arriver à ces différentes possibilités d'enregistrement, le chercheur utilise différentes configurations de patch.

Nous n'expliquerons ici que les trois configurations utilisées dans le cours : les configurations

cellule-attachée,
cellule entière
et patch excisé « outside-out ».





La configuration cellule attachée (attachée à la pipette - figure a)

Tout d'abord, la pipette est remplie d'un liquide extracellulaire (e). Une pression positive est appliquée dans l'électrode à l'aide d'une seringue reliée à l'électrode de telle sorte que le liquide intrapipette a tendance à sortir de la pipette. L'électrode est ensuite approchée du soma d'un neurone. Lorsque l'électrode touche la membrane, la pression positive est retirée afin d'attirer la membrane vers l'embouchure de la pipette. On attend sans bouger la pipette; le scellement (seal en anglais) se fait entre les parois de la pipette et la membrane du soma. On peut mesurer la résistance de ce scellement en appliquant un échelon de courant de faible amplitude dans la pipette. Comme $U = RI$, on peut mesurer la résistance du scellement.

En effet si on applique un saut de potentiel ΔU à travers la pipette, on enregistre en réponse un changement de courant ΔI tel que $\Delta U = R \Delta I$.

Pour que le scellement soit parfait il faut que la résistance du scellement soit de l'ordre du gigaohm ($10^9 \text{ Ohms} = 1 \text{ G}\Omega$). Ainsi la membrane du neurone est collée à l'embouchure de la pipette. La pipette peut être placée au niveau du soma mais aussi au niveau d'une dendrite. La configuration cellule-attachée en mode voltage imposé permet d'enregistrer le courant unitaire à travers un ou les quelques canaux ouverts situés dans le morceau (patch) de membrane situé sous la pipette, tout en conservant le milieu intracellulaire du neurone. On n'utilise pas cette configuration en mode courant imposé.

La configuration cellule entière (figure b)

La configuration cellule entière veut dire que l'électrode d'enregistrement est en continuité avec toute la membrane du neurone. Pour y arriver, on remplit la pipette d'un liquide qui va devenir le liquide intracellulaire du neurone (i). On part d'une configuration cellule-attachée avec un scellement de l'ordre du $\text{G}\Omega$. Ensuite, on applique une succion à l'intérieur de la pipette (pression négative) pour attirer le petit morceau de membrane qui bouche l'ouverture de la pipette vers l'intérieur de la pipette. On se rend compte que ce morceau de membrane a disparu car la résistance d'accès est beaucoup plus faible (la pipette n'est plus bouchée). Dans la configuration cellule entière, le milieu intrapipette remplace petit à petit le milieu intracellulaire. Cette configuration en mode voltage imposé permet d'enregistrer le courant qui passe à travers tous les canaux ioniques ouverts de la membrane neuronale. Dans cette configuration, on enregistre un courant total. En mode courant imposé, elle permet de mesurer les changements de potentiel de toute la membrane neuronale. La pipette peut être placée au niveau du soma mais aussi au niveau d'une dendrite.

La configuration outside-out (figure c)

La configuration outside-out (littéralement « extérieur à l'extérieur ») veut dire que l'électrode d'enregistrement enregistre l'activité d'un petit morceau de membrane dont la face externe est en contact avec le milieu extracellulaire d'enregistrement. Quand on veut enregistrer un canal situé dans un morceau de membrane somatique, tout commence exactement comme pour un enregistrement en configuration cellule-entière. Une fois cette configuration obtenue, on remonte tout doucement la pipette afin d'étirer la membrane du soma (figure c). A un moment, un morceau va se détacher et se refermer sur lui-même. On se rend compte que la configuration en patch excisé est obtenue car la résistance de la



membrane devient très faible. On peut aussi obtenir des patch outside-out à partir de la membrane de dendrites. Cette configuration permet d'enregistrer en mode voltage imposé le courant unitaire passant à travers un canal unique. Comparé à la configuration cellule-attachée, la configuration outside-out permet de changer le milieu intracellulaire du neurone.

En résumé

Dans les deux configurations cellule-entière et outside-out, le milieu intracellulaire est le milieu intrapipette et le milieu extracellulaire est le milieu du bain. Aucun des deux milieux n'est exactement celui des neurones enregistrés.

En configuration cellule attachée, le milieu intracellulaire reste intact et le milieu extracellulaire est le milieu du bain.