

Passage de molécules et canaux transmembranaires

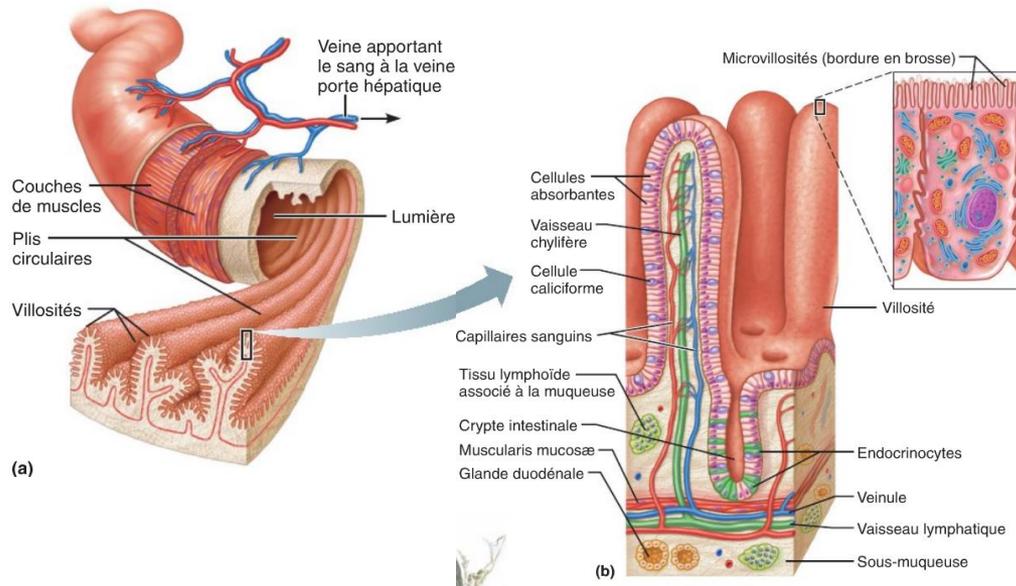
Romain Perrier

MCU physiologie

INSERM UMR-S1180 Signalisation et physiopathologie cardiovasculaire

HM1-3^{ème} étage

romain.perrier@universite-paris-saclay.fr



Ingestion nutriments, médicaments...

Absorption au niveau de l'intestin → franchissement de la barrière épithéliale de l'intestin → circulation sanguine → franchissement de la barrière endothéliale des capillaires → distribution à l'organisme

Définition

Epithélium = Tissu épithélial (épi : sur, dessus)

Feuillet de cellules

- recouvre la surface d'un organisme
- tapisse la cavité d'un organe

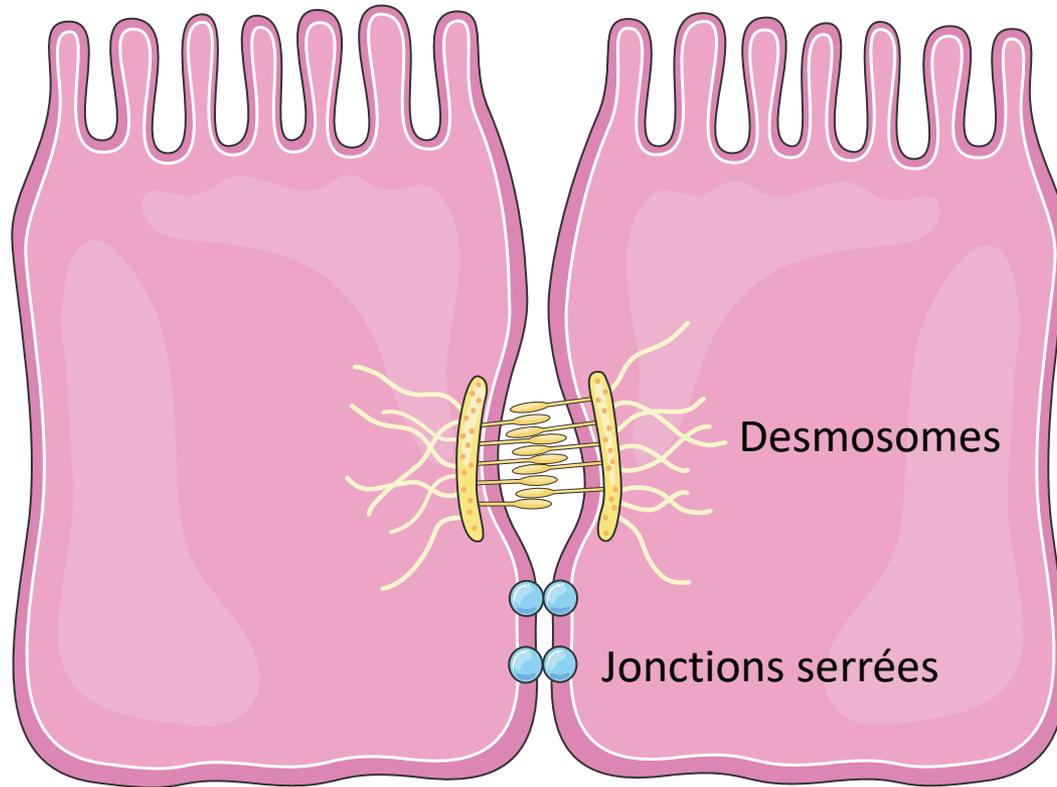
➤ **Epithélium de revêtement**

- couche externe de la peau
- cavités du cœur et des systèmes respiratoire et digestif
- paroi interne des vaisseaux sanguins et organes abdominaux

➤ **Epithélium glandulaire**

Epithélium : - interface, frontière entre des milieux différents
 - traversé par toute substance absorbée ou émise par
l'organisme

Jonctions cellulaires



Jonctions serrées limitent la diffusion paracellulaire

Fonctions

Séparation intérieur organisme / milieu externe (épiderme)

Protection contre les lésions mécaniques ou chimiques, invasion bactérienne (épithélium peau)

Absorption (épithélium du tube digestif, épithélium du rein)

Filtration (épithélium rein)

Sécrétion (épithélium rein, épithélium glandulaire)

Excrétion (épithélium du rein)

Réception sensorielle, terminaison nerveuse (stimulus à la surface de la peau, pression, chaleur...) (épithélium peau)

Endothélium = Epithélium simple squameux

➤ Description :

Couche unique de cellules aplaties, noyau discoïde = le + simple des épithélia

➤ Fonction :

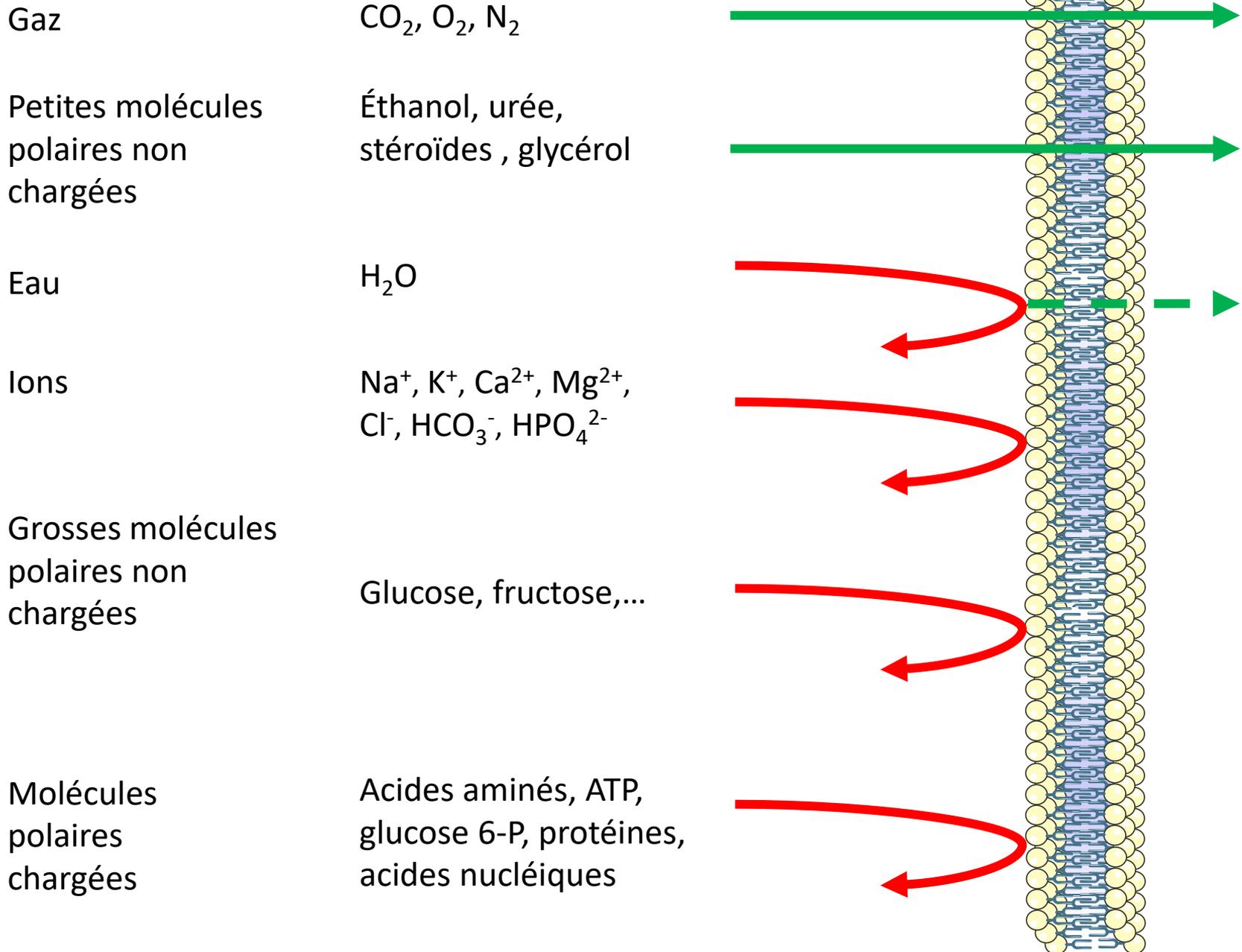
Passage des substances : Capillaires fenestrés :
Absorption, sécrétion, filtration, diffusion échange gazeux, échanges nutriments et déchets
Très mince donc pas de rôle protecteur
Barrière Hémato-encéphalique : cellules endothéliales reliées entre elles par des jonctions serrées

➤ Localisation :

Revêtement interne des **vaisseaux sanguins**, des **vaisseaux lymphatiques** et cavités du **cœur** = **endothélium** (= « revêtement interne »)

TYPES DE VAISSEAUX*	DIAMÈTRE (D) DE LA LUMIÈRE ET ÉPAISSEUR (E) DE LA PARI (VALEURS MOYENNES)	COMPOSITION RELATIVE			
		Endothélium	Tissu élastique	Muscle lisse	Tissu fibreux (collagène)
 Arterie élastique	D : 1,5 cm E : 1,0 mm				
 Arterie musculaire	D : 6,0 mm E : 1,0 mm				
 Artériole	D : 37,6 µm E : 6,0 µm				
 Capillaire	D : 9,0 µm E : 0,5 µm				
 Vénule	D : 20,6 µm E : 1,0 µm				
 Vaine	D : 5,0 mm E : 0,5 mm*				

Perméabilité bicouche lipidique



Diffusion : → simple

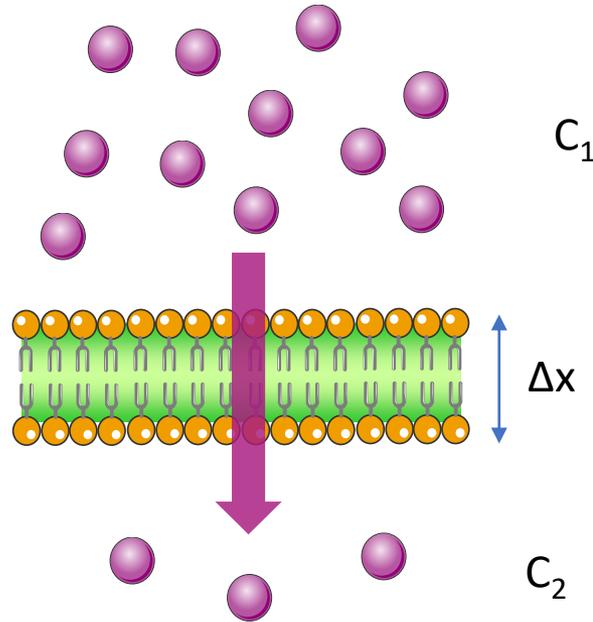
→ facilité : → pores (plutôt non sélectifs)
→ canaux (plutôt sélectifs)

Transporteurs : → passifs

→ actifs : → primaires (ATP)
→ secondaires (gradients
électrochimiques)

Principe de diffusion : loi de Fick

$$J_d = \frac{dn}{dt} = -D \cdot \frac{dC_P}{dx}$$

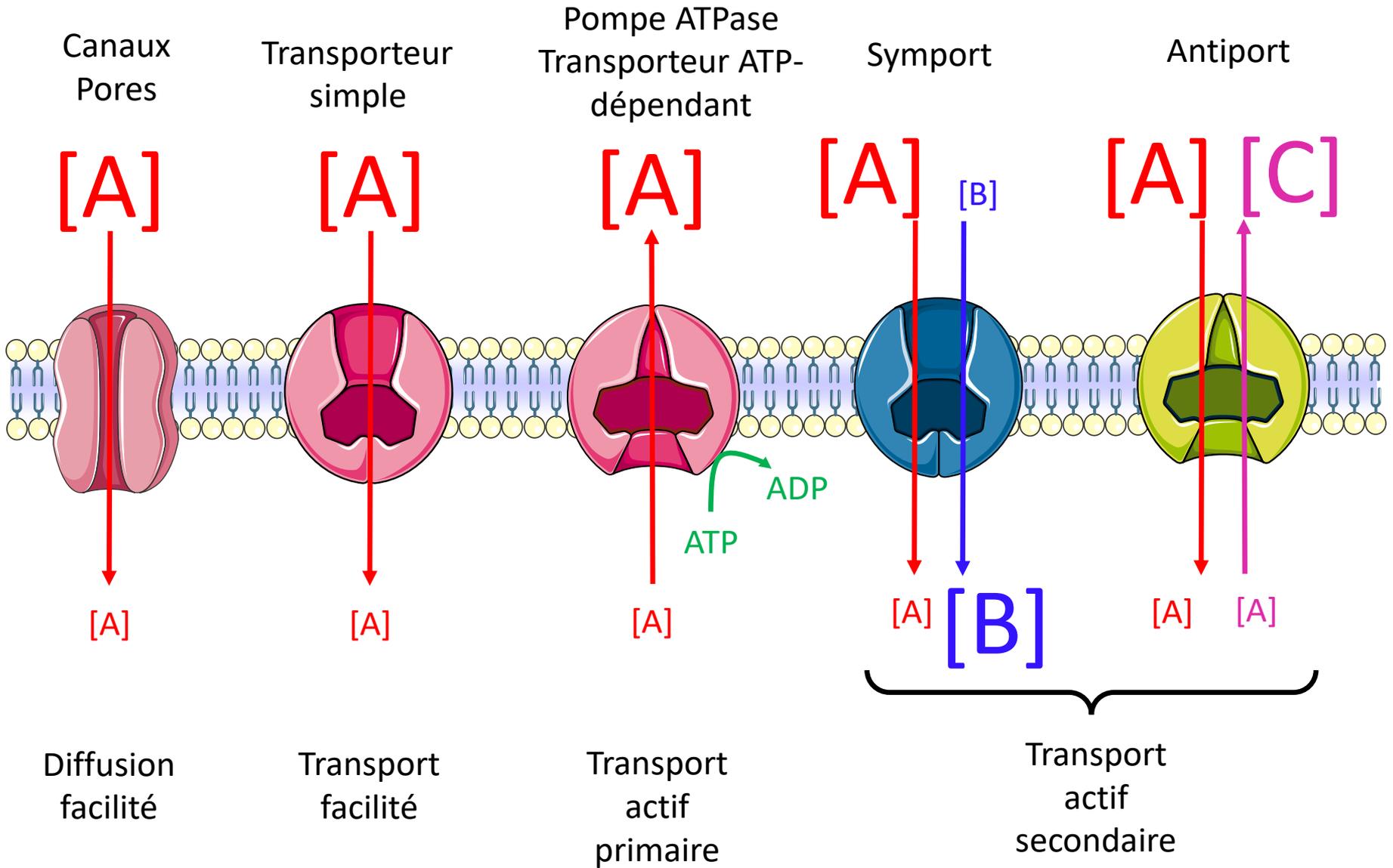


J_d : débit de matière à travers la membrane

D : coefficient de diffusion de soluté dans la membrane

Pour une molécule électriquement neutre, la diffusion se fait du plus concentré vers le moins concentré

Equilibre quand $C_1 = C_2$



Diffusion facilitée : les
canaux ioniques et les pores

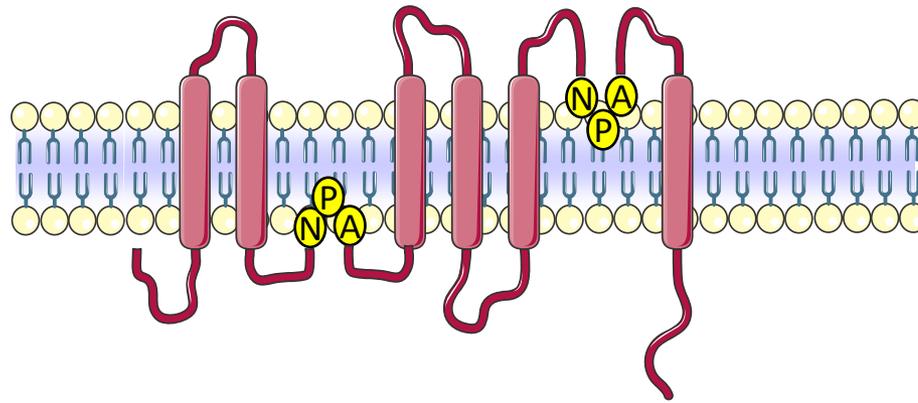
- ❖ Certains protéines agissent comme des pores passifs permettant la diffusion des ions (canaux ioniques) ou de petites molécules non ionisées (eau, nucléotides, polypeptides) avec une capacité de 10^7 à 10^8 molécules par seconde et selon leur gradient
- ❖ Ne demande pas d'énergie car l'électrolyte suit un gradient de concentration (molécule non chargée) ou un gradient ionique (molécules chargées)
- ❖ Pas d'interaction molécule- canal : pas de saturation

Les aquaporines

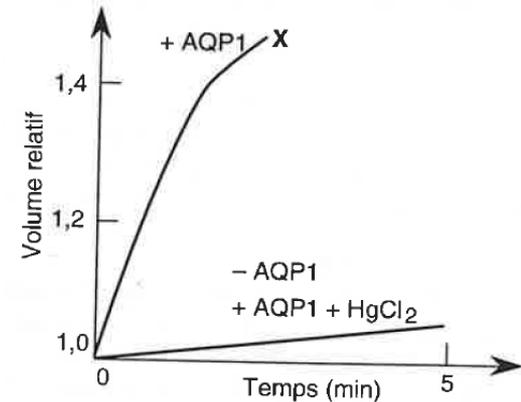
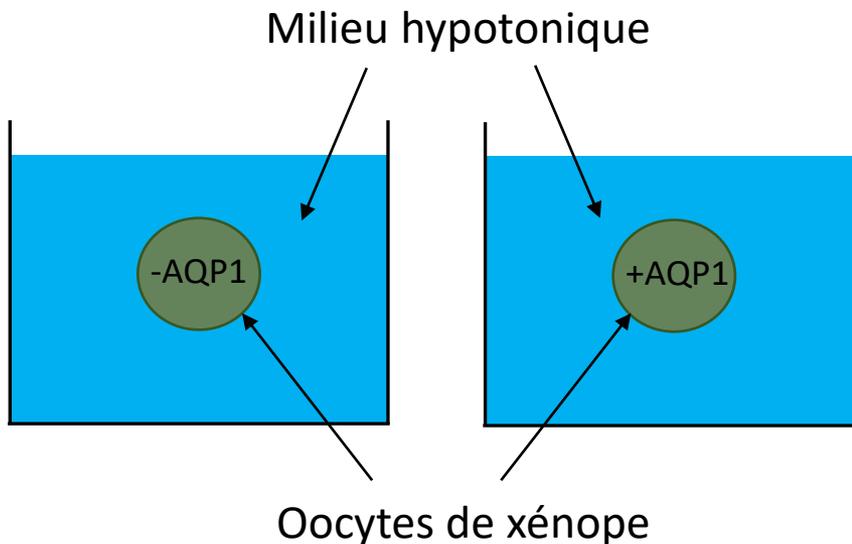
nom abrégé*	nom initialement donné	années de découverte	localisation du gène codant (humain)	nombre d'acides aminés	principales localisations corporelles	principales actions	conséquences d'une insuffisance ou d'une surcharge
AQP0	MIP26 (<i>major intrinsic protein of 26 kDa</i>)	1984 (bovin) 1988 (rat) 1991 (humain)	12q13	263	yeux (cristallins)		cataracte
AQP1	CHIP28 (<i>channel-forming integral membrane protein of 28 kDa</i>)	1991 (humain) 1992 (rat, souris)	7p14	269	reins, érythrocytes, capillaires, cerveau, poumons	contribue à l'évacuation des déchets par l'urine, à la formation du liquide céphalorachidien	concentration incorrecte de l'urine
AQP2	WCH-CD (<i>water channel protein for renal collecting duct</i>)	1993 (rat) 1994 (humain, souris)	12q13	271	reins, testicules	concentre l'urine dans les reins	diabète insipide néphrogénique
AQP3	GLIP (<i>glycerol-transporting integral protein</i>)	1994 (rat) 1995 (humain) 1998 (souris)	9p13	285	reins, épithélium des voies respiratoires, érythrocytes	maintient une hydratation convenable de la peau	polyurie modérée
AQP4	MIWC (<i>mercury insensitive water channel</i>)	1994 (rat) 1995 (humain) 1996 (souris)	18q11.2-q12.1	301	reins, cerveau, épithélium des voies respiratoires	assiste l'hydraulique cérébrale	œdème cérébral, polyurie
AQP5		1995 (rat) 1996 (humain)	12q13	282	estomac, duodénum, pancréas, poumons, glandes salivaires, yeux, glandes lacrymales, oreilles internes	sécrétion de la salive	salive diminuée et visqueuse (souris)
AQP6	WCH3 (<i>water channel protein 3</i>), hKID (<i>human kidney water channel</i>)	1996 (humain) 1999 (rat)	12q13	276	reins, glandes parotides	canal pour les anions, sécrétions des glandes parotides	
AQP7		1997 (rat) 1998 (humain, souris)	9p13	269	reins, testicules, adipocytes, cœur	participe au transport du glycérol et à la formation de cellules adipeuses par accumulation de triglycérides	
AQP8		1997 (rat, souris) 1998 (humain)	16p12	263	reins, testicules, épидидyme, glandes salivaires, intestin, foie, pancréas, côlon, cœur, placenta		
AQP9		1998 (humain, rat)	15q22.1-q22.2	295	reins, leucocytes, poumons, cerveau, épидидyme, foie, testicules	métabolisme énergétique du cerveau	
AQP10		2001 (humain)	1q22	264	petit intestin (jéjunum, duodénum)	rôle dans la digestion	
AQP11	AQPX1	2000 (humain)	11q13.4	271	reins, cerveau, pancréas		polykystose rénale (souris)
AQP12	AQPX2	2000 (humain)	2q37.3	295	pancréas	sécrétion d'enzymes digestives	

* En romain gras, les aquaporines strictes ; en italique maigre, les aquaglycéroporines.

Transport de l'eau et aquaporines



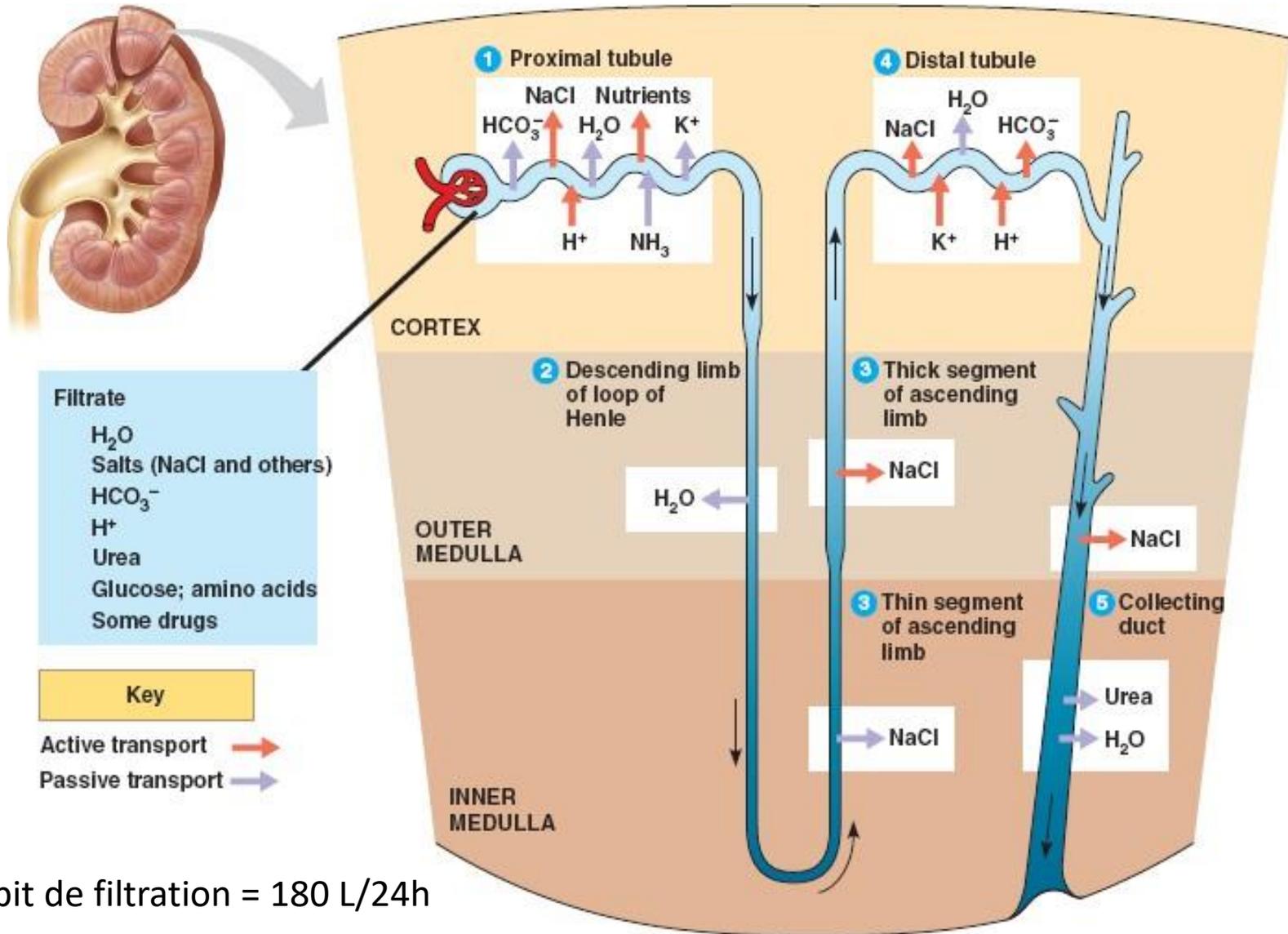
NPA : Asparagine-Proline-Alanine → Pore
Homotétramère



Osmose : l'eau diffuse du compartiment hypotonique vers le compartiment hypertonique

Réabsorption de l'eau au niveau des tubules rénaux

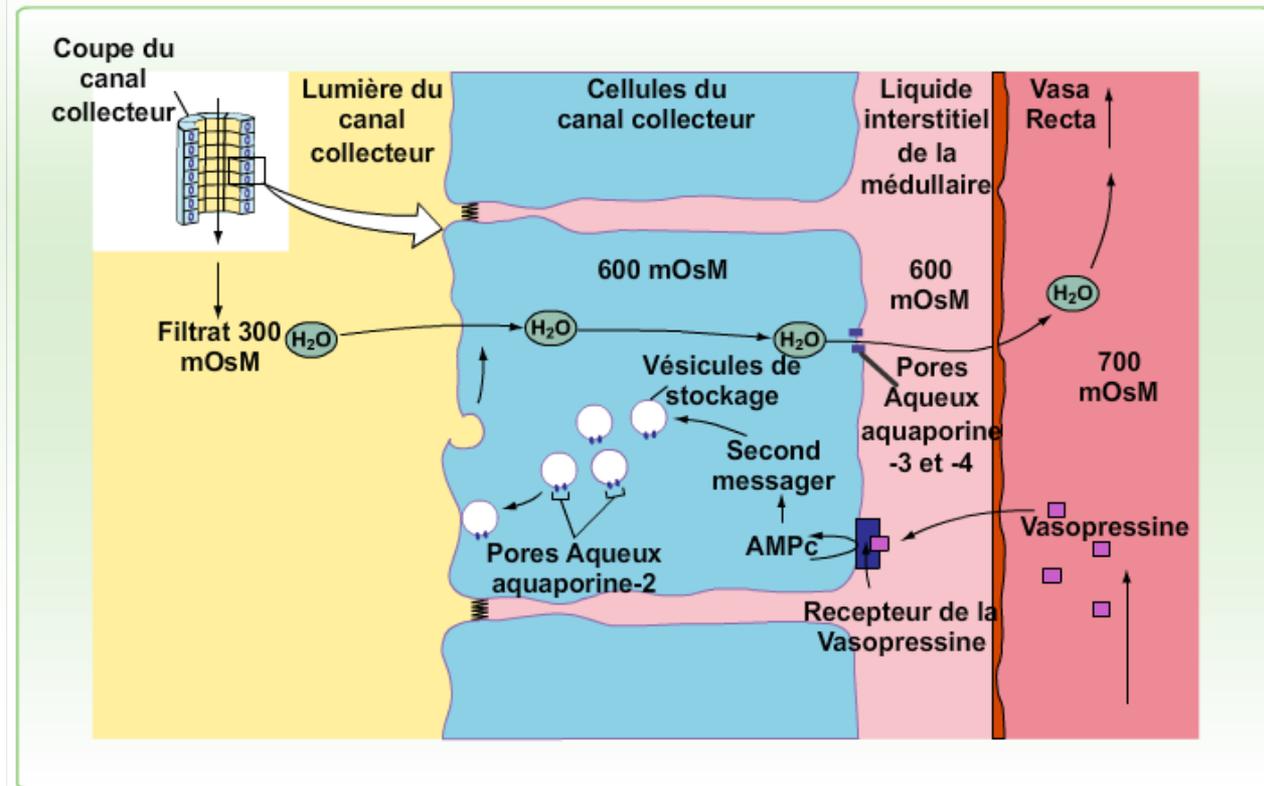
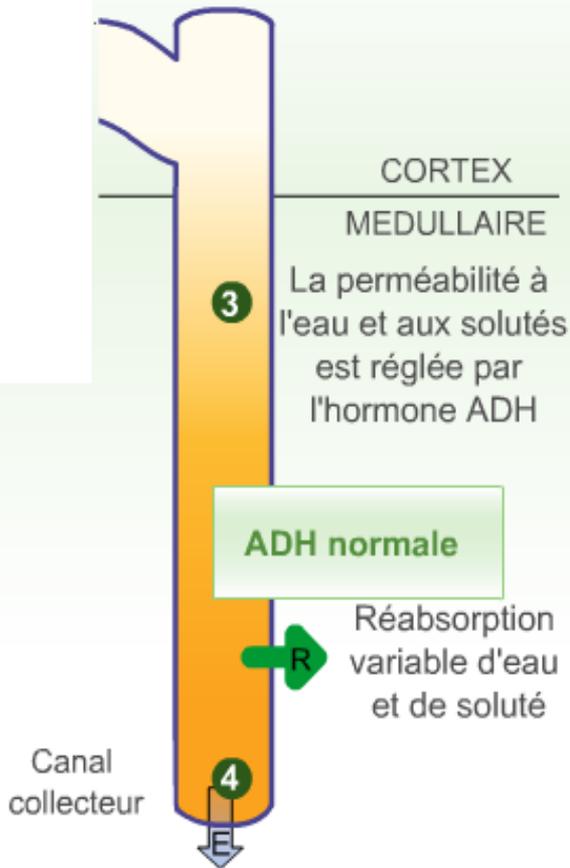
Néphron : unité fonctionnelle du rein



Débit de filtration = 180 L/24h

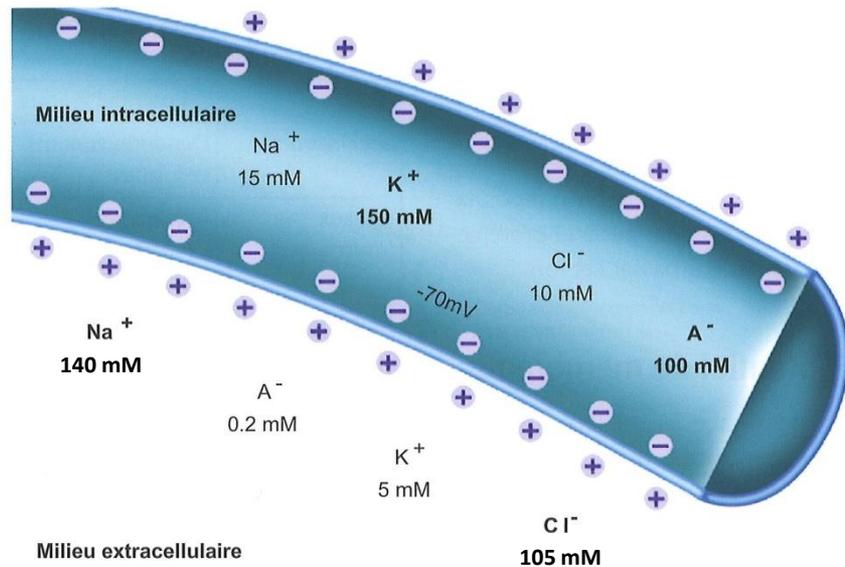
Le canal collecteur

Tubule distal



- La perméabilité de sa paroi à l'eau est conditionnée par la présence de vasopressine ou ADH (hormone antidiurétique) : ADH augmente AQP2 au niveau de la lumière
- Pathologie associée : diabète insipide : eau non réabsorbée

Le transport des ions



- Distribution inégale des ions** de part et d'autre de la membrane :
- milieu intracellulaire riche en K^+
 - milieu extracellulaire riche en Na^+ (et en Cl^-)



Déséquilibre électrique

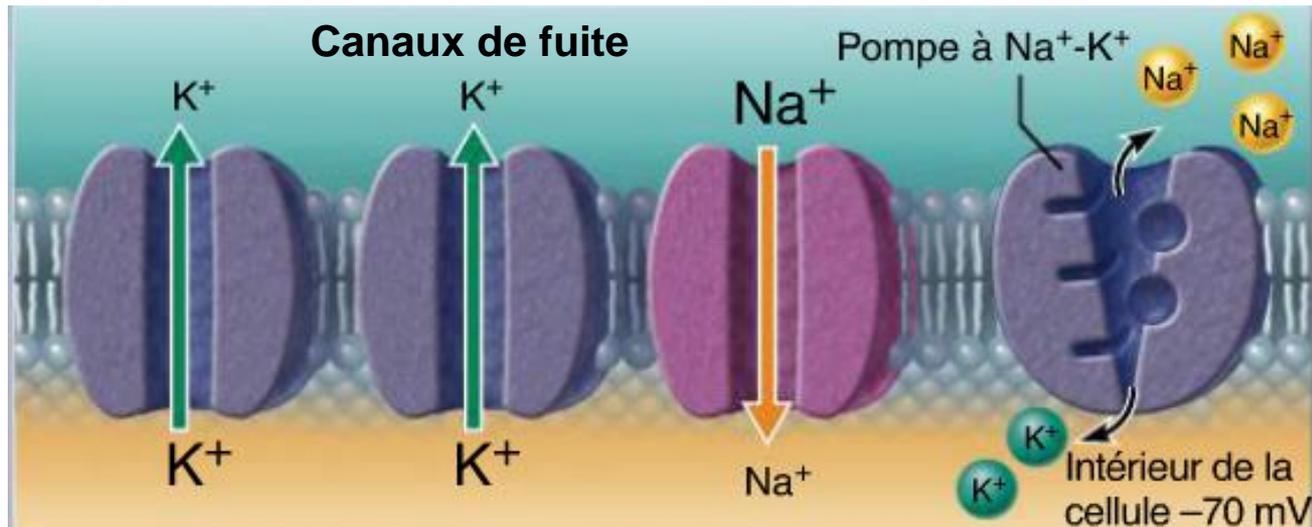


Potentiel de membrane

C'est la différence de potentiel qui existe entre l'intérieur et l'extérieur d'une cellule au niveau de la membrane.

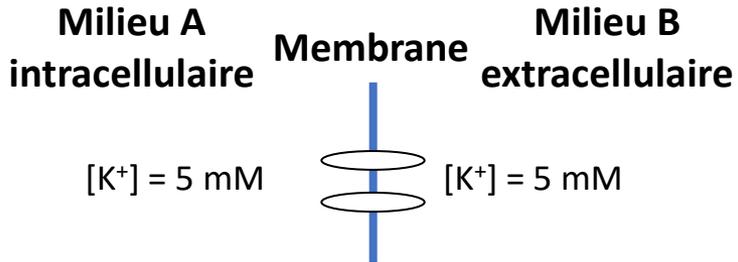
	Concentration intracellulaire (mM)	Concentration extracellulaire (mM)
K^+	150	4,5
Na^+	15	140
Cl^-	10	105
Ca^{2+}	10^{-4}	1

- Distribution inégale des ions de part et d'autre de la membrane
 - à la **perméabilité sélective** de la membrane à certains de ces ions
 - ↔ présence de **canaux ioniques de fuite**
 - **sélectifs** à un ion donné, toujours ouverts
 - ouverture → passage des ions selon leur gradient de concentration
 - à des **différences de concentration** d'ions spécifiques
 - ↔ activité de différents **transporteurs actifs d'ions**
en particulier la pompe Na-K ATPase



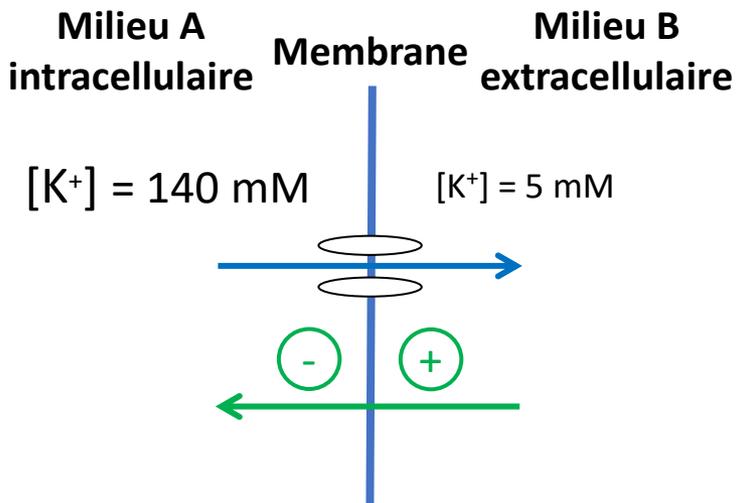
2. Définition du potentiel de membrane

- Genèse du potentiel de membrane :



$$[K^+]_{\text{int}} = [K^+]_{\text{ext}}$$

- pas de différence de potentiel électrique (0 mV)



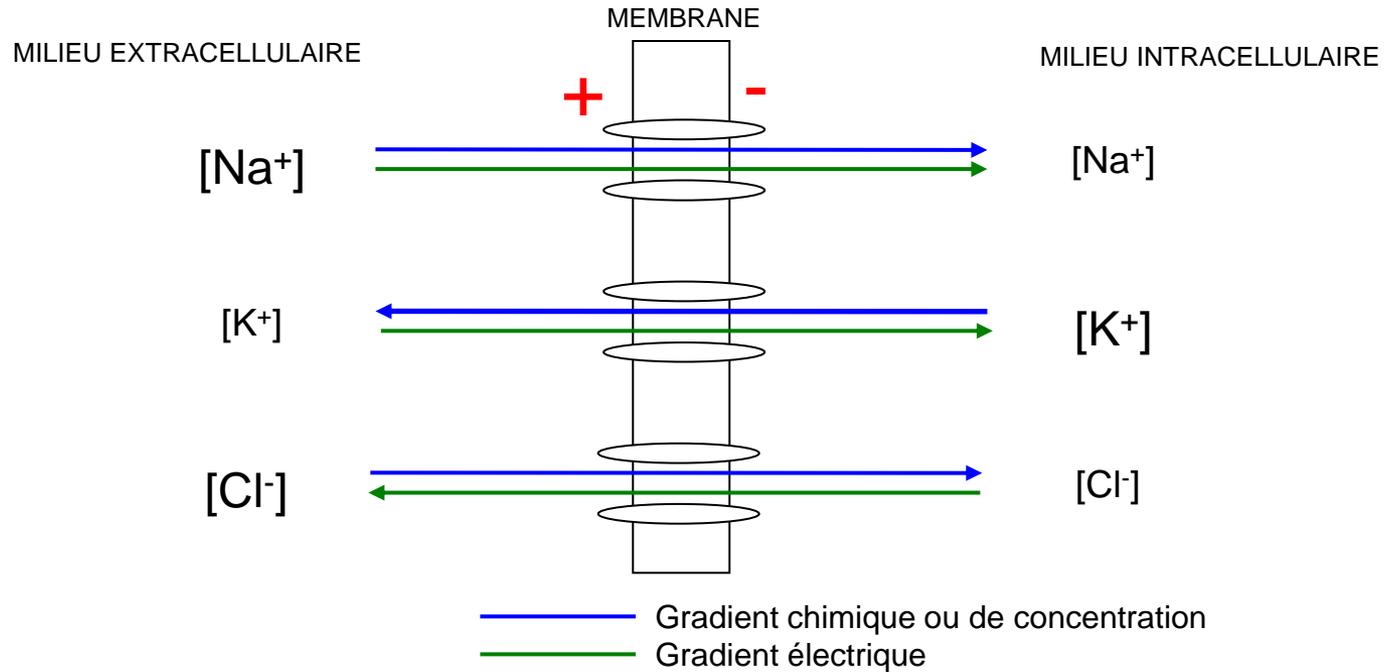
$$[K^+]_{\text{int}} > [K^+]_{\text{ext}}$$

- déplacement des ions K^+ de A vers B selon le **gradient de concentration** avec un déplacement de charges positives

- création d'un **gradient électrique** (potentiel électrique milieu A négatif / milieu B) qui s'oppose à la persistance du flux de K^+

- **arrêt du flux des ions K^+** : parfaite égalité entre deux forces opposées, le gradient de concentration (les ions K^+ de A vers B) et le gradient électrique (empêche les ions K^+ de franchir la membrane)

- **potentiel d'équilibre électrochimique E** des ions K^+



Équation de Nernst

Elle prédit le potentiel d'équilibre pour toute espèce ionique, c'est à dire le potentiel électrique nécessaire pour contrebalancer le gradient de concentration de part et d'autre de la membrane, si bien que le flux passif est nul.

2. Définition du potentiel de membrane

- **Potentiel d'équilibre électrochimique E d'un ion :**

Equation de Nernst:

$$E_{\text{ion}} = RT/zF \times \ln [\text{ion}]_e/[\text{ion}]_i$$

Soit:

$$E_{\text{ion}} = 2,3RT/zF \times \log [\text{ion}]_e/[\text{ion}]_i$$

$$E_{\text{ion}} = 61,5/z \times \log [\text{ion}]_e/[\text{ion}]_i \text{ (pour } T = 37^\circ\text{C)}$$

R = constante des gaz parfaits (8315 J·mol⁻¹·K⁻¹)

T = température absolue (T°C + 273)

F = constante de Faraday (96485 C·mol⁻¹)

z = charge électrique de l'ion

- **Potentiel d'équilibre pour les principaux ions :**

	Concentration intracellulaire (mM)	Concentration extracellulaire (mM)	E (mV)
K ⁺	150	4,5	- 94
Na ⁺	15	140	+ 60
Cl ⁻	10	105	- 63
Ca ²⁺	10 ⁻⁴	1	+100

Potentiel de membrane au repos proche du potentiel d'équilibre du potassium : il y a majoritairement des canaux de fuite potassiques et très peu sodiques

Les canaux ioniques voltage-dépendants

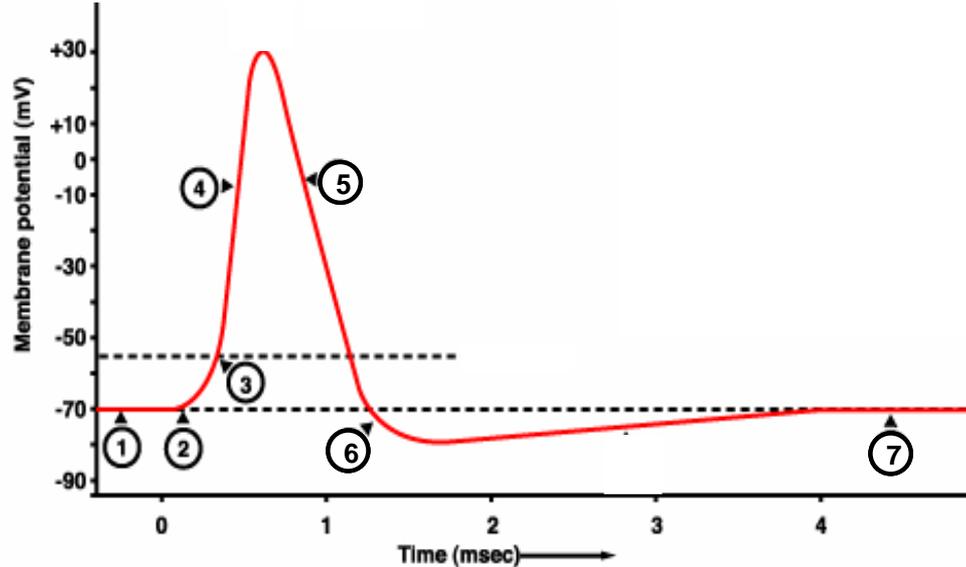
Canaux dont le fonctionnement (ouverture, fermeture et inactivation) est commandé par des variations du potentiel de membrane

Présents principalement dans les cellules excitables : neurones, cellules musculaires striées (squelettiques et cardiaques), cellules musculaires lisses, ...

Impliqués :

- Dans la transmission du message nerveux sous forme de potentiels d'action
- Dans le couplage excitation-contraction des différents muscles
- Dans les phénomènes d'exocytose
- ...

Potentiel d'action d'un neurone



1 : Potentiel de membrane au repos ($E_r = -70\text{mV}$)

2 : Dépolarisation due au stimulus permettant d'atteindre le seuil d'excitation

3 : Potentiel de membrane seuil (seuil d'excitation)

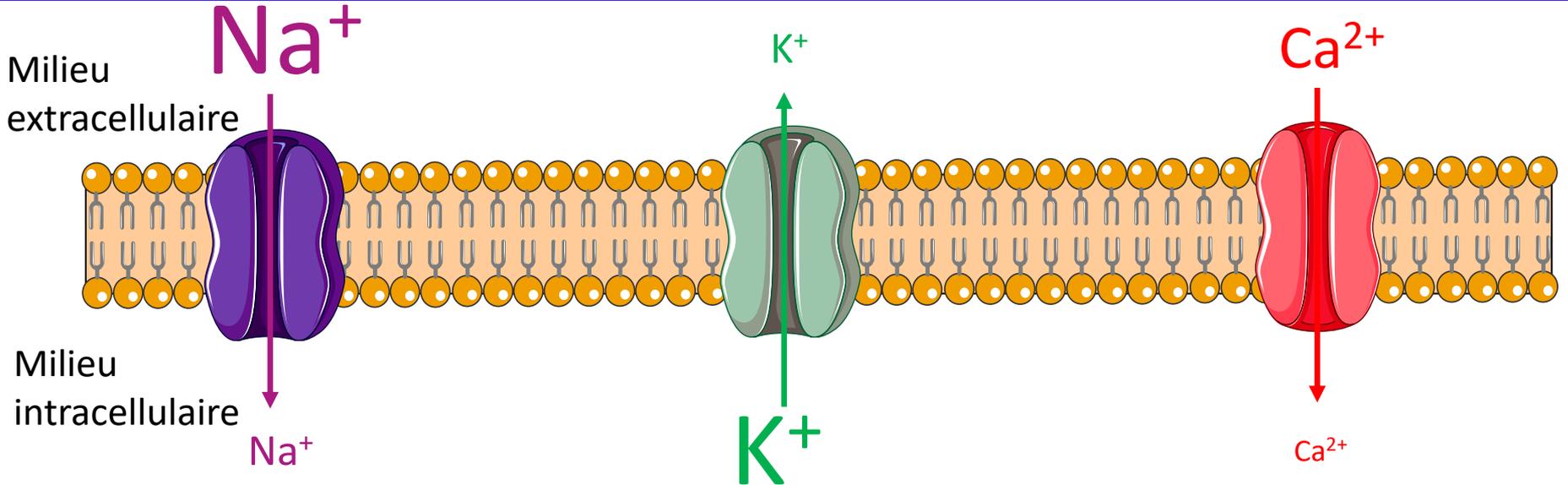
4 : Phase de dépolarisation : le potentiel de membrane s'élève, il part de -55 mV , monte jusqu'à 0mV et atteint enfin $+30\text{mV}$ (inversion de la polarité de la membrane)

5 : Phase de repolarisation : le potentiel de membrane diminue, il passe de $+30\text{mV}$ à 0 mV puis à -70mV

6 : Phase d'hyperpolarisation : le potentiel de membrane devient inférieur au potentiel de repos, il passe de -70mV vers environ -90mV

7 : Retour du potentiel de membrane à sa valeur de repos -70mV

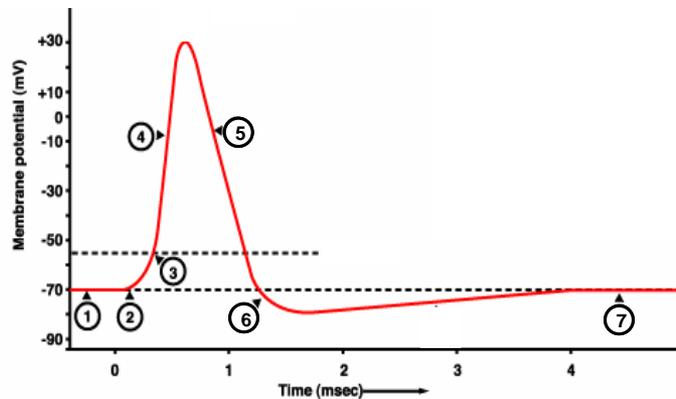
Canaux voltage-dépendants et potentiel d'action



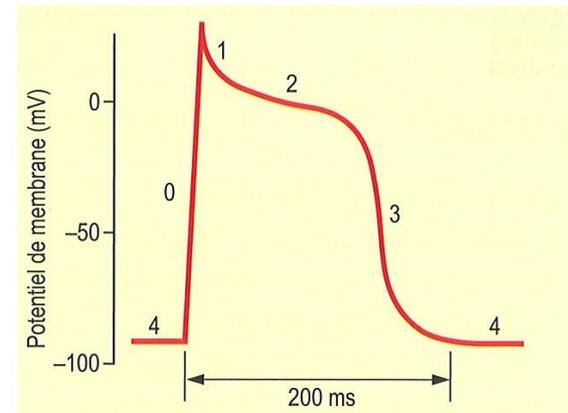
Canaux sodiques
voltage-dépendants :
dépolarisation

Canaux potassiques
voltage-dépendants :
repolarisation et
hyperpolarisation

Canaux calciques
voltage-dépendants :
dépolarisation



neurone



Cœur

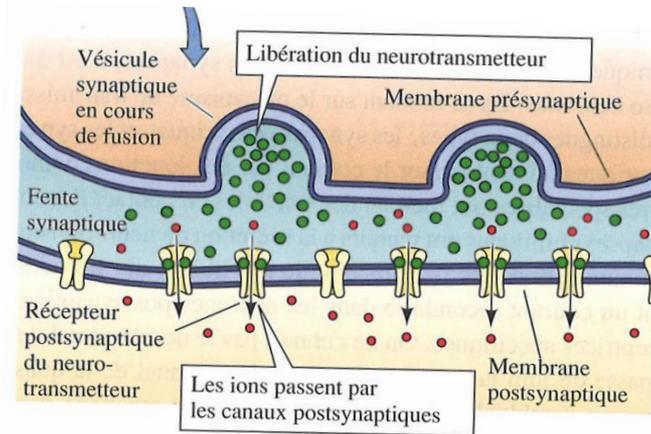
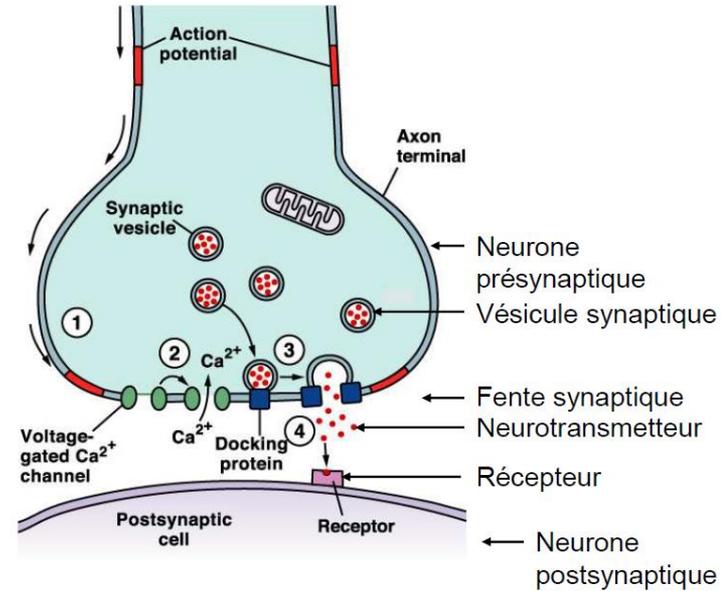
Canaux ligand-dépendants

Canaux dont l'ouverture est contrôlée par la fixation d'un ligand

On peut les retrouver au niveau de la membrane post-synaptique d'une membrane chimique

Récepteur nicotinique à l'acétylcholine : flux entrant de Na^+ → dépolarisation

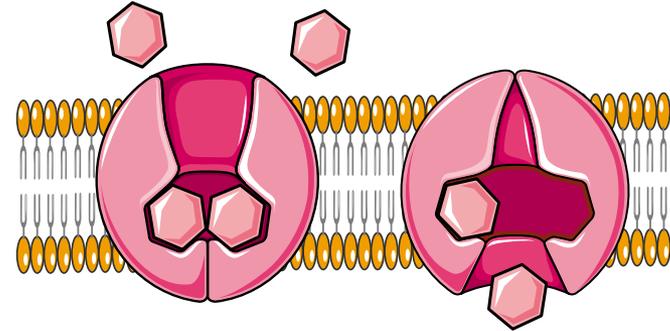
Récepteur du GABA (acide γ -amino butyrique) : flux entrant de Cl^- → hyperpolarisation



Les transporteurs

❖ Interaction molécule-transporteur

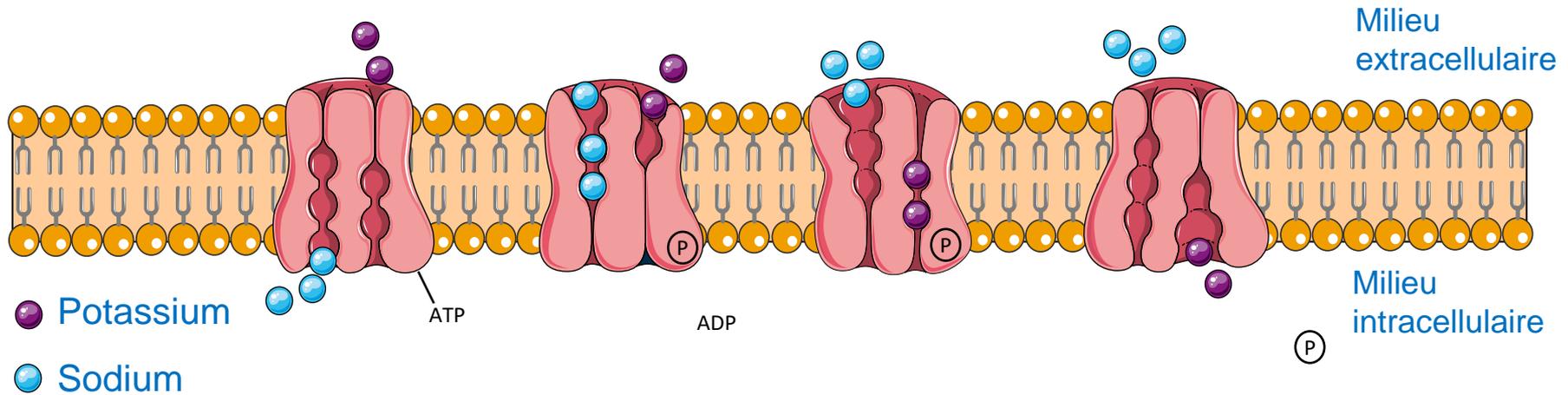
❖ Phénomène saturable



❖ Transport des glucoses, acides aminés, nutriments, médicaments, ...

❖ Création des gradients électrochimiques : pompe Na/K ATPase, pompe à proton

Transports actifs primaires : la pompe Na/K ATPase



	Concentration intracellulaire (mM)	Concentration extracellulaire (mM)
K ⁺	150	4,5
Na ⁺	15	140

Maintien du gradient électrique : essentiel pour l'activité électrique des cellules excitables

Le gradient électrochimique de Na⁺ est utilisé par divers transporteurs actifs secondaires pour le transport de solutés et nutriments (sucres, acides aminés)

Transport du glucose au niveau de l'épithélium intestinal

Digestion amidon et disaccharides → glucose, fructose, galactose

Absorption du glucose met en jeu de différents types de transport au niveau de l'épithélium intestinal:

- transport actif primaire pompe Na/K ATPase
- transport actif secondaire SGLT1 (transporteur sodium/glucose) au niveau apical
- transport facilité GLUT2 (transporteur du glucose) au niveau basolatéral

Glut 1 : cellules gliales, cellules endothéliales, tissus fœtaux ($K_m=1,5$ mM)

Glut 2 : (faible affinité) pôle basal de l'entérocyte, pôle basal des cellules du tube

contourné proximal du rein , cellules bêta pancréatiques, hépatocytes
($K_m= 15$ mM)

Glut 3 : neurones, placenta, testicules ($K_m= 1$ mM)

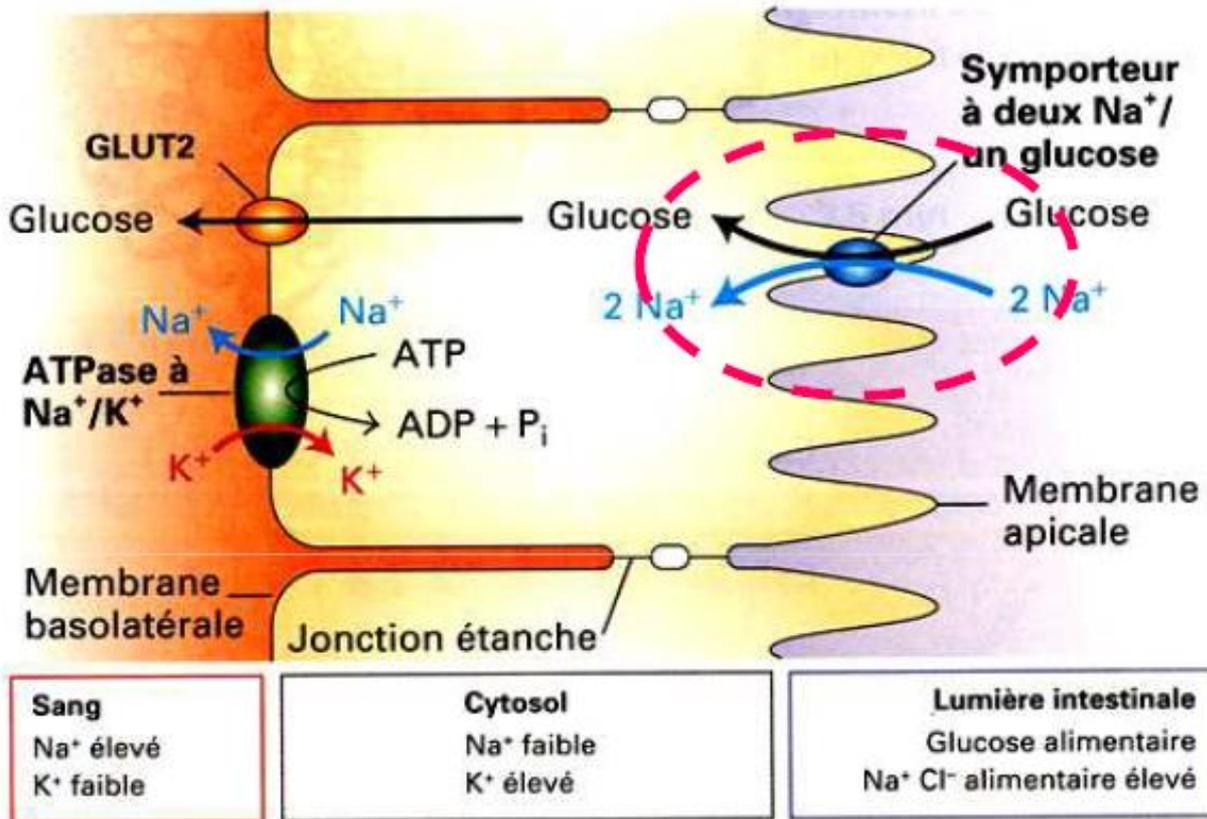
Glut 4 : muscles squelettiques et cardiaques, cellules adipeuses (insulino-sensible) ($K_m= 5$ mM)

Glut 5 : (fructose) pôle apical de l'entérocyte, spermatozoïdes, tissus insulino-sensibles,
cerveau, reins

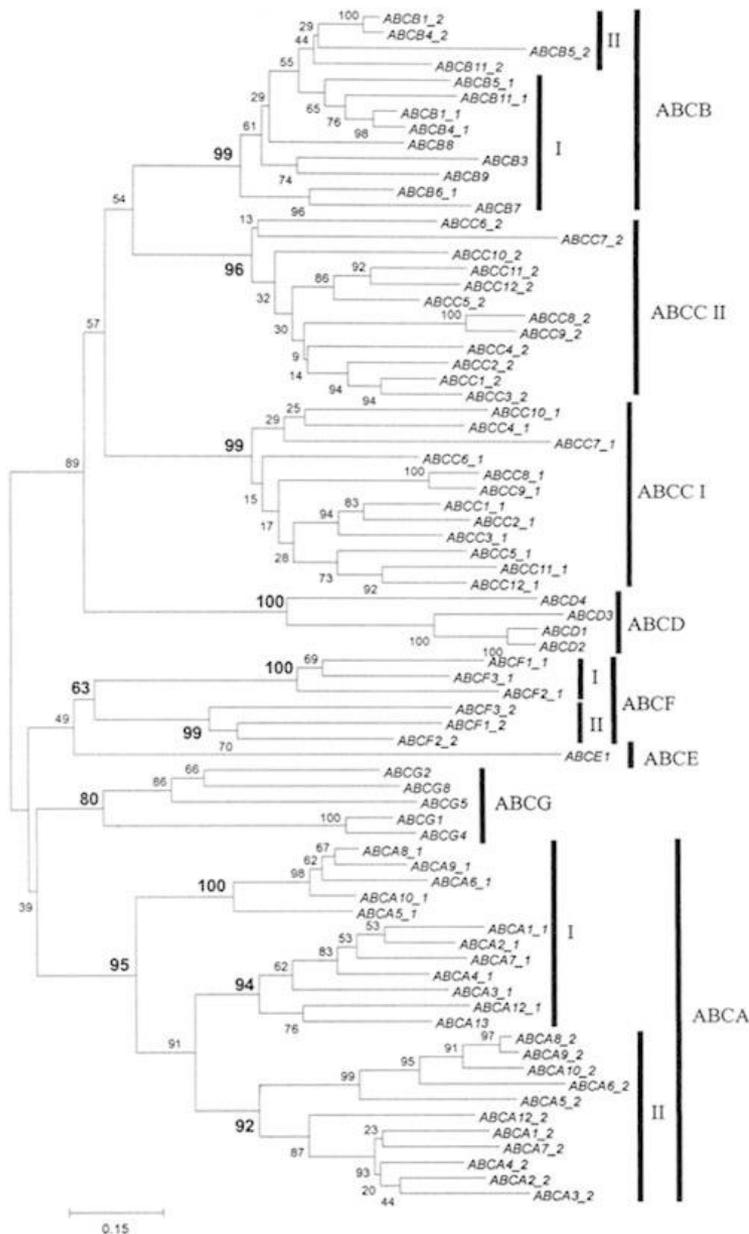
Glut 6 : pseudogène, séquence proche de Glut 3 (non fonctionnel)

Glut 7 : transporteur microsomal hépatique

Absorption du glucose au niveau des entérocytes



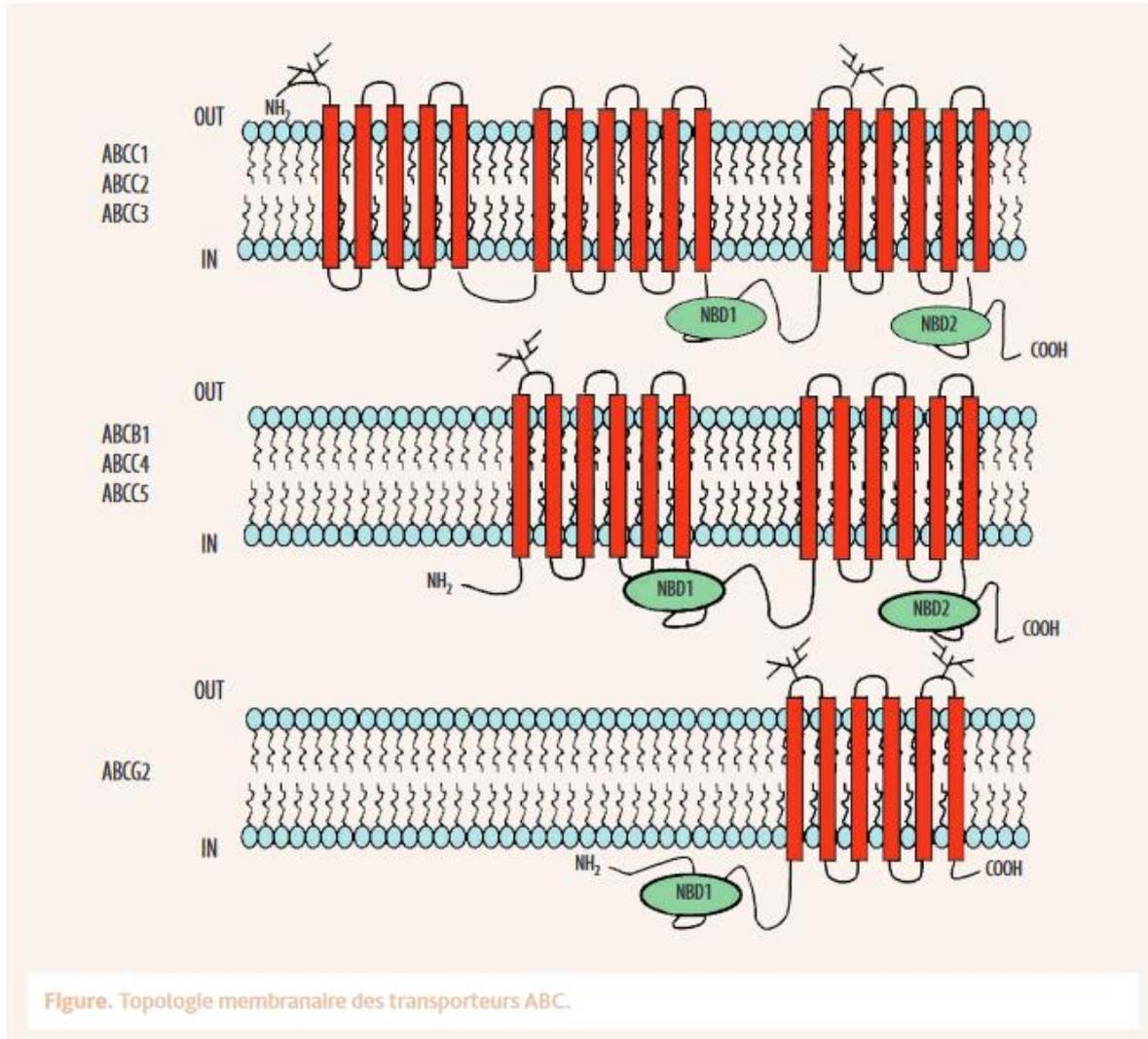
Les transporteurs ABC



- Superfamille des transporteurs ABC : « ATP Binding Cassette »
- Plus grande famille des protéines transmembranaires
- Dans les bactéries participe principalement à l'import des sucres, vitamine, ions.
- Dans les cellules eucaryotes : transport de molécules du cytoplasme vers les compartiments intracellulaires (réticulum endoplasmique, mitochondrie, ...)

From Michael Dean : The Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Superfamily, 2002

Transporteurs ABC

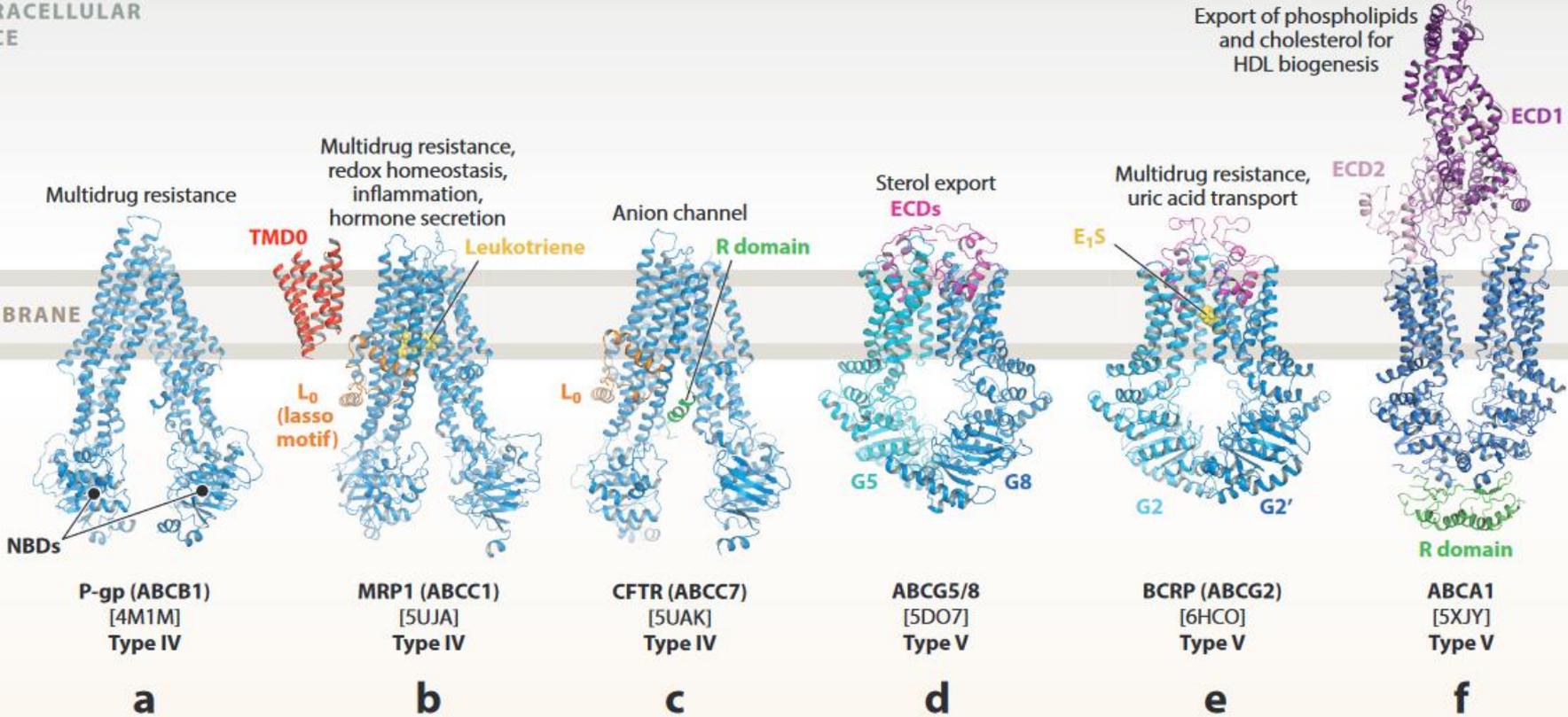


NBD : nucleotide binding domain, site de liaison à l'ATP

EXTRACELLULAR SPACE

MEMBRANE

CYTOPLASM



Transports au niveau de l'épithélium intestinale

1 : paracellulaire

2 : diffusion membranaire

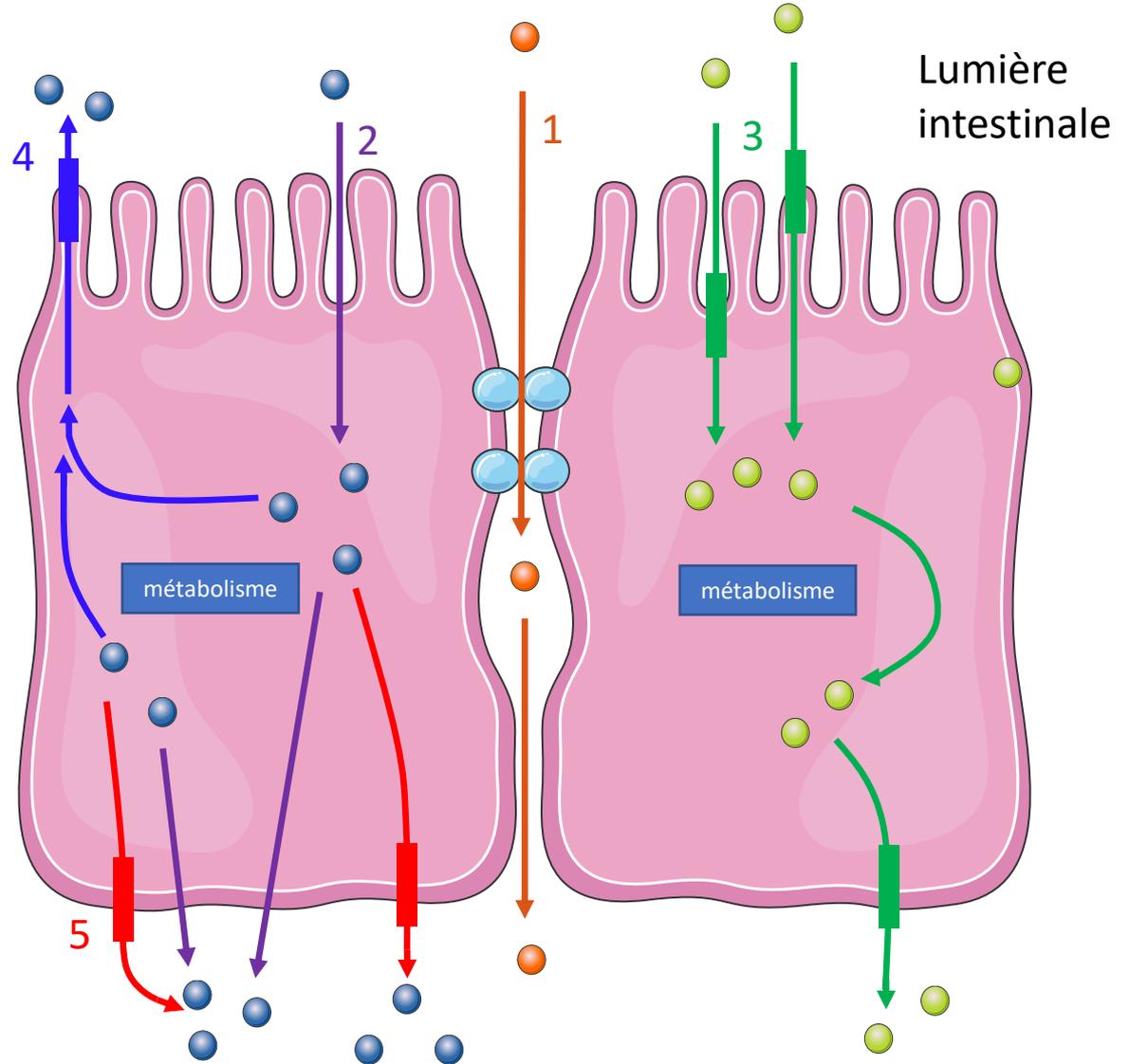
3 : transport actif ou facilité

4 : efflux (côté apical):

- P-gp (MDR1)
- MRP2
- MRP4
- BCRP

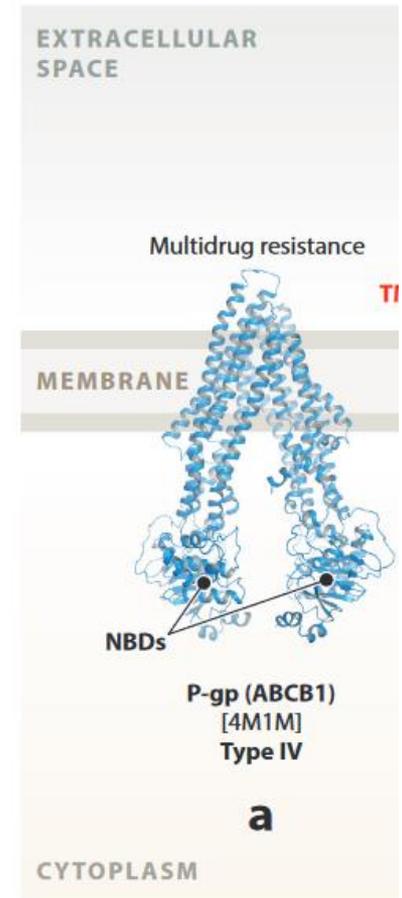
5 : efflux (côté basolatéral):

- MRP1
- MRP3
- MRP5



Glycoprotéine P : ABCB1

- ❖ Glycoprotéine membranaire de perméabilité
- ❖ PM = 170 kDa
- ❖ Superfamille des transporteurs ABC : 2 sites de liaison à l'ATP
- ❖ Excrétion ATP-dépendante de xénobiotiques
- ❖ Responsable de la résistance aux médicaments : MDR (multi drug resistance)
- ❖ Rôle physiologique : excrétion de métabolites ou de toxines ⇒ rôle protecteur de l'organisme.
- ❖ Rôle dans l'absorption des xénobiotiques ⇒ limitation potentielle de la fraction disponible de nombreux médicaments



Glycoprotéine P : ABCB1

Expression tissulaire

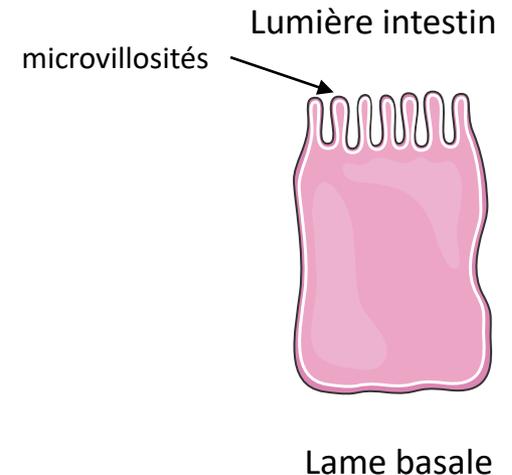
❖ au niveau de tissus sains:

- épithéliums excrétoires glandulaires
- endothélium vasculaire de la barrière hémato-encéphalique
- cellules souches hématopoïétiques, macrophages activés, polynucléaires
- tube digestif, foie, rein, prostate

❖ dans les cellules cancéreuses

Au niveau du tube digestif

- Face apicale des cellules épithéliales
- Principalement au niveau des microvillosités des entérocytes
- Elimination de molécules vers la lumière de l'intestin



Rôle de la glycoprotéine P

- ❖ Au niveau hépatique : participe au transport des phospholipides
- ❖ Barrière hémato-encéphalique : participe à l'excrétion de xénobiotiques toxiques
 - Inactivation P-gp : accumulation de substance toxique au niveau cérébral
- ❖ Rein : sécrétion de xénobiotique vers l'urine
 - Participe à l'élimination urinaire des médicaments

P-gp : protecteur l'organisme

Inhibiteurs : vérapamil, cyclosporine A, quinidine...
risque effets secondaires

Glycoprotéine P et cancer

Transcription du gène *mdr1* régulée par :

- contact avec des métaux lourds, carcinogènes, solvants organiques et des cytotoxiques
- processus tumoral (le produit du gène *ras* et la protéine p53 mutée sont des activateurs).

Glycoprotéine P et cancer

Participe à la résistance aux anti-tumoraux

Phénotype MDR :

- résistance croisée vis à vis de composés très variés après exposition à un seul cytotoxique
- surexpression de la P-gp dans les cellules cancéreuses : favorisent l'élimination des traitements anticancéreux
- diminution de la concentration intracellulaire des cytotoxiques

P-gp : protecteur des cellules cancéreuses

Cible thérapeutique pour améliorer l'efficacité des traitements antitumoraux

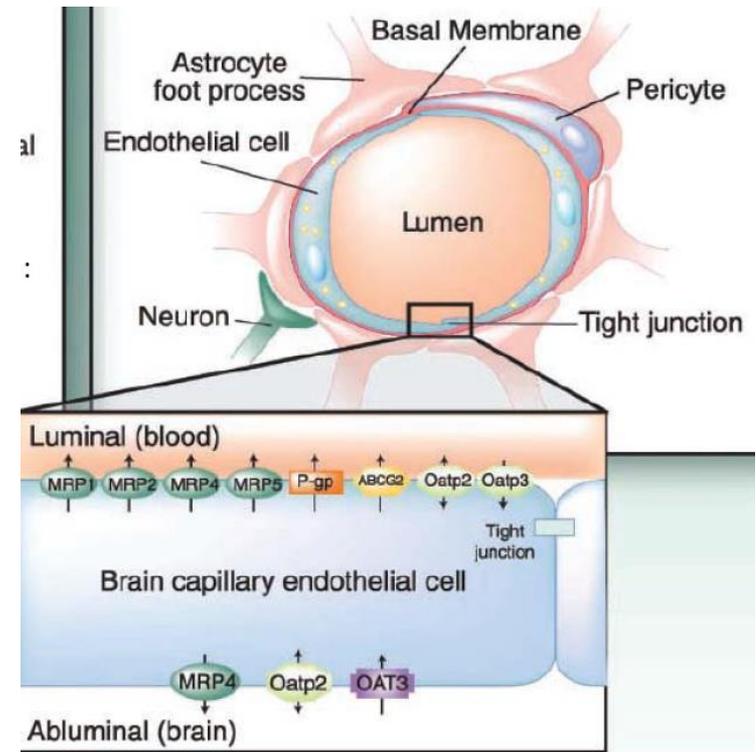
Transporteurs ABC et barrière hémato-encéphalique

MRPs : Multiple resistance protein

- ABCC1-6
- Membrane basolatérale des plexus choroïdes
- Membranes endothéliales

BCRP : Breast cancer-resistant protein

- ABCG2
- Membrane luminale



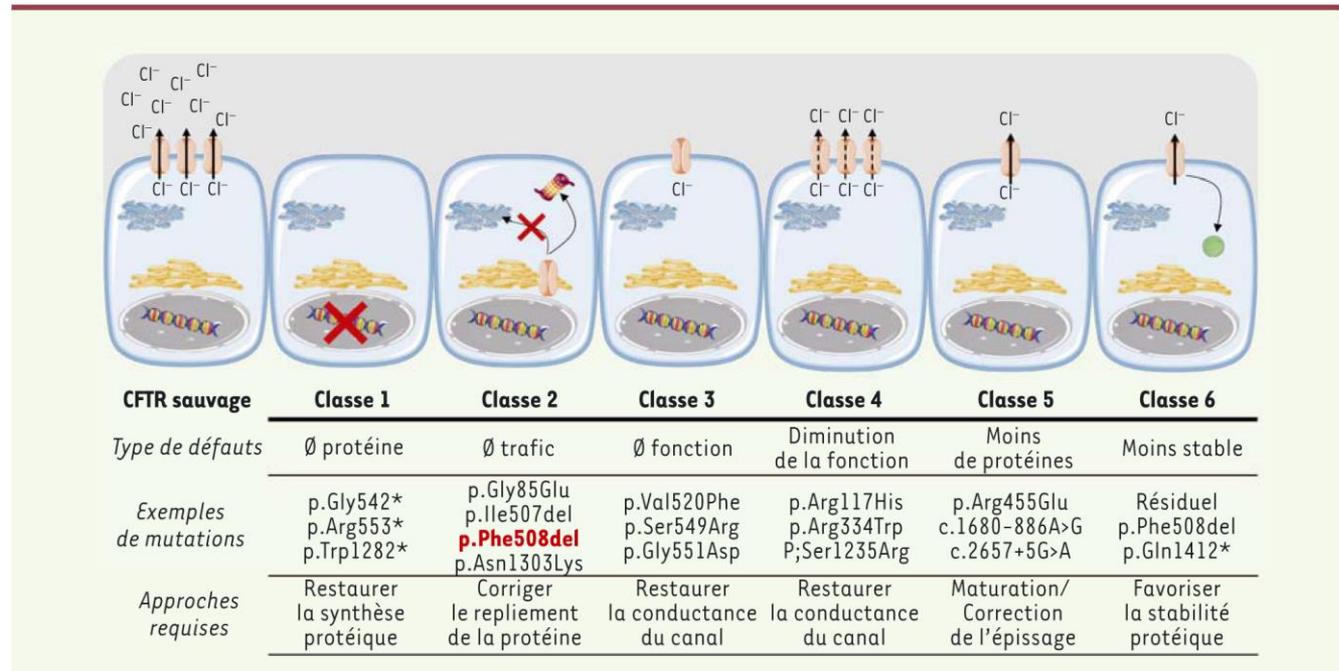
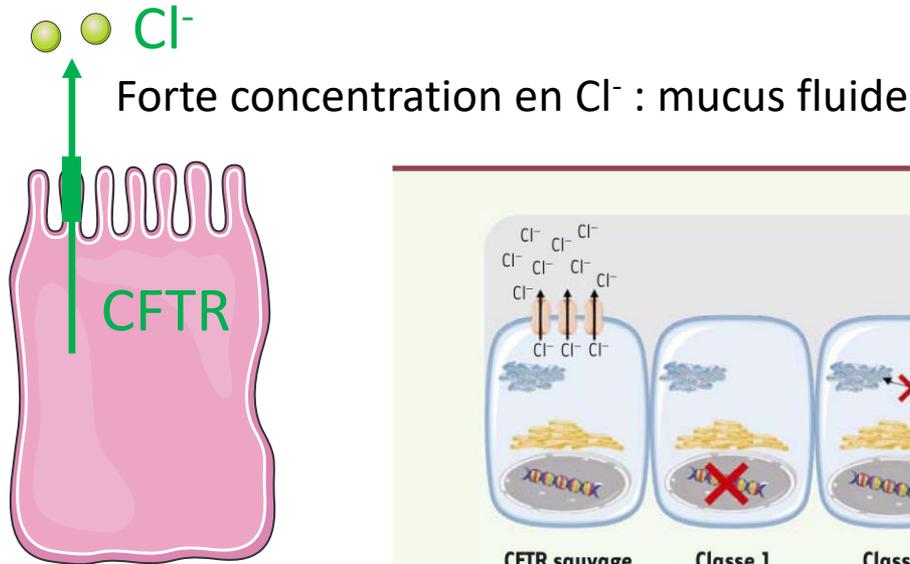
Substrats et inhibiteurs des transporteurs ABC

Tableau I. Substrats, inhibiteurs et inducteurs de la P-gp, de BCRP, d'OATP1A2 (4, 33-35).

Transporteurs (gène)	Substrats	Inhibiteurs	Inducteurs
P-gp, MDR1 (ABCB1)	<p>Anticancéreux : anthracyclines, taxanes, vinca-alcaloïdes</p> <p>Antihypertenseurs : bêtabloquants, inhibiteurs calciques</p> <p>Antiarythmiques : digoxine, quinidine, vérapamil</p> <p>Immunosuppresseurs : glucocorticoïdes, ciclosporine, tacrolimus, sirolimus</p> <p>Inhibiteurs de protéases : amprénavir, indinavir, nelfinavir, ritonavir</p> <p>Antibiotiques : macrolides, rifampicine, tétracycline</p> <p>Autres : fexofénadine, lopéramide, statines, colchicine, ondansétron</p>	<p>Antiarythmiques : vérapamil, quinidine, amiodarone</p> <p>Macrolides : érythromycine, clarithromycine</p> <p>Inhibiteurs de protéases : indinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir</p> <p>Antifongiques : itraconazole, kétoconazole</p> <p>Antidépresseurs : fluoxétine, paroxétine, sertraline</p> <p>Autres : tacrolimus, dipyridamole, hydrocortisone, GF120918</p>	<p>Rifampicine, millepertuis, réserpine, phénobarbital</p>
BCRP, MXR (ABCG2)	<p>Anticancéreux : anthracyclines, mitoxantrone, topotécan, méthotrexate, imatinib, erlotinib, géfitinib</p> <p>Antibiotiques : ofloxacine, norfloxacine, érythromycine, nitrofurantoïne</p> <p>Autres : statines, abacavir, sulfasalazine, inhibiteurs calciques</p>	<p>Immunosuppresseurs : ciclosporine, tacrolimus, sirolimus</p> <p>Inhibiteurs de protéases : amprénavir, atazanavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir</p> <p>Autres : éfavirenz, abacavir, tamoxifène, fumitrémorgine (FTC), GF120918</p>	
OATP1A2, OATP-A (SLCO1A2)	<p>Fexofénadine, aténolol, méthotrexate, statines, lévofloxacine, imatinib</p>	<p>Naringine, ritonavir, lopinavir, saquinavir, rosuvastatine, rifampicine</p>	
OATP2B1, OATP-B (SLCO2B1)	<p>Estrone-3-sulfate, bromosulfophtaléine, déhydroépiandrosterone sulfate, aliskirène, bosentan, ézétimibe, fexofénadine, glibenclamide, statines</p>		

CFTR et mucoviscidose

CFTR : cystic fibrosis transmembrane conductance regulator



Altération de la fonction de CFTR : faible concentration en Cl^- : mucus épais et visqueux : atteinte pulmonaire, digestive (pancréas), stérilité