

N° D'ORDRE : 561

50376
1975
188

THESE

présentée à

L'UNIVERSITÉ DE LILLE I

pour obtenir le titre de

DOCTEUR EN PHYSIOLOGIE ANIMALE
(3^e CYCLE)

par

CHARLES BOUKOULOU

LE POTENTIEL DE MEMBRANE DE L'AXONE DE CRABE
CARCINUS MAENAS



Soutenu le 24 Octobre 1975
devant la commission d'examen

MM. COQUERY, Président
GUILBAULT, Rapporteur
ROUSSEAU, Examineur



50376
1975
188

50376
1975
188

- AVANT PROPOS -

=====



Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Physiologie Cellulaire sous la direction de Monsieur le Professeur GUILBAULT.

Je voudrais profiter ici pour exprimer toute ma gratitude envers Monsieur le Professeur GUILBAULT pour avoir voulu non seulement me faire confiance en m'accueillant dans son laboratoire, mais aussi m'initier aux techniques électrophysiologiques qui m'étaient inconnues ; grâce à son aide constante et efficace, à sa patience, j'ai pu mener ce travail à bien. Je tiens à lui réaffirmer toute ma reconnaissance pour sa bienveillance à mon égard.

Je remercie Monsieur le Professeur COQUERY pour l'honneur qu'il me fait en acceptant la présidence de mon jury.

Je remercie Monsieur le Professeur ROUSSEAU pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail.

Je remercie Monsieur le Professeur ROY qui m'a assuré de l'intérêt qu'il porte à mon travail.

Je remercie tous les membres du Laboratoire de Physiologie. J'ai pu trouver auprès d'eux une atmosphère de franche camaraderie qui m'a été précieuse dans la réalisation de mon travail. Je tiens en particulier à exprimer toute ma reconnaissance envers Messieurs Ghislain HAUDECOEUR, Gérard BRULE et Madame Yvonne MOUNIER pour leur aide amicale et spontanée. Je ne saurais oublier Mademoiselle Marie-Laure WIMET qui, avec une extrême gentillesse, m'a aidé à la réalisation des figures.

Je remercie infiniment Mademoiselle Claude BOISON,
qui, en dépit de multiples obligations, a accepté avec amabilité
la dactylographie de ce mémoire.

Je remercie Messieurs René COISNE et Jean-Marc DESLANDES
pour leur précieuse collaboration technique.

Je remercie Monsieur Michel DELSAUT qui a toujours
été pour moi plus qu'un collègue.

SOMMAIRE

	Pages
I - <u>Introduction</u>	1
II - <u>Historique</u>	2
A - Effets des ions sur les potentiels de membrane	4
1 - Effet des ions potassium	4
2 - Effet des ions sodium	6
3 - Effet des ions magnésium et calcium	8
4 - Effet des ions chlorure	10
B - Effets du pH sur le potentiel membranaire	11
III - <u>Techniques d'étude</u>	13
A - Animal d'expérience	14
B - Isolement de la fibre nerveuse	15
C - Solutions	16
1 - Solution normale	16
2 - Solutions anormales	17
2.1. Solutions de concentration potassique variable et de concentration en chlore normale (594 mM)	17
2.1.1. Solutions de concentration potassique variable et pauvres en chlore (83,7 mM)	18
2.1.2. Solution de concentration potassique variable, ne renfermant comme sels que K_2SO_4 et Co_3HNa	20
2.1.3. Solution de concentration potassique variable ne renfermant comme sels que KCl et Co_3HNa	21

2 - Effet d'un inhibiteur de perméabilité ionique membranaire : le S.I.T.S.	52
3 - Effets des variations du pH	56
3.1. Perméabilités modifiées à pH acide	56
3.1.1. Effet de la variation de la concentration en ion potassium	57
3.1.2. Effet de la variation de la concentration en chlore	58
3.1.3. Effet des milieux acides sur le potentiel d'action	60
3.2. Perméabilités modifiées à pH basique	62
3.2.1. Effet de la variation de $[K^+]_e$	62
3.2.2. Effet de la variation de la concentration en chlore	63
3.2.3. Effet des milieux basiques sur le P.A.	64
3.3. Résumé et conclusion des effets des variations de pH	65
4 - Effets des milieux de pH 11	66
4.1. Effets de l'ouabaïne	68
4.2. Effets des ions Li^+	70
4.3. Résumé et conclusion	71
V - <u>Discussion - Conclusion</u>	72
1 - Potentiel de repos	73
2 - Potentiel d'action	78
VI - <u>Résumé</u>	80
Références bibliographiques	81

2.1.4. Solutions de concentration potassique variable, basiques et à concentration en chlore normale (594 mM)	22
2.2. Solutions avec modification de la concen- tration sodique	23
2.3. Solution sans magnésium - Solutions avec modification de la concentration calcique.	23
2.4. Solutions avec modification de la concen- tration en chlore	24
2.4.1. Cas où l'ion propionate remplace l'ion chlore	24
2.4.2. Cas où l'ion sulfate remplace l'ion chlorure	25
2.4.3. Solutions de concentration en chlore variable, acides	25
2.4.4. Solutions de concentration en chlore variable, basiques	26
D - Techniques électrophysiologiques	26
1 - Schéma du montage utilisé	27
2 - Techniques du pont de saccharose	28
3 - Stimulation	32
IV - <u>Résultats</u>	32
A - Etude du potentiel de membrane dans les conditions normales	32
B - Etude du potentiel de membrane dans les conditions anormales	33
1 - Effets des variations de concentrations ioniques	34
1.1. Effet des ions potassium	34
1.2. Effet des ions Sodium	37
1.3. Effet des ions magnésium et calcium	41
1.4. Effet des ions chlorure	42
1.5. Résumé et conclusion des effets des variations de concentration ionique	50

I - INTRODUCTION

L'effet des changements de la composition ionique du milieu extracellulaire sur les cellules nerveuses a fait l'objet de nombreuses études. Ces travaux ont donné naissance à la théorie ionique des potentiels de membrane.

C'est ainsi que pour le potentiel de repos (P.R.) il a été conclu qu'il est principalement contrôlé par les mouvements des ions potassium (K^+), cette conclusion étant en partie basée sur les observations qui montrent qu'à haute concentration en potassium externe ($[K^+]_e$) la membrane cellulaire semble se comporter comme une pile aux K^+ . Cependant, l'analyse de certains résultats permet de penser que d'autres ions interviennent par des mouvements actifs, à la genèse et au maintien du P.R.

Le potentiel d'action (P.A.) est dû à une augmentation initiale de la perméabilité membranaire au sodium (P_{Na}), responsable de la dépolarisation et à une augmentation tardive de la perméabilité membranaire au potassium (P_K), responsable de la repolarisation, associée à une inactivation des mouvements des ions sodium (Na^+).

Le travail réalisé sur la fibre nerveuse du crabe *Carcinus maenas* et présenté dans ce mémoire a pour but la mise en évidence des perméabilités ioniques membranaires impliquées dans l'électrogenèse du repos de l'activité. Cette étude ne constitue qu'une partie du travail d'ensemble du labora-

toire visant à expliquer le mécanisme de l'excitation - contraction chez cet Invertébré.

II - HISTORIQUE

D'après la théorie ionique élaborée par HODGKIN et HUXLEY (1952 a) à la suite de leurs travaux sur l'axone géant de calmar, le P.R. de cette fibre est dû à un potentiel de diffusion calculable d'après l'équation du champ constant de GOLDMAN (1943), HODGKIN et KATZ, (1949). En se considérant que les concentrations des ions K^+ , Na^+ et Cl^- et les perméabilités correspondantes,

$$E = \frac{RT}{F} \log \frac{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_e}{P_K [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e + P_{Cl} [Cl^-]_i}$$

Dans cette équation, E, exprimé en volts, représente la différence de potentiel de part et d'autre de la membrane cellulaire ; R est la constante des gaz parfaits, T la température absolue, F le faraday (96500 coulombs), P_K , P_{Na} , P_{Cl} les perméabilités de la membrane respectivement aux ions K^+ , Na^+ et Cl^- ; $[K^+]_i$, $[Na^+]_i$, $[Cl^-]_e$ représentent les activités de ces ions dans les milieux intra- et extra-cellulaires.

Le P.A. est une dépolarisation propagée à l'ensemble de la fibre. Cette dépolarisation est due à une augmentation transitoire de la P_{Na} . La phase de repolarisation est due à une augmentation tardive de la P_K associée

à une inactivation des mouvements de Na^+ .

Un schéma a été proposé par HODGKIN et HUXLEY (1952b) pour expliquer les propriétés électriques de la fibre nerveuse au repos et pendant l'activité (fig. 1).

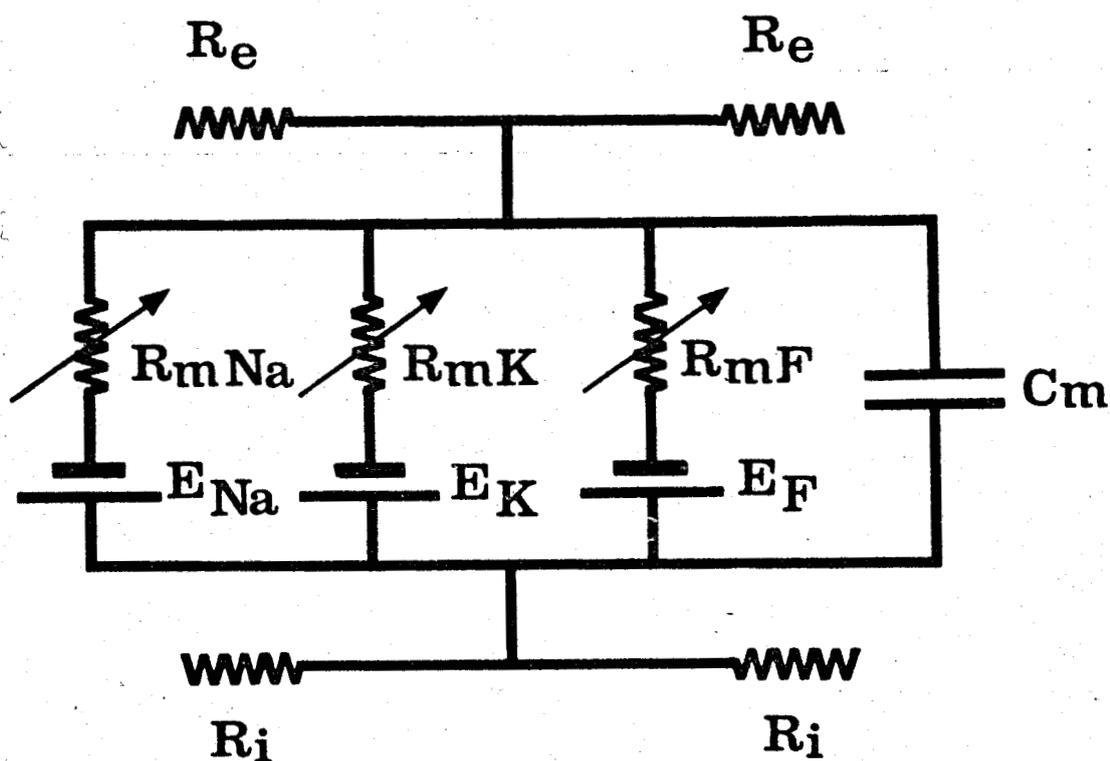


Figure 1 : Schéma électrique de la membrane de la fibre nerveuse

(D'après HODGKIN et HUXLEY, 1952 b).

- E_{Na} : pile à l'ion Na^+ E_{K} : pile à l'ion K^+
 E_{F} : pile aux autres ions C_m : capacité membranaire
 R_{mNa} : résistance membranaire aux ions Na^+ (variable)
 R_{mK} : résistance membranaire aux ions K^+ (variable)
 R_{mF} : résistance membranaire aux autres ions (variable)
 R_e : résistance du milieu externe R_i : résistance du milieu interne

La présente étude concerne le potentiel de membrane de l'axone de crabe, il va par conséquent être procédé à un rappel des travaux réalisés dans ce domaine sur les tissus nerveux.

A - Effets des ions sur les potentiels de membrane

1) Effets des ions potassium

Il est généralement admis pour les tissus nerveux que le P.R. est essentiellement contrôlé par les mouvements des ions K^+ .

Grâce à des isotopes radioactifs, de nombreux auteurs ont étudié les mouvements de différentes espèces ioniques à travers la membrane des axones d'Invertébrés. KEYNES (1951) sur l'axone géant de Sepia, SHANES (1954), CALDWELL et KEYNES (1960) sur l'axone de calmar, utilisent le ^{42}K pour suivre les mouvements des ions K^+ . Les résultats obtenus sont en accord avec la théorie ionique. BRINLEY et MULLINS (1965) travaillant sur l'axone géant de Loligo pealii au repos, montrent une perméabilité plus grande aux K^+ comparée à celle aux Na^+ et Cl^- . STRICKHOLM et WALLIN (1967) sur l'axone d'écrevisse, montrent une influence très nette de la variation de la concentration de potassium externe sur le potentiel membranaire comparée à celle d'un changement équivalent de la concentration de chlore externe. Ils donnent, dans les conditions normales un rapport de perméabilité $P_{Cl}/P_K = 0,13$.

Ces différentes expériences montrent donc une participation largement majoritaire des ions K^+ à la genèse et au maintien du potentiel membranaire de repos.

Pourtant il faut signaler qu'en perfusant un axone géant avec une solution dans laquelle les 4/5 des ions K^+ sont remplacés par une substance non ionisée tel le saccharose, on n'obtient pas la chute du potentiel membranaire attendu. Bien au contraire, on observe une légère hyperpolarisation. HODGKIN a proposé pour expliquer ce fait incompatible avec la théorie ionique, de faire intervenir certaines modifications de la P_K . Il aboutit ainsi, dans l'équation du champ constant, à donner à P_K une valeur sensiblement constante même lorsque la concentration interne des ions K^+ ($[K^+]_i$) change fortement. Concernant l'influence de K^+ sur l'activité nerveuse, il a été démontré que l'absence de cet ion dans le milieu externe n'abolit pas le P.A. De même si, dans les expériences de perfusion interne de la fibre géante de calmar, on abaisse considérablement la concentration de K^+ dans le perfusat (6 mM contre 300 mM normalement) le P.R. de la fibre diminue fortement, sa valeur se fixant à - 20 mV ou pouvant même s'annuler. Pourtant dans ces conditions un P.A. peut encore être obtenu et son amplitude peut atteindre même 100 mV au lieu de 85 normalement avec toutefois une augmentation importante de sa durée (jusqu'à une seconde). Il est néanmoins possible d'expliquer ce fait difficile à

concilier avec la théorie ionique en admettant un important déplacement vers les valeurs positives du niveau auquel le P.R. doit être porté pour que l'activité et la perméabilisation membranaire aux Na^+ se produisent. L'allongement très important de la phase de repolarisation s'expliquerait alors par la faible quantité d'ions K^+ disponibles pour le flux sortant repolarisant, ainsi que par un ralentissement de l'inactivation du système sodique.

2) Effets des ions sodium

Si, par des mouvements passifs, le Na^+ intervient peu dans la genèse et le maintien du P.R. comme cela est généralement prouvé au niveau de nombreuses structures, il faut signaler, par contre, l'existence chez certaines cellules nerveuses, d'une pompe électrogène de nature sodique, pompe qui crée une différence de potentiel venant s'ajouter au potentiel membranaire dû aux mouvements passifs. Ainsi CONNELLY (1959) parle d'une pompe électrogène sodique chez la fibre de crabe et chez la fibre myélinisée de grenouille pour expliquer l'hyperpolarisation observée à la suite de la tétanisation. KERKUT et THOMAS (1965) montrent l'existence d'une telle pompe au niveau de la cellule nerveuse d'escargot. SENFT (1967) sur l'axone de homard suggère l'existence d'une pompe électrogène sodique pour expliquer la dépendance du P.R. de cette cellule vis-à-vis de la température. CARPENTER et ALVING (1968) sur le neurone d'Aplysie, parlent également d'une pompe sodique électro-

gène pour expliquer les effets de la température sur le P.R. KOSTYUK, KRYSHAL et PIDOPLICHKO (1972) trouvent qu'il existe une pompe sodique électrogène au niveau de la membrane des neurones géants d'escargot. Ils justifient ce fait par l'action du froid, de l'ouabaïne, des solutions dépourvues de K^+ et des solutions où le lithium remplace le Na^+ . Dans ces conditions, en effet, il se produit une dépolarisation de la membrane par suite du blocage de la pompe. DE WEER et GEDULDIG (1973) parlent d'une pompe électrogène sodique chez l'axone géant de calmar. COOKE, LEBLANC et TAUC (1974) montrent l'existence d'une pompe sodique électrogène chez le neurone d'Aplysie.

Si les mouvements des ions Na^+ n'influencent en général que très faiblement l'électrogénèse de repos, ils jouent par contre un rôle très important lors du P.A. des tissus nerveux comme l'ont montré HODGKIN, HUXLEY et KATZ (1949) sur l'axone géant de calmar. Reprenant l'expérience ancienne d'OVERTON qui dès 1902, avait montré qu'un muscle de grenouille devenait inexcitable lorsqu'il baignait dans un milieu ne contenant que 10 p. 100 du taux normal de Na^+ , ces auteurs démontrent que le Na^+ est bien indispensable pour maintenir et propager le P.A. de la fibre nerveuse géante de calmar. En effet, en ne laissant que 10 p. 100 de NaCl dans le milieu baignant la fibre, ils suppriment l'activité, l'isotonicité du milieu étant réalisée par apport convenable de chlorhydrate de

choline. Quand ils remplacent le chlorure de sodium par du nitrate, du bromure ou du sulfate de sodium, la fibre demeure excitable, ce qui prouve que seul l'ion Na^+ est concerné. En 1952, grâce à la technique du potentiel imposé, HODGKIN et HUXLEY montrent que la phase ascendante du P.A. est de nature essentiellement sodique.

3) Effets des ions magnésium et calcium

Si les ions magnésium (Mg^{++}) ne semblent pas intervenir dans la genèse et le maintien du P.R. chez la cellule nerveuse, il n'en est pas de même pour les ions calcium (Ca^{++}).

L'effet du Ca^{++} est différent suivant qu'il agit à l'intérieur ou à l'extérieur. Les variations de concentration du Ca^{++} interne provoquent des modifications importantes des propriétés membranaires de repos en altérant la P_K . A l'extérieur, peu d'effets sont observés sur les paramètres de repos. Ainsi le P.R. de l'axone de calmar ne varie au maximum que de 5 mV quand le Ca^{++} est absent du milieu baignant la cellule. Le soma du neurone d'Aplysie se dépolarise de 4 à 5 mV dans un milieu ne contenant pas de Ca^{++} et s'hyperpolarise très légèrement dans un milieu hypercalcique. CHRISTOFFERSEN (1970) a néanmoins observé chez le neurone d'*Helix pomatia*, une dépolarisation réversible qui atteint une valeur de 30 mV quand dans le milieu la concentration de Ca^{++} passe de 7 à 0 mM. Le Ca^{++} , contrairement au Mg^{++} , intervient aussi pendant l'activité

tout au moins chez certaines cellules nerveuses. Ainsi HODGKIN et KATZ (1949) sur l'axone géant de calmar, GEDULDIG et JUNGE (1968) sur le neurone géant d'Aplysie montrent que dans un milieu dépourvu de Na^+ , la fibre lors de son activité se comporte comme une pile au Ca^{++} et que dans un milieu sans Ca^{++} la membrane se comporte comme une pile au Na^+ . Ces résultats suggèrent que pendant le P.A. normal, Na^+ et Ca^{++} participent au courant entrant. GERASIMOV, KOSTYUK et MAISKII en 1965 obtiennent un P.A. en absence de Na^+ chez le neurone géant d'escargot. La phase ascendante de ce P.A. s'est révélée être de nature calcique. MEVES (1966) sur le neurone d'Hélix pomatia obtient le même résultat. JUNGE (1967), KERKUT et GARDNER (1967) toujours sur des neurones de Mollusques montrent que Ca^{++} et Na^+ sont nécessaires pour déclencher un P.A. normal.

CHAMBERLAIN et KERKUT (1969) sur le neurone d'escargot, GEDULDIG et GRUENER (1970) sur le neurone géant d'Aplysie, montrent qu'il est possible d'obtenir un P.A. normal en milieu dépourvu de Na^+ . KOSTYUK, KRISHTAL et DOROSCHENKO (1974) montrent sur le neurone d'escargot que le courant entrant lors d'un P.A. est porté par les ions Ca^{++} et Na^+ .

4) Effets des ions chlorure

L'étude de la participation de l'ion chlorure à la genèse et au maintien du P.R. de la cellule nerveuse n'a donné jusqu'à présent que des résultats fragmentaires. BAKER, HODGKIN et SHAW (1962) démontrent par la technique de l'axone perfusé, que le remplacement à l'intérieur de la fibre géante de seiche ou de calmar, de l'anion Cl^- par un autre, SO_4^{--} par exemple, ne provoque pas de modifications importantes du P.R. Ils concluent que le Cl^- ne joue qu'un faible rôle dans les phénomènes au repos et que l'axone se comporte bien comme une pile au K^+ . Pourtant MAURO (1954) et KEYNES (1963) montrent que le Cl^- n'est pas en équilibre thermodynamique dans les axones de calmar. Sur l'axone géant d'écrevisse, STRICKHOLM et WALLIN (1967) trouvent que le Cl^- est transporté activement. Pour ces deux auteurs, les rapports des perméabilités ioniques ou les concentrations intracellulaires de Na^+ , K^+ ou Cl^- ne peuvent être estimés à partir de la seule connaissance de la valeur du potentiel membranaire à l'état d'équilibre. Ils démontrent en effet que l'activité du Cl^- intracellulaire ne suit pas celle que prévoit la distribution passive selon un équilibre de DONNAN. Sur des neurones de mollusques, CHIARANDINI et GERSCHENFELD (1967) montrent une extrusion active de chlore. Sur le neurone géant du ganglion abdominal d'Aplysie, RUSSEL et BROWN (1972) trouvent

également que la sortie de chlore est active. L'étude des mouvements de chlore chez les tissus nerveux revêt une certaine importance depuis qu'on a démontré que beaucoup de potentiels synaptiques inhibiteurs sont dépendants du chlore et que les effets profonds de CO_2 et des ions H^+ sur les membranes excitables peuvent être largement justifiés par ces mouvements.

Cependant en dehors des potentiels synaptiques inhibiteurs, il semble que le chlore n'intervienne pas pendant l'activité de la cellule nerveuse comme on peut le démontrer dans les expériences où le chlore est absent du milieu baignant la cellule. Dans ces conditions, en effet, la cellule demeure excitable et présente un potentiel d'action d'allure normal.

B - Effets du pH sur le potentiel membranaire

Les caractéristiques membranaires des cellules sont modifiées lorsque la concentration en ions H^+ de la solution externe varie. Divers résultats ont ainsi été obtenus sur la cellule nerveuse. VON EULER et SODERBERG (1952) observent une dépolarisation de la membrane des neurones des centres respiratoires des mammifères en milieu acide. CHALAZONITIS (1963) trouve le même résultat sur les neurones d'aplysie et d'escargot. Pour EYZAGUIRRE et ZAPATA (1968) les récepteurs du sinus carotidien des mammifères se dépolarisent en mi-

lieu acide. Cependant à très bas pH ces récepteurs s'hyperpolarisent. DROUIN et THE (1969), sur le noeud de Ranvier, montrent une diminution du courant de K^+ en milieu acide. STRICKHOLM, WALLIN et SHRAGER (1969) montrent sur l'axone géant d'écrevisse que la conductance au chlore augmente quand le pH du milieu extracellulaire tombe de 7,5 à 6,0. BROWN, WALKER et SUTTON (1970) sur le neurone géant du ganglion abdominal d'Aplysie observent à bas pH une augmentation globale de la conductance membranaire. Les auteurs constatent une augmentation de G_{Cl} et de G_K respectivement de 300 p. 100 et de 50 p. 100. Il a été rapporté aussi que G_K de certains neurones d'Aplysie augmente à pH 8, ceci expliquerait la chute de la résistance membranaire qui lui est associée. La diminution intracellulaire du pH avec CO_2 n'a pas d'effet sur les caractéristiques membranaires. Il semble donc que les ions H^+ agissent sur le neurone d'Aplysie au niveau de la face externe de la membrane.

HILLE (1973) sur la fibre myélinisée de grenouille observe une diminution du courant de K^+ à bas pH associée à une variation du PR alors que pour WOODHULL (1973), sur la même préparation, les milieux acides n'entraînent pas de variations importantes du P.R. Ce même auteur signale néanmoins que parfois une hyperpolarisation allant jusqu'à 15 mV se manifeste. SHRAGER (1974) signale une

diminution du courant de K^+ chez le neurone d'écrevisse en milieu acide. Enfin, il faut souligner que certains auteurs attribuent l'accroissement de conductance à pH acide à une augmentation de la conductance membranaire à H^+ (G_{H^+}). D'autres au contraire estiment que cette conductance est nulle et que la G_m au repos est essentiellement égale à la somme de G_K et G_{Cl} .

Concernant l'action des ions H^+ pendant l'activité, HILLE (1968) sur la fibre myélinisée de grenouille, démontre que le pH acide diminue le courant sodique responsable de la phase ascendante du P.A. WOODHULL (1973) sur le noeud de Ranvier montre que le blocage du courant de Na^+ par les ions H^+ est fonction de la différence de potentiel membranaire de la fibre nerveuse. Elle explique ce résultat en proposant une théorie selon laquelle l'ion H^+ peut passer dans le canal sodium et y rester, empêchant ainsi les ions Na^+ de pénétrer dans la fibre. Son maintien dans la membrane serait sous la dépendance de la différence de potentiel membranaire. FOX (1974) montre, sur le noeud de Ranvier, une réduction du courant sodique quand le pH passe de 7,3 à 5,3. Cette réduction serait due au blocage de 50 p. 100 des canaux sodium.

III - TECHNIQUES D'ETUDE

Le travail entrepris ici concerne les perméabilités ioniques impliquées dans la genèse des potentiels

de membrane de l'axone du crabe *Carcinus maenas*. Pour cela, il a été mesuré le P.R. et le P.A. dans les conditions normales et après modification de la composition ionique du milieu externe avec ou sans addition d'inhibiteur de perméabilité membranaire. Ces mesures sont obtenues en utilisant la technique du pont de saccharose. Le choix de cette technique qui nécessite des électrodes extracellulaires a été motivé par le faible diamètre de la préparation. Il sera abordé successivement dans ce chapitre :

- l'animal d'expérience
- l'isolement de la fibre nerveuse
- les solutions utilisées
- les techniques électrophysiologiques.

A - Animal d'expérience

La fibre nerveuse utilisée provient de la patte locomotrice du crabe (fig. 2).

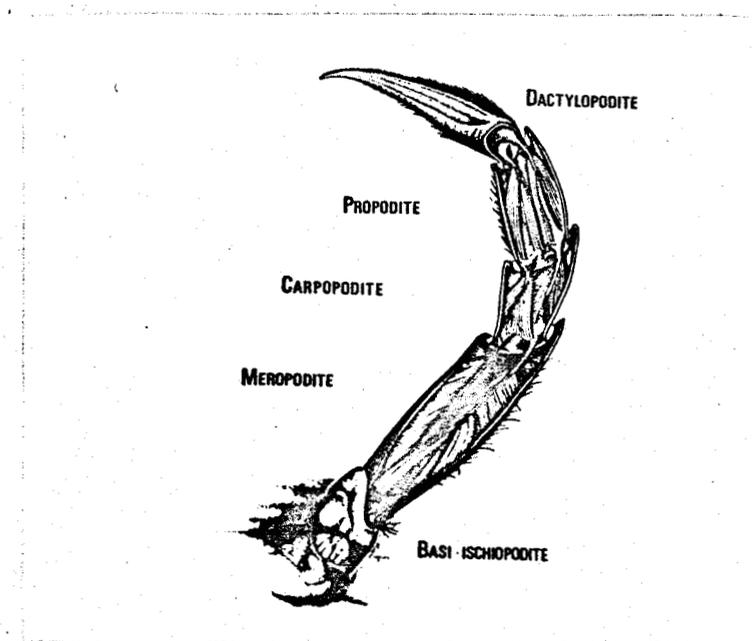


Figure 2 : Péréiopode P₂ de *Carcinus maenas*

Cet Invertébré fait partie de la classe des Crustacés, de la sous-classe des Malacostracés, de l'ordre des Décapodes, du sous-ordre des Brachyours.

Les animaux d'expérience proviennent des côtes de la Manche (Institut de Biologie Marine de Wimereux). Les crabes sont gardés en vie dans des bacs contenant de l'eau de mer à 12°C, aérée et filtrée.

B - Isolement de la fibre nerveuse

Le cartilage de l'articulation méropodite - carpodite est sectionné et en tirant sur le carpodite le nerf peut être aisément isolé comme le montre le schéma ci-dessous :

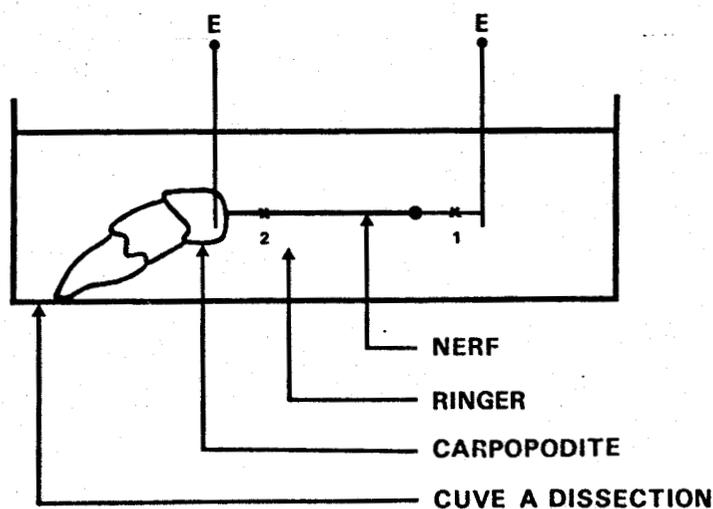


Figure 3 : Isolement de la fibre nerveuse. Représentation schématique de la cuve à dissection et du nerf en place.

E : épingles de fixation.

Sous loupe binoculaire et dans la solution de référence, on dilacère le nerf à l'aide d'une aiguille de verre, dans le but d'isoler une fibre nerveuse dont le diamètre se situe entre 15 et 30 μ . On dégage les fibres entourant la fibre choisie puis on sectionne en 1 et 2 (fig. 3).

La fibre unique isolée est maintenue au cours de l'expérience à une température d'environ 20°C (température de la salle) grâce à la solution d'imbibition constamment renouvelée et qui, en raison de son débit constant, permet le maintien rigoureux des concentrations ioniques extracellulaires.

C - Solutions

1 - Solution normale

La solution physiologique normale a la composition suivante :

NaCl	513	mM
KCl	12,9	mM
CaCl ₂	11,8	mM
MgCl ₂	23,6	mM
Co ₃ HNa	2,6	mM

eau désionisée : q.s.p 1 l. Le pH de cette solution de référence est de 7,8. Sa pression osmotique est celle d'une solution contenant 1163 milliosmoles.

2 - Solutions anormales

Les solutions anormales utilisées dérivent de la solution de référence par modification de la concentration d'un ou plusieurs ions dont on veut étudier l'action ou par addition d'un inhibiteur de perméabilité membranaire.

2.1. Solutions de concentration potassique variable et de concentration en chlore normale (594 mM)

Solution	NaCl (mM)	KCl (mM)	CaCl ₂ (mM)	MgCl ₂ (mM)	chlorhy- drate de cho- line (mM)	K ₂ SO ₄ (mM)	CO ₃ HNa (mM)
K _e x 10	513	12,9	11,8	23,6	0	58,05	2,6
K _e x 5	513	12,9	11,8	23,6	0	25,8	2,6
K _e x 2	513	12,9	11,8	23,6	0	6,45	2,6
K _e x 0,2	513	2,58	11,8	23,6	10,32	0	2,6
K _e x 0	513	0	11,8	23,6	12,9	0	2,6

Tableau 1

K_e : concentration potassique normale

2.1.1. Solutions de concentration
potassique variable et pauvres en chlore (83,7 mM)

- Cas où NaCl est remplacé par du propionate de Na

Solution	Propionate de Na (mM)	KCl (mM)	CaCl ₂ (mM)	MgCl ₂ (mM)	K ₂ SO ₄ (mM)	chlorhy drate de choline (mM)	CO ₃ HNa (mM)
K _e x 10	513	12,9	11,8	23,6	58,05	0	2,6
K _e x 5	513	12,9	11,8	23,6	25,8	0	2,6
K _e x 2	513	12,9	11,8	23,6	6,45	0	2,6
K _e x 1	513	12,9	11,8	23,6	0	0	2,6
K _e x 0,2	513	2,52	11,8	23,6	0	10,32	2,6

Tableau 2

K_e : concentration potassique normale



- Cas où NaCl est remplacé par du saccharose

Solution	Saccharose (mM)	KCl (mM)	CaCl ₂ (mM)	MgCl ₂ (mM)	K ₂ SO ₄ (mM)	chlorhydrate de choline (mM)	CO ₃ HNa (mM)
K _e x 10	1026	12,9	11,8	23,6	58,05	0	2,6
K _e x 5	1026	12,9	11,8	23,6	25,8	0	2,6
K _e x 2	1026	12,9	11,8	23,6	6,45	0	2,6
K _e x 1	1026	12,9	11,8	23,6	0	0	2,6
K _e x 0,2	1026	2,52	11,8	23,6	0	10,32	2,6

Tableau 3

K_e : concentration potassique normale



2.1.2. Solution de concentration
potassique variable, ne renfermant comme sels que
 K_2SO_4 et CO_3HNa .

Solutions	Saccharose (mM)	K_2SO_4 (mM)	CO_3HNa (mM)
$K_e \times 10$	964,3	64,5	2,6
$K_e \times 5$	1061	32,25	2,6
$K_e \times 2$	1119	12,9	2,6
$K_e \times 1$	1138,5	6,45	2,6
$K_e \times 0,2$	1153	1,29	2,6

Tableau 4

K_e : concentration potassique normale



2.1.3. Solutions de concentration
potassique variable ne renfermant comme sels que KCl et
CO₃HNa

Solutions	Saccharose (mM)	KCl (mM)	CO ₃ HNa (mM)
K _e x 10	899	129	2,6
K _e x 5	1028,8	64,5	2,6
K _e x 2	1106	25,8	2,6
K _e x 1	1132	12,9	2,6
K _e x 0,2	1152,6	2,58	2,6

Tableau 5

K_e : concentration potassique normale



2.1.4. Solutions de concentration potassique variable, basiques et à concentration en chlore normale (594 mM)

Le tableau 6 donne la composition du mélange tampon utilisé.

Solution de base		Solution mère
A	B	
Glycocolle 0,1 N	Na OH 0,1 N	522 ml de A +
NaCl 0,1 N		478 ml de B

Tableau 6

Composition du mélange tampon utilisé

Les milieux sont tamponnés à pH 10 par addition de 50 ml de la solution mère.

Pour réaliser les milieux dont le pH est égal à 11, le $MgCl_2$ est remplacé par du saccharose. On évite ainsi la formation d'un précipité blanc d'hydroxyde de magnésium.

2.2. Solutions avec modification de la concentration sodique

Ces solutions sont obtenues par remplacement de tout ou partie de Na^+ de la solution de référence par du chlorhydrate de choline.

Solutions	NaCl (mM)	KCl (mM)	CaCl_2 (mM)	MgCl_2 (mM)	chlorhy- drate de choline (mM)	Co_3HNa (mM)
$\text{Na}_e \times 0,50$	256	12,9	11,8	23,6	256	2,6
$\text{Na}_e \times 0,25$	128,2	12,9	11,8	23,6	384,8	2,6
$\text{Na}_e \times 0,10$	51,3	12,9	11,8	23,6	461,7	2,6
$\text{Na}_e \times 0$	0	12,9	11,8	23,6	513	2,6

Tableau 7

Na_e : concentration sodique normale

2.3. Solution sans magnésium - Solutions avec modification de la concentration calcique.

L'absence de Mg^{++} ou de Ca^{++} est réalisé par le remplacement de MgCl_2 ou de CaCl_2 par du saccharose milliosmole à milliosmole.

2.4. Solutions avec modification de la concentration en chlore

2.4.1. Cas où l'ion propionate remplace l'ion chlore

Solutions	NaCl (mM)	KCl (mM)	CaCl ₂ (mM)	MgCl ₂ (mM)	propionate de Na (mM)	CO ₃ HNa (mM)
Cl _e x 1	513	12,9	11,8	23,6	0	2,6
Cl _e x 0,60	307,8	12,9	11,8	23,6	205,2	2,6
Cl _e x 0,35	178,5	12,9	11,8	23,6	333,5	2,6
Cl _e x 0,20	102,6	12,9	11,8	23,6	410	2,6
Cl _e x 0,13	0	12,9	11,8	23,6	513	2,6

Tableau 8

Cl_e : concentration normale de l'ion chlorure



2.4.2. Cas où l'ion sulfate remplace
l'ion chlorure

Solutions	NaCl (mM)	KCl (mM)	CaCl ₂ (mM) ²	MgCl ₂ (mM) ²	Na ₂ SO ₄ (mM) ⁴	Saccha- rose (mM)	CO ₃ HNa (mM)
Cl _e x 1	513	12,9	11,8	23,6	0	0	2,6
Cl _e x 0,60	307,8	12,9	11,8	23,6	102	102	2,6
Cl _e x 0,35	179,5	12,9	11,8	23,6	166,7	166,7	2,6
Cl _e x 0,20	102,6	12,9	11,8	23,6	205	205	2,6
Cl _e x 0,13	-	12,9	11,8	23,6	256,2	256,2	2,6

Tableau 9

Cl_e : concentration normale de l'ion chlorure

2.4.3. Solutions de concentration en
chlore variable, acides.

Le tableau 10 donne la composition des mélanges
tampons utilisés.

pH	Solution de base		composition du mélange tampon
	A	B	
3,85	biphthalate de K 0,1 M	HCl 0,1 N	50 ml A + 2,6 ml B
4,50	biphthalate de K 0,1 M	NaOH 0,1 N	50 ml A + 0,4 ml B

Tableau 10

Composition des mélanges tampons utilisés



Les solutions acides de concentration en chlore variable ont la même composition ionique que celles où l'ion Cl^- est remplacé par l'ion SO_4^{--} (tableau 9). Mais elles sont tamponnées par du biphtalate de K auquel on additionne soit HCl, soit NaOH (tableau 10). En outre, pour tenir compte de l'apport supplémentaire de K^+ sous forme de biphtalate de K (5 mM), la concentration de KCl de la solution est diminuée d'autant.

2.4.4. Solutions de concentration en chlore variable, basiques.

On utilise là encore les solutions dans lesquelles l'ion Cl^- est remplacé par l'ion SO_4^{--} (tableau 9), le tampon de pH 10 étant réalisé par 50 ml de la solution-mère (tableau 6).

D - Techniques électrophysiologiques

L'enregistrement des phénomènes électriques est réalisé grâce à un oscilloscope Tektronix à mémoire (type 564).

Ces phénomènes, mémorisés sur l'écran de l'oscillographe, sont photographiés à l'aide d'une caméra C-12 Tektronix. L'impédance d'entrée des amplificateurs verticaux (type 3 A₃ Tektronix) n'est pas assez grande (1 M Ω) devant l'impédance du montage à laquelle s'ajoute la résistance de la membrane cellulaire. Pour ne pas affaiblir le signal dès l'entrée de l'amplificateur, il

faut que la résistance d'entrée de cet amplificateur soit très supérieure à la résistance du montage associée à la résistance de la membrane. C'est pourquoi il est nécessaire d'intercaler entre l'entrée de l'oscillographe et la préparation, un abaisseur d'impédance dont l'impédance d'entrée est très élevée ($> 1\ 000\ M\Omega$) et dont l'impédance de sortie est faible, de l'ordre de $10\ K\Omega$. Ce faisant, on se met à l'abri des effets des variations de la résistance de la préparation sur la valeur du potentiel mesuré, les conditions d'enregistrement étant alors pratiquement électrométriques.

1 - Schéma du montage utilisé

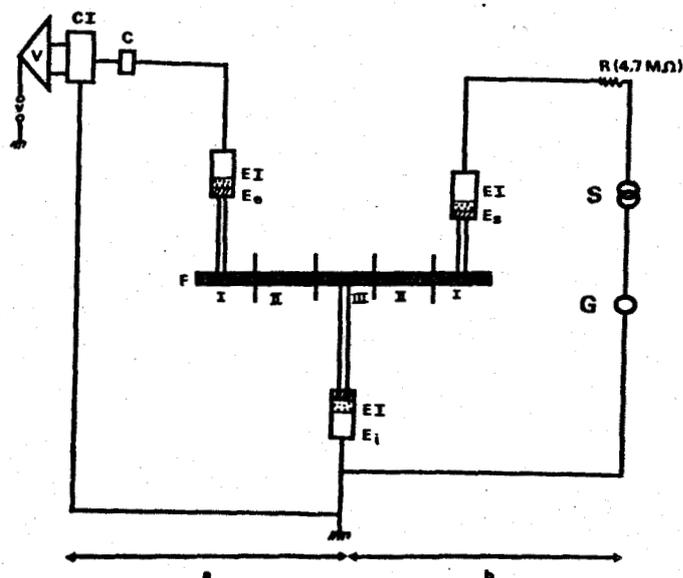


Figure 4 · Schéma du montage

- F : fibre nerveuse ;
- CI : abaisseur d'impédance ;
- C : compensateur ;
- EI : électrode impolarisable ;
- E_e : électrode d'enregistrement ;
- E_i : électrode indifférente ;
- E_s : électrode de stimulation
- S : stimulateur délivrant des signaux rectangulaires ;
- G : générateur de courant constant, en série ;
- R : résistance (4,7 M Ω) ;
- I : compartiments dans lesquels le P.R. est annulé ;
- II : compartiments contenant la solution isotonique de saccharose ;
- III : compartiment-test ;
- a : circuit d'enregistrement
- b : circuit de stimulation

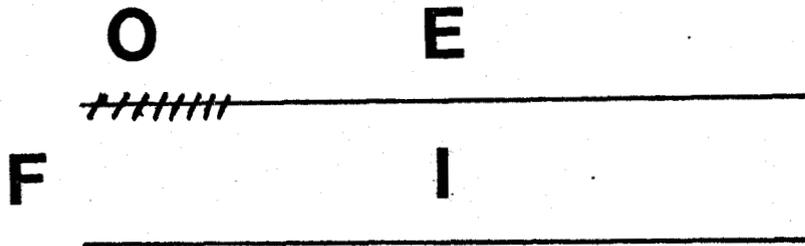
2 - Technique du pont de saccharose

Cette technique de mesure du potentiel membranaire dérive de l'étude du potentiel de lésion ou potentiel de démarcation. Un potentiel de lésion naît entre une partie lésée d'un nerf et la partie intacte.

Cette technique imaginée par TASAKI (1953) et STAMPFLI (1954), consiste à placer une électrode au contact de la surface externe d'une portion intacte de la fibre et une au contact d'une autre portion dont le P.R.

à ce niveau est annulé par l'application d'une solution de composition proche de celle du milieu interne. Les deux électrodes d'enregistrement sont séparés par une solution de saccharose dont on connaît la haute résistance électrique car non ionisée mais dont la pression osmotique est égale à celle du milieu extracellulaire. L'interposition d'un milieu de grande résistance électrique entre les deux électrodes permet d'éviter la production d'un écoulement de charges électriques par la voie extracellulaire, qui de ce fait, ferait baisser le potentiel mesuré.

Soit en effet la fibre nerveuse F, lésée en O.



E : surface externe de la membrane de la fibre

I : surface interne de la membrane de la fibre.

Le calcul donne :

$$V_E - V_O = \frac{r_e}{r_e + r_i} (V_E - V_I) \quad *$$

* Voir annexe (fin du mémoire)

$V_E - V_O$: potentiel de démarcation

r_e : résistance par unité de longueur du milieu
extracellulaire

r_i : résistance par unité de longueur du milieu
intracellulaire

$V_E - V_I$: ddp membranaire

Si on fait r_e très grande en utilisant par exemple un liquide extracellulaire totalement privé d'ions, telle la solution de saccharose, r_i devient négligeable vis-à-vis de r_e et $V_E - V_O = V_E - V_I =$ ddp membranaire.

Si l'on réalise un double pont de saccharose, il est possible, en courant imposé, d'assurer d'un côté l'enregistrement des potentiels de membrane et de l'autre côté, la stimulation (fig. 4).

La cuve dans laquelle se trouve la fibre est cloisonnée en cinq compartiments. La fibre est placée transversalement aux plans des quatre cloisons dans chacune des saignées correspondantes. On utilise de la vaseline pour assurer l'isolement des divers compartiments, qui doit être aussi parfait que possible. En effet, si par exemple une certaine quantité de solution de référence ou de KCl passe dans les compartiments II, l'isolement électrique assuré par la solution de saccharose n'est plus total. Dans la formule $V_E - V_O = r_e/r_e + r_i (V_E - V_I)$, r_i n'est plus négligeable devant r_e et par conséquent le

facteur de court-circuit $r_e/r_e + r_i$ ne tend plus vers 1. Le compartiment III est le compartiment-test par où s'écoule le milieu normal ou anormal à débit constant. Dans les compartiments I, le P.R. est annulé en y plaçant une solution dont la composition ionique est proche de celle du milieu interne de la fibre. La figure 4 indique le montage utilisé. La mesure des potentiels membranaires est faite par l'intermédiaire d'électrodes impolarisables (piles au calomel) ; le contact entre l'électrode et la fibre est assuré par un pont de KCl 3 M gélosé en contact avec les milieux des compartiments I et III.

Composition de la solution dont la composition ionique est proche de celle du milieu interne de la fibre.

KCl	53 mM
K ₂ SO ₄	29 mM
Propionate de Na	53,9 mM
Co ₃ HNa	2,6 mM
Saccharose	855 mM
q.s.p.	1 l d'eau désionisée pH 7,8

La solution de KCl 3M

L'utilisation d'une solution de KCl fortement concentrée empêche l'apparition d'un potentiel de jonction au niveau du contact électrode-pont de KCl 3M gélosé d'une part et pont de KCl 3M gélosé-solution des compartiments I et III d'autre part.

3 - Stimulation

Le stimulus est apporté au niveau de la fibre par l'intermédiaire de deux électrodes au calomel (fig. 4). Le stimulateur module B KATJI délivre des chocs électriques de forme rectangulaire, le courant étant rendu constant par l'interposition dans le circuit de stimulation d'une résistance R de 4,7 M Ω .

IV - RESULTATS

A - Etude du potentiel de membrane dans les conditions normales

Le P.R. mesuré sur 76 fibres présente une valeur moyenne de - 56 mV ($\sigma = \pm 6$ mV).

Le P.A. a une amplitude moyenne de 104 mV ($\sigma = \pm 5$ mV), l'inversion de potentiel étant de l'ordre de 48 mV.

Le P.A. d'allure assez symétrique, présente un post-potentiel négatif et diffère donc en cela du P.A. de la fibre nerveuse de seiche ou de calmar, dont le potentiel de pointe est suivi par un post-potentiel positif.

Le potentiel de pointe dure une milliseconde environ.

La figure 5 montre l'allure du P.A. dans les conditions normales.

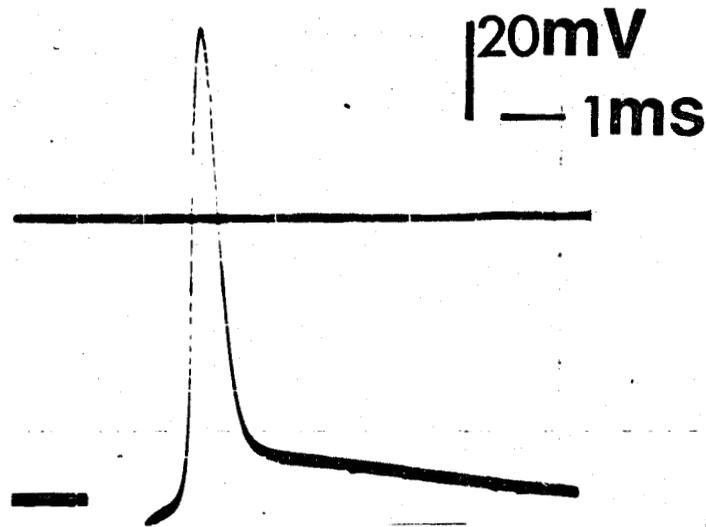


Figure 5 : P.R. et P.A. dans les conditions normales

B - Etude du potentiel de membrane dans les conditions anormales

Dans le but de mettre en évidence les perméabilités ioniques impliquées dans les phénomènes électriques de la fibre au repos et en activité, il va être fait appel aux effets de trois types de milieux :

- milieux dont les concentrations ioniques sont modifiées ;
- milieux contenant un inhibiteur de perméabilité ionique membranaire ;

- milieux dont le pH est modifié.

1 - Effets des variations de concentrations ioniques

1.1. Effets des ions potassium

L'intervention des ions K^+ dans la genèse et le maintien du P.R. est très manifeste comme on peut le démontrer en faisant varier la concentration de cet ion dans le milieu extracellulaire.

Pour des concentrations supérieures à 12,9 mM, la courbe traduisant, à pH normal, les valeurs du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[K^+]_e$ est une droite dont la pente, pour une variation de 10 fois $[K^+]_e$, est de 32 mV (fig. 6).

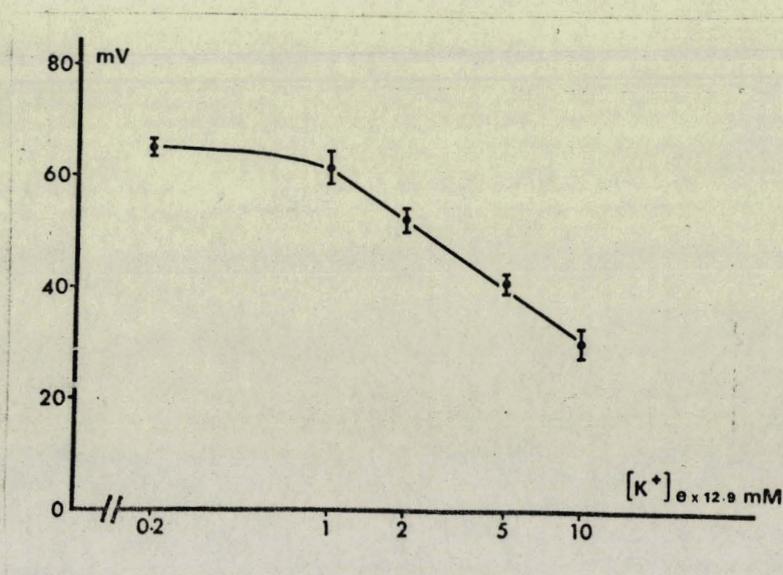


Figure 6 : Variations à pH normal du P.R. en fonction de $[K^+]_e$ (en échelle logarithmique)

La dépolarisation obtenue en milieu hyperpotassique est rapide et s'effectue en deux phases ; une phase brève correspondant à environ 80 p. 100 de la dépolarisation totale enregistrée et une phase lente. Ainsi le passage du milieu normal ($[K^+]_e = 12,9 \text{ mM}$) à un milieu $[K^+]_e = 129 \text{ mM}$ entraîne rapidement (en 15 à 20 secondes) une dépolarisation de 25 mV puis une dépolarisation de 7 mV environ qui s'établit lentement en 2 à 3 minutes.

La réversibilité du phénomène est parfaite, néanmoins un délai de 7 à 10 minutes est nécessaire pour que la repolarisation soit totale.

Le milieu hypopotassique ($[K^+]_e \times 0,2$) entraîne une hyperpolarisation de 5 à 6 mV. En absence totale de K^+ , la membrane s'hyperpolarise de 3 mV environ.

Le P.A., par contre, ne subit pas de modifications notables lorsque le milieu extracellulaire est dépourvu de K^+ (fig. 7). Il apparaît tout au plus une légère modification du post-potentiel.

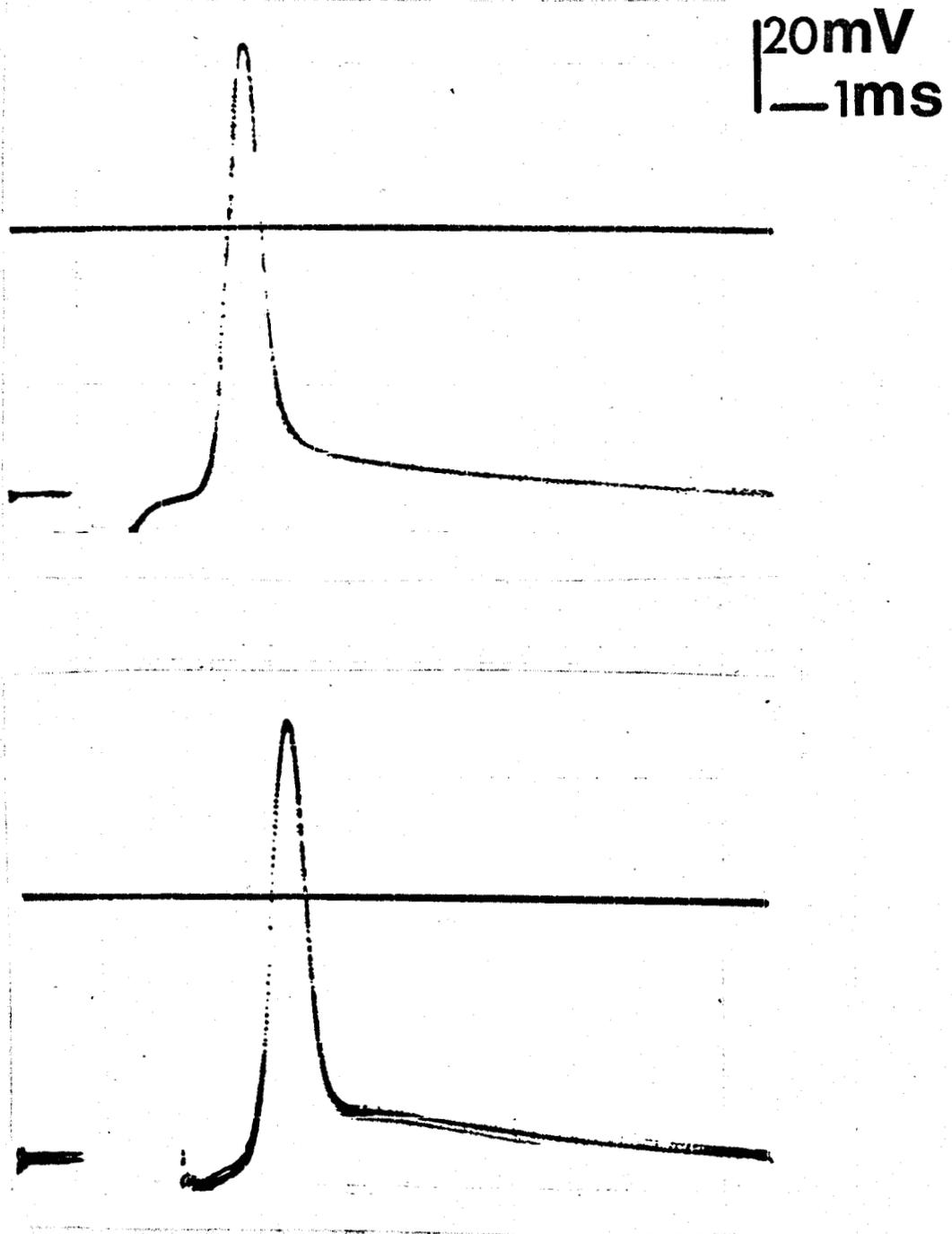


Figure 7 : P.R. et P.A.

- en haut : dans les conditions normales
- en bas : en absence de K^+ externe



Le fait que la pente de la courbe traduisant les variations du potentiel de repos en fonction du logarithme décimal de $[K^+]_e$ n'est que de 32 mV quand $[K^+]_e$ est multipliée par un facteur de 10 (fig. 6), suggère que les ions K^+ n'interviennent pas de façon exclusive dans le maintien du P.R. car, à ce moment, on devrait obtenir une pente de 58 mV. D'autres perméabilités ioniques se trouvent donc impliquées et ce, de façon importante.

L'absence d'effet notable du milieu dépourvu de K^+ sur le P.A. (fig. 7) semble conforme avec le fait démontré sur la fibre géante de calmar que c'est la $[K^+]_i$ qui intervient pendant l'activité électrique, lors de la repolarisation membranaire (HODGKIN et HUXLEY, 1952a). La légère modification du post-potentiel observée peut s'expliquer par l'effet hyperpolarisant du milieu. En effet, le maintien du P.R. à sa valeur initiale par passage à travers la membrane d'un courant constant dépolarisant entraîne lors de l'excitation l'absence de modification du post-potentiel.

1.2. Effet des ions sodium

L'absence de tout ou partie de Na^+ dans le milieu externe entraîne une légère hyperpolarisation (3 mV environ aux très basses concentrations en Na^+ : fig. 9).

L'amplitude du P.A. diminue avec la concentration en ions Na^+ (fig. 8).

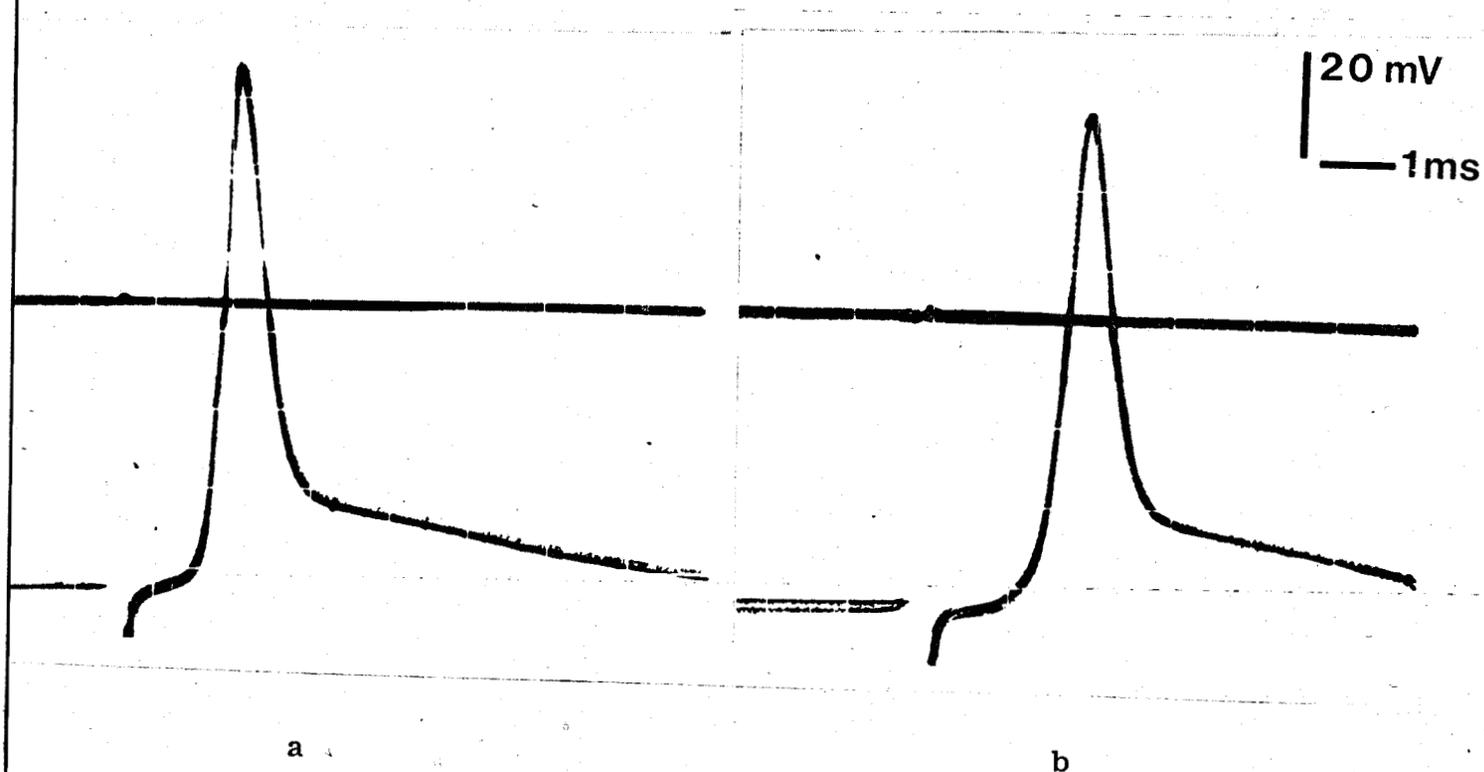


Figure 8 : Action des milieux pauvres en Na^+ sur le P.R. et le P.A.

a) $[\text{Na}^+]_e = 513 \text{ mM (100 p. 100)}$

b) $[\text{Na}^+]_e = 128,25 \text{ mM (25 p. 100)}$

Quand la concentration en Na^+ dans le milieu tombe à 10 p. 100 de la valeur normale, le P.A. disparaît. De rares fibres demeurent néanmoins excitables à ce taux de Na^+ . L'amplitude du P.A. entre certaines limites est une fonction linéaire du logarithme décimal de la concen-

tration externe en Na^+ . La droite représentant les variations de l'amplitude du P.A. en fonction du logarithme décimal de la $[\text{Na}^+]_e$ a une pente de 26 mV (fig. 9).

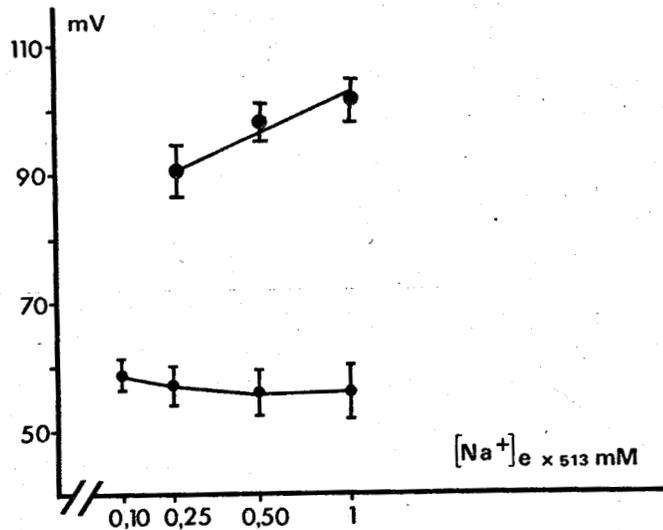


Figure 9 : Variations en fonction du logarithme décimal de $[\text{Na}^+]_e$ de l'amplitude du P.R. () et du P.A. ().

*

*

*

Le fait que le remplacement de tout ou partie de Na^+ du milieu externe ne donne lieu qu'à une faible modification du P.R. permet, semble-t-il de penser que

l'influence de cet ion est faible lors de l'électrogenèse normale de repos ; ceci est conforme aux résultats obtenus sur d'autres structures nerveuses (HODGKIN et HUXLEY, 1952 a; STRICKHOLM et WALLIN, 1967).

Si le Na^+ n'intervient que très peu dans les phénomènes de repos, ses effets sur le P.A. sont des arguments en faveur d'une participation sodique pendant l'activité. Mais le fait que la valeur de la pente de la droite exprimant les variations d'amplitude du P.A. en fonction du logarithme décimal de $[\text{Na}^+]_e$ n'est que de 26 mV (Fig. 9) semble indiquer qu'au sommet du P.A. la valeur du potentiel n'est pas égale à celle de la pile au sodium.

Il est possible d'expliquer la faiblesse de cette pente en supposant que pendant l'activité, l'augmentation de la P_{Na} ne permet pas d'accroître considérablement le rapport des perméabilités de la membrane aux ions Na^+ et aux autres ions, K^+ et Cl^- notamment. Une deuxième hypothèse serait de supposer une activation précoce de la conductance responsable du courant sortant qui permet la repolarisation. Une troisième hypothèse consisterait enfin à faire intervenir une deuxième perméabilité pendant la phase ascendante (courant entrant) en l'occurrence un cation divalent comme cela a été démontré sur certaines structures nerveuses (HODGKIN et KATZ, 1949 ; JUNGE, 1967 ; KERKUT et GARDNER, 1967 ; GEDULDIG et

JUNGE, 1968 ; CHAMBERLAIN et KERKUT, 1969 ; GEDULDIG et GRUENER, 1970 ; KOSTYUK, KRISHTAL et DOROSCHENKO 1974).

1.3. Effet des ions magnésium et calcium

Si l'absence de Mg^{++} n'entraîne aucune modification observable du P.R., la suppression du Ca^{++} dans le milieu externe donne lieu, par contre, à une légère dépolarisation de 4 mV au maximum.

En ce qui concerne l'activité, l'absence des ions Mg^{++} n'entraîne aucune modification du P.A. Par contre, celle des ions Ca^{++} entraîne une baisse d'amplitude de l'inversion de potentiel du P.A. de 3 à 4 mV environ (fig. 10).

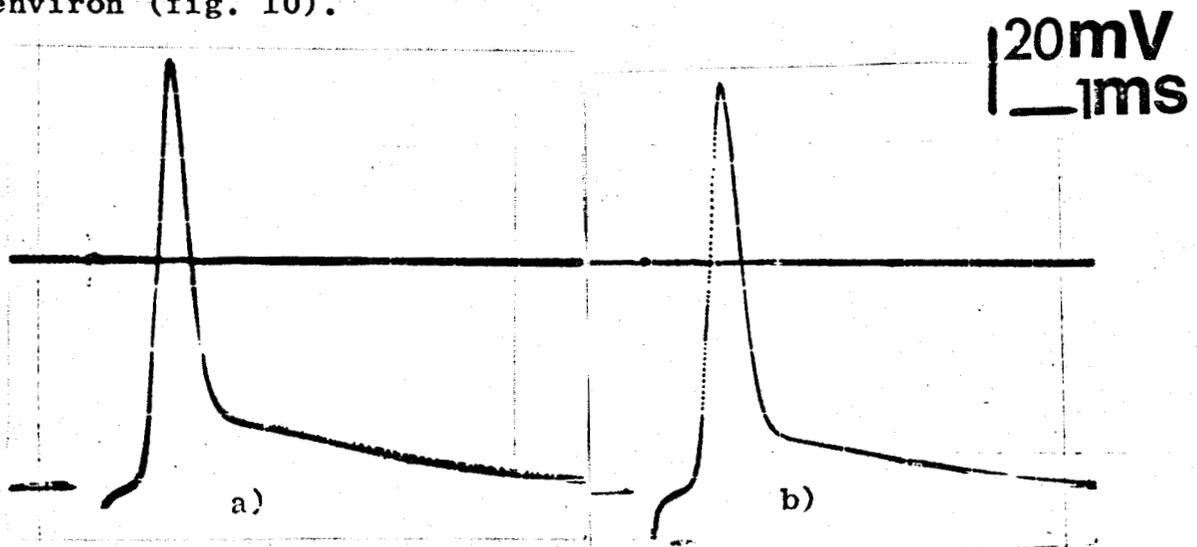


Figure 10 : Effet des ions Ca^{++} sur le P.A.

a) $[Ca^{++}]_e = 11,8 \text{ mM}$

b) $[Ca^{++}]_e = 0 \text{ mM}$. Le P.R. est ramené à sa valeur

normale par un courant hyperpolarisant.

* *

*

L'effet dépolarisant du milieu dépourvu de Ca^{++} ne permet pas raisonnablement d'attribuer à cet ion un rôle très important dans le maintien du P.R., d'autant plus que la dépolarisation observée peut être expliquée par une augmentation de P_{Na} de repos due à la libération des pores membranaires par les ions Ca^{++} comme FRANKENHAUESER et KODGKIN (1957) ont émis l'hypothèse.

En ce qui concerne l'activité, la baisse relativement faible de l'amplitude du P.A. observée en milieu dépourvu de Ca^{++} peut s'expliquer en invoquant le fait que le Ca^{++} favorise l'entrée du Na^+ pendant l'activité comme l'ont montré BRINK (1954), ADELMAN et MOORE (1961), TASAKI, WATANABE et LERMAN (1967) sur l'axone de calmar. L'absence de Ca^{++} réduirait donc légèrement l'amplitude du courant de Na^+ entrant.

1.4. Effet des ions chlorure

Le remplacement dans le milieu externe de l'ion chlorure par l'ion propionate ou l'ion sulfate présumés non perméants, provoque une dépolarisation rapide de la membrane. Cette dépolarisation, de l'ordre de 14 à 16 mV, se fait en deux temps : une phase rapide de quelques secondes au cours de laquelle le P.R. chute brusquement de 12 mV

environ et une phase lente correspondant à 25 p. 100 environ de la dépolarisation totale. Cette dernière phase peut durer quelques minutes. Finalement est observée une repolarisation imparfaite de la membrane, le P.R. se stabilisant à une valeur de 12 mV moins négative que celle du P.R. normal. La pente de la courbe traduisant à pH normal les variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[Cl^-]_e$ à l'état d'équilibre (fin de repolarisation imparfaite) a une valeur de 14 mV (fig. 11).

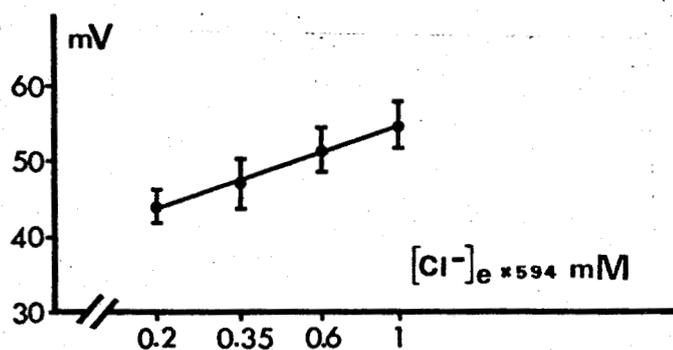


Figure 11 : Variations à pH normal du P.R. en fonction de $[Cl^-]_e$ (échelle logarithmique).

Afin d'évaluer la participation des ions Cl^- à la genèse et au maintien du P.R., une étude est entreprise concernant les effets des milieux hyperpotassiques pauvres en chlore (tableau 2).

Ainsi, si l'on trace la courbe représentant le P.R. en fonction du logarithme décimal de $[\text{K}^+]_e$, on obtient une valeur de pente de 32 mV (fig. 12).

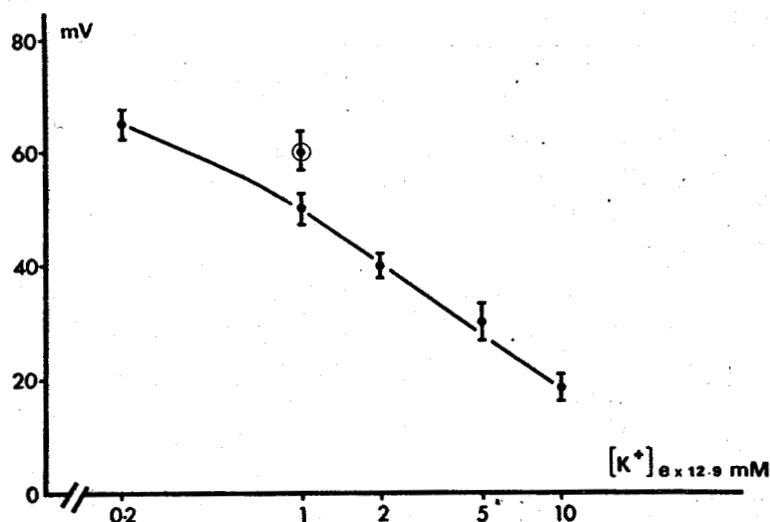


Figure 12 : Variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[\text{K}^+]_e$. L'apport de K^+ est réalisé sous forme de K_2SO_4 et le NaCl est remplacé par du propionate de Na.

$[\text{Cl}^-]_e = 83,7 \text{ mM}$

⊙: P.R. normal

Cette pente de 32 mV est égale à celle obtenue quand, dans les milieux, le chlore est à sa concentration normale (fig. 6).

Ce résultat apparaît à première vue en contradiction avec le fait que dans les conditions d'état stable de potentiel, la pente de la droite traduisant la relation $P.R. = f \log [Cl^-]_e$ n'est pas nulle (fig. 11). Cependant cette contradiction peut n'être qu'apparente dans la mesure où l'existence d'une distribution non exclusivement passive de Cl^- , entre les milieux intra et extracellulaires, peut être postulée. S'il en est ainsi, les pentes de valeur équivalente à $[Cl^-]_e$ normale (fig. 6) et $[Cl^-]_e$ de 83,7 mM (fig. 12) peuvent s'expliquer par une différence de valeur de E_{Cl} due en partie à un certain maintien de $[Cl^-]_i$. Il semble difficile d'attribuer cette faible pente à une augmentation importante de la P_{Na} de repos dans les conditions de faible concentration extracellulaire en chlore. En effet, si dans l'expérience, NaCl est remplacé par du saccharose (tableau 3) la valeur de la pente de la courbe ne varie que de 5 mV. De 32 mV elle passe à 37 mV environ (fig. 13).

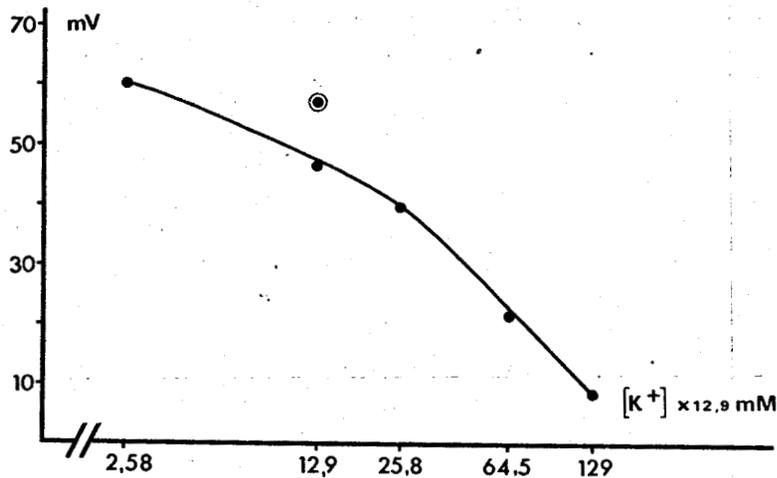


Figure 13 : Variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[K^+]_e$. L'apport de K^+ est réalisé sous forme de K_2SO_4 et NaCl est remplacé par du saccharose.

$$[Na^+]_e = 0 \text{ mM}$$

$$[Cl^-]_e = 83,7 \text{ mM}$$

● P.R. normal

Enfin, si l'on fait agir des milieux dont la composition se réduit à K_2SO_4 , CO_3HNa et saccharose (tableau 4), la pente de la courbe P.R. = $f \log [K^+]_e$ est de 56 mV, donc non significativement différente de celle prévue par l'équation de Nernst (fig. 14).

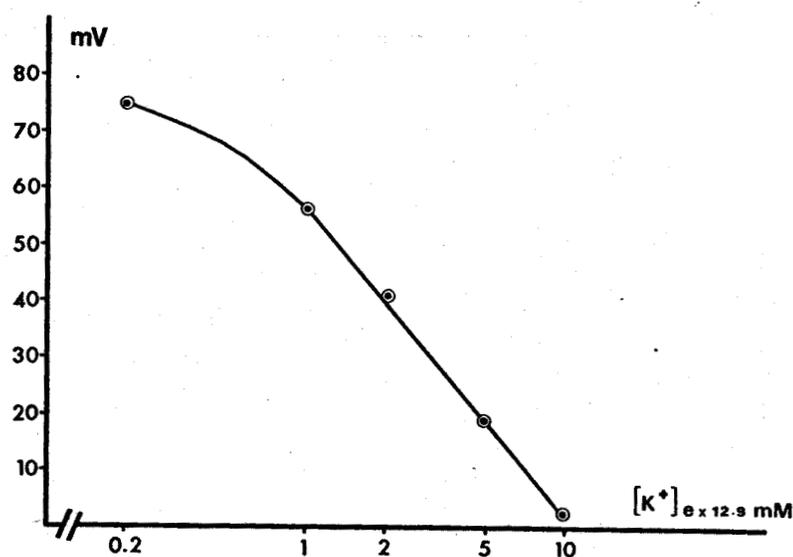


Figure 14 : Variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[K^+]_e$. Apport de K^+ sous forme de K_2SO_4 . Les autres sels à l'exception de CO_3HNa sont remplacés par du saccharose.

Si dans l'expérience précédente K_2SO_4 est remplacé par KCl , la pente de la courbe n'est plus que de 47 mV (fig. 15). En présence de SITS qui bloque la conductance au Cl^- comme cela va être démontré par la suite, la pente n'est pas significativement différente de celle prévue par l'équation de Nernst. (fig. 15)

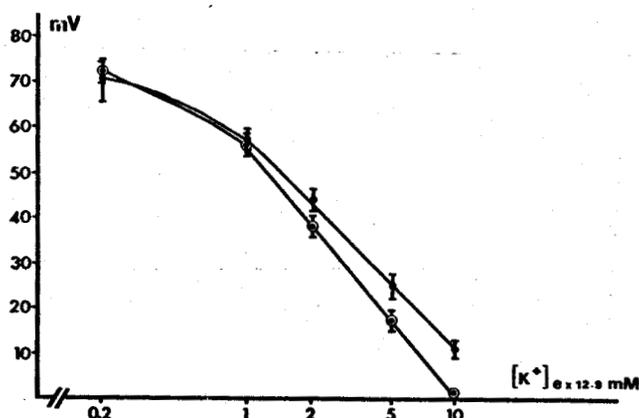


Figure 15 : Variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[K^+]_e$. Apport de K^+ réalisé sous forme de KCl. Les autres sels à l'exception de CO_3HNa sont remplacés par du saccharose (●). En présence de SITS qui bloque G_{Cl} , la pente n'est pas significativement différente de celle prévue par l'équation de Nernst (⊙)

En ce qui concerne le P.A., seul le post-potentiel subit une modification lorsque le NaCl est remplacé par du propionate ou du sulfate de Na. En effet le post-potentiel devient positif (fig. 16).

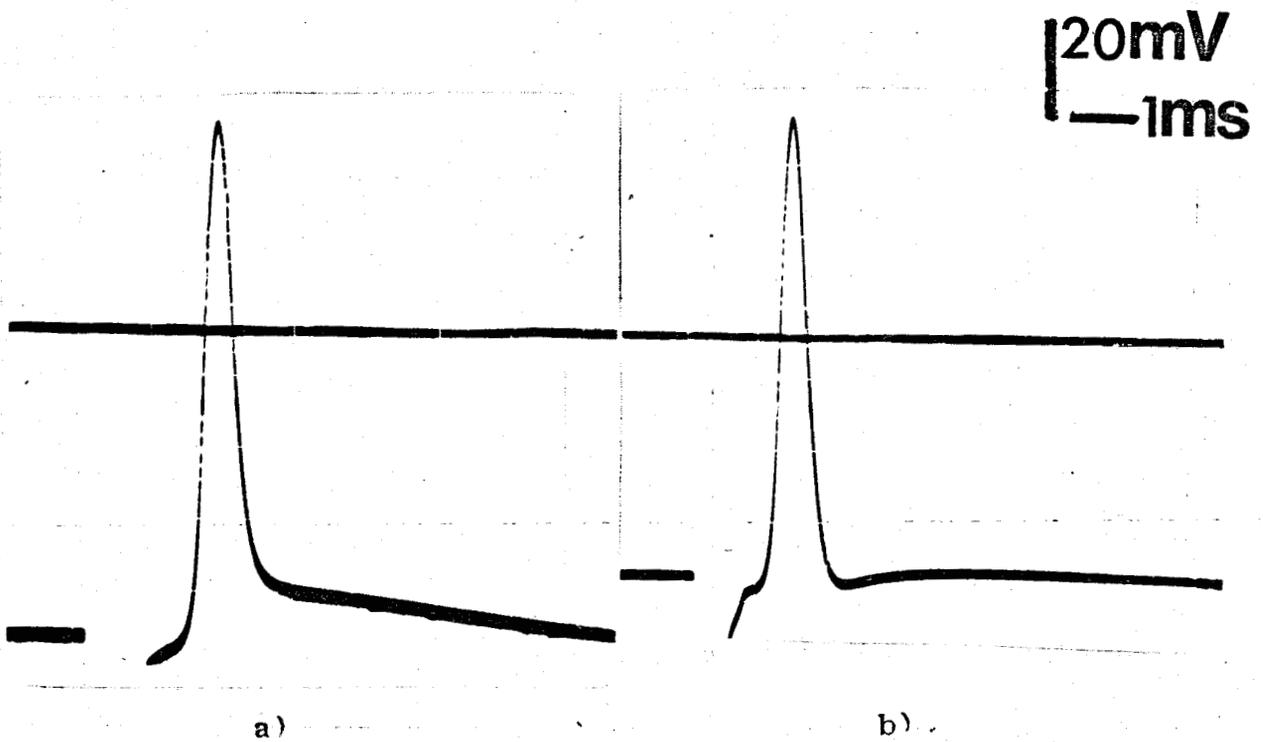


Figure 16 : P.A. obtenu en milieu :

a) de référence

b) où NaCl est remplacé par du propionate de Na.



* *
*

Le fait que ne soit pas observée une repolarisation complète lorsque la fibre baigne dans un milieu pauvre en chlore, semble indiquer que celui-ci peut ne pas être distribué suivant l'équilibre de Donnan et tendrait à démontrer la participation d'un mécanisme actif

au transport de l'anion. Cette hypothèse peut être envisagée puisque l'action des divers milieux notamment de composition en Cl^- et K^+ variée ne l'infirmes pas. En effet, avec le milieu ne renfermant que K_2SO_4 , CO_3HNa et le saccharose, la fibre est en équilibre thermodynamique avec le milieu extérieur, la pente de 56 mV n'étant pas significativement différente de celle prévue par l'équation de Nernst (fig. 14). Si, dans le milieu, KCl remplace K_2SO_4 , la pente n'est plus que de 47 mV. La fibre n'est plus en équilibre thermodynamique (fig. 15).

En ce qui concerne le P.A., il semble que le Cl^- ne joue pas un rôle très important comme cela a été démontré sur l'axone de calmar. L'apparition d'un post-potentiel positif (fig. 16) peut s'expliquer par l'effet dépolarisant du milieu sans chlore.

1.5. Résumé et conclusion des effets des variations de concentration ionique

L'analyse des résultats obtenus à la suite de la variation des concentrations ioniques dans les milieux montre que :

- le P.R. de l'axone de *Carcinus maenas* n'est pas égal à celui d'une pile de concentration aux ions K^+ (fig. 6). Dans ces conditions, la fibre n'est pas en équilibre thermodynamique avec le milieu extracellulaire ;

- le chlore semble intervenir par un mouvement actif dans l'électrogenèse normale de repos. Dans ces conditions $E_m - E_{Cl}$ est différente de zéro, ce que confirme entre autre, la figure 11 ;

- le Na^+ a très peu d'influence.

Le potentiel de membrane de la fibre au repos serait ainsi régi par un potentiel de diffusion (théorie du champ constant de Goldman) où le calcul de ce potentiel ferait intervenir au minimum les activités des ions Cl^- et K^+ des milieux intra- et extracellulaires ainsi que les coefficients de perméabilité membranaire à l'ion Cl^- et à l'ion K^+ .

Quant au P.A., il est déclenché par un accroissement de la conductance de la membrane au Na^+ . Cependant le fait que l'amplitude du P.A. ou, ce qui revient au même, la variation du potentiel de pointe en fonction d'une variation de 10 fois $[Na^+]_e$ ne soit pas égale à 58 mV (fig. 9) permet de penser, puisque $[Ca^{++}]_e$ n'a pas une grande influence, que P_{Cl} et P_K ne deviennent sans doute pas négligeables devant P_{Na} pendant l'activité. Mais le fait que l'on obtienne pas un P.A. d'amplitude plus grande en absence de K^+ ou Cl^- externes incite à penser à une activation précoce de la conductance responsable du courant sortant qui permet la repolarisation. Ainsi, il peut se faire que l'évolution de la rectifica-

tion normale retardée de la fibre nerveuse de crabe soit différente de celle de l'axone de calmar (HODGKIN et HUXLEY, 1952 a).

2 - Effets d'un inhibiteur de perméabilité ionique membranaire : le S.I.T.S.

D'autres preuves de la participation de l'ion chlorure à l'électrogenèse normale sont recherchées en faisant appel à l'effet d'un dérivé du stilbène, le S.I.T.S., inhibiteur présumé de P_{Cl} . En effet, il a été montré sur le globule rouge que le S.I.T.S. (4 - acétamido-4'-isothiocyano stilbène 2,2'-disulphonicacide) bloque réversiblement P_{Cl} de façon spécifique.

A la concentration de $10^{-4}M$, le S.I.T.S. provoque chez la fibre de crabe une dépolarisation brusque de 12 à 14 mV. Pour une fibre, la pente de la courbe traduisant les variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[Cl^-]_e$ est nulle quand les milieux renferment $10^{-4}M$ de S.I.T.S. (fig. 17).

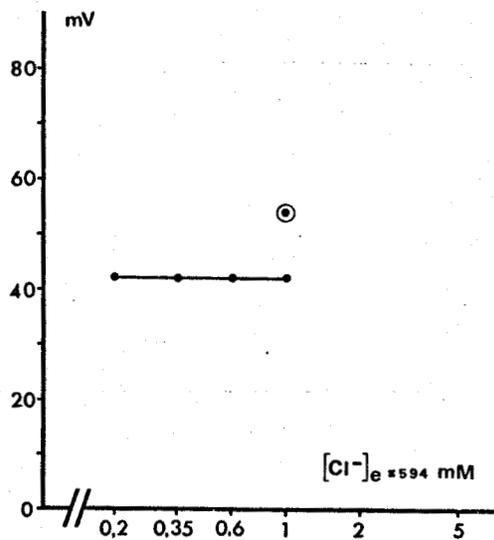


Figure 17 : Variations du P.R. en fonction de $[Cl^-]_e$ (échelle logarithmique). Les milieux contiennent du S.I.T.S. à la concentration de $10^{-4}M$.

⊙ P.R. normal.

Le P.A. bien que modifié à la suite de la dé-polarisation provoquée par le S.I.T.S., conserve une inversion de potentiel identique à celle du P.A. de référence (fig. 18).

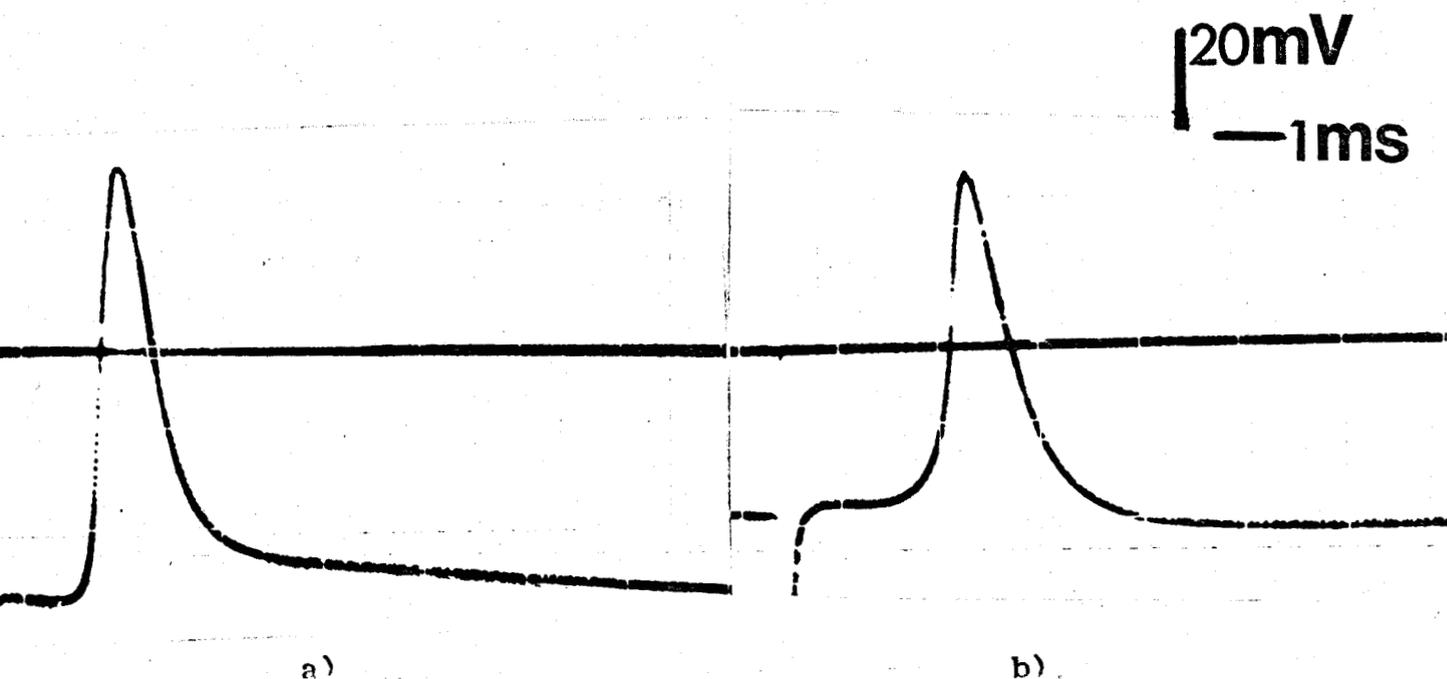


Figure 18 : P.R. et P.A.

- a) en milieu normal
- b) en présence de 10^{-4} M de S.I.T.S.
pH de la solution 7,8

Si on admet que le S.I.T.S. bloque effectivement P_{Cl} au niveau de la fibre nerveuse et compte tenu des résultats obtenus à la suite de la modification des concentrations ioniques, résultats selon lesquels le P.R. correspond, en première approximation, à la valeur d'une pile de diffusion aux ions K^+ et Cl^- , il est permis de penser qu'en présence de cette substance, le P.R. pourra se rapprocher d'une pile aux ions K^+ , le Na^+ n'ayant pas une grande influence sur le P.R. Cette hypothèse est vérifiée en mesurant la valeur du P.R. en présence de

S.I.T.S. lors de variations de $[K^+]_e$. L'expérience dont les résultats ont déjà été donnés (fig. 15) montre que la pente de la courbe traduisant $PR = f(\log [K]_e)$ passe de 47 mV à 56 mV en présence de S.I.T.S. à la concentration de $10^{-4}M$. Cette valeur de 56 mV est identique à celle obtenue en absence de Cl^- (fig. 14).

* * *

*

L'analyse des effets du S.I.T.S. permet de penser que cet inhibiteur agit sur la fibre nerveuse de crabe conformément aux résultats obtenus sur le globule rouge (KNAUF et ROTHSTEIN, 1971 ; CABANTCHIK et ROTHSTEIN, 1972). Puisqu'il est obtenu une pente de 56 mV, valeur non significativement différente de celle prévue par l'équation de Nernst, il est permis de conclure qu'en présence de S.I.T.S., le P.R. de la fibre de crabe correspond, en première approximation, à une pile aux ions K^+ .

Les effets du S.I.T.S. sur le P.A. confirment les résultats obtenus lors des expériences réalisées lorsque $[Cl]_e$ est modifiée (fig. 16) à savoir la non participation de l'ion Cl^- pendant l'activité.

3 - Effets des variations du pH

Il a été démontré sur certaines structures nerveuses que les variations du pH ont un effet sur les perméabilités ioniques membranaires. C'est la raison pour laquelle il a été fait appel ici, en plus des effets des milieux de concentrations ioniques variables et du SITS, aux effets des variations de pH pour tenter de mettre en évidence les perméabilités ioniques responsables du P.R. et du P.A.

Les variations du pH entraînent chez la fibre de crabe des modifications du potentiel membranaire. On verra successivement les perméabilités modifiées à pH acide et à pH basique.

3.1. Perméabilités modifiées à pH acide

En milieu acide la membrane se dépolarise. Cette dépolarisation est d'autant plus marquée que le milieu est plus acide. De 7 mV environ à pH 4,5 elle passe à 11 environ à pH 3,85.

Quant au P.A., on observe en milieu acide sa disparition rapide. Tous ces phénomènes sont parfaitement réversibles.

Pour essayer de connaître la perméabilité qui est modifiée au repos, deux types de milieux ont été testés sur la fibre :

- les milieux à $[K^+]_e$ variable et à $[Cl^-]_e$ constante ;
- les milieux à $[Cl^-]_e$ variable et à $[K^+]_e$ constante,

Le choix de ces deux types de milieux étant justifié par le fait que les ions K^+ et Cl^- semblent participer de façon prépondérante à l'électrogenèse normale de repos.

3.1.1. Effet de la variation de la concentration en ions potassium

La figure 19 montre une diminution de la pente de la courbe traduisant les variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[K^+]_e$ en milieu acide. De 32 mV à pH 7,8 cette pente n'est plus que de 24 mV à pH 4,50 (figure 19).

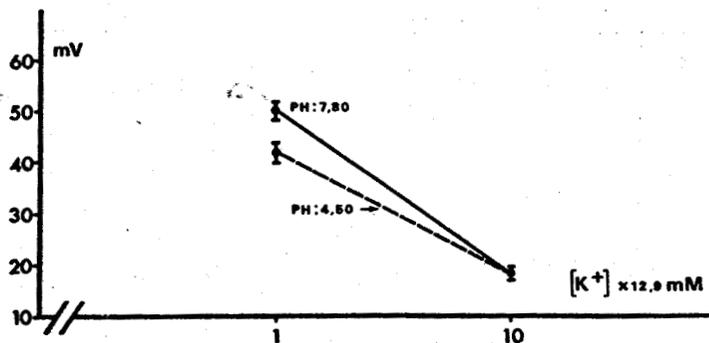


Figure 19 : Variation du P.R. en fonction de $[K^+]_e$ (échelle logarithmique)

Cette diminution de la valeur de pente peut être attribuée soit à une baisse de P_K , soit à une augmentation de P_{Cl} . La vérification de ce point nécessite entre autre l'étude des effets produits par les milieux acides, de concentration en chlore variable.

3.1.2. Effet de la variation de la concentration en chlore

Il a déjà été montré (fig. 11) que la pente de la courbe traduisant à pH normal (7,8) les variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[Cl^-]_e$ est de 14 mV. Lorsque dans ces milieux le pH tombe à 4,5, la valeur de pente est de 22,5 mV (fig. 20).

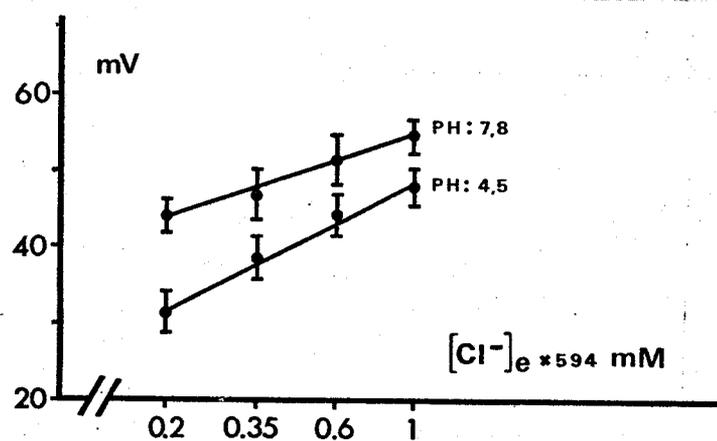


Figure 20 : Variations à pH 4,5 du P.R. en fonction de $[Cl^-]_e$ (échelle logarithmique)

A pH 3,85 la pente de la courbe est de 43 mV pour des $[Cl^-]_e$ supérieures à 207,9 mM (fig. 21). Pour des $[Cl^-]_e$ supérieures à 207,9 mM (fig. 21). Pour des $[Cl^-]_e$ inférieures, le potentiel demeure presque constant.

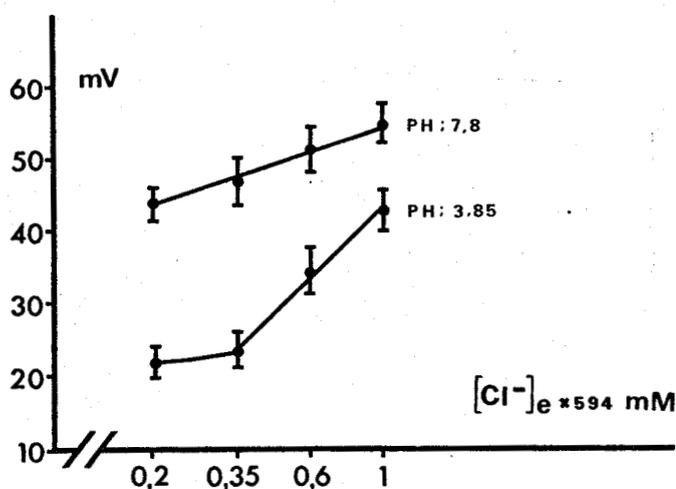


Figure 21 : Variations à pH 3,85 du P.R. en fonction de $[Cl^-]_e$ (échelle logarithmique).

A pH 3,75, bien que les phénomènes observés ne soient plus parfaitement réversibles, la variation de potentiel atteint une valeur de 60 mV pour une variation de 10 fois $[Cl^-]_e$ pour les valeurs de $[Cl^-]_e$ supérieures à 207,9 mM (fig. 22).

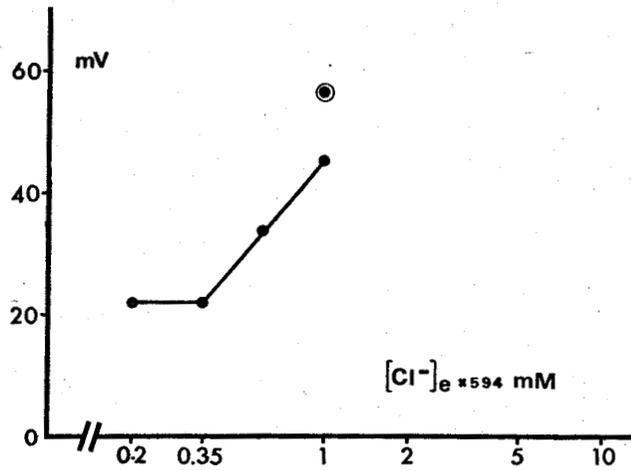


Figure 22 : Variations à pH 3,75 du P.R. en fonction de

$[Cl^-]_e$ (échelle logarithmique)

● P.R. normal

3.1.3. Effets des milieux acides sur le potentiel d'action

Les ions H^+ bloquent rapidement et réversiblement la réponse électrique de la fibre (fig. 23).

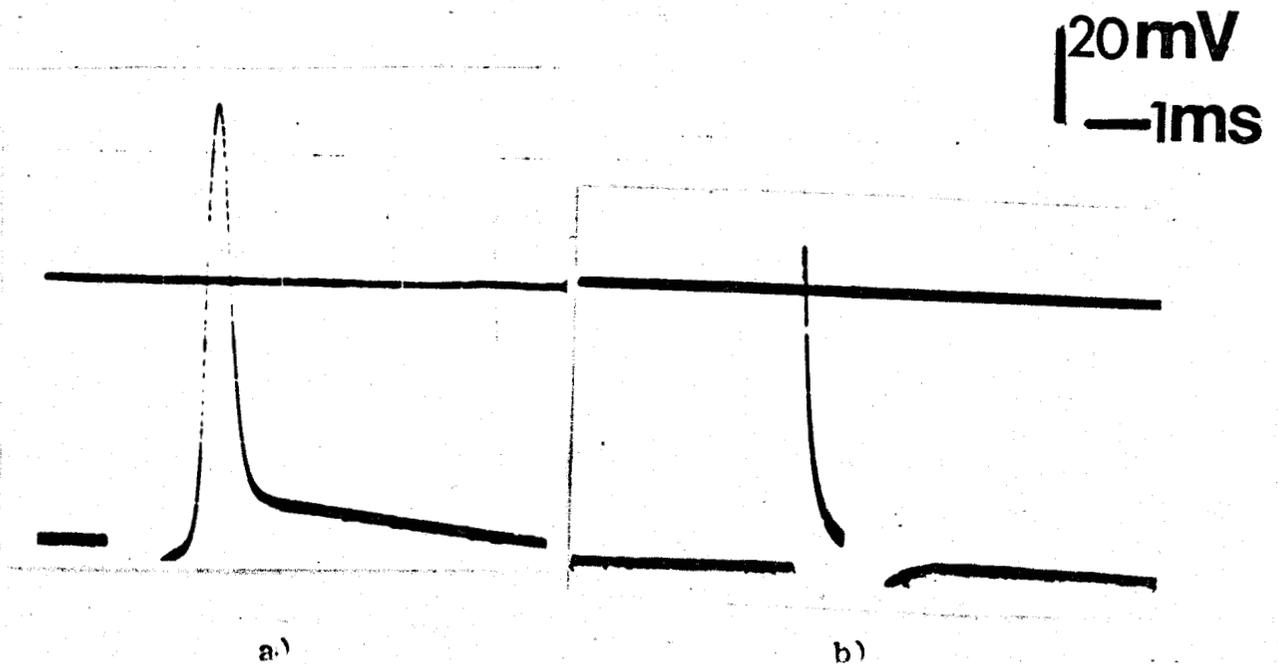


Figure 23 : Action des milieux acides sur le P.A.

- a) P.A. en milieu normal (pH 7,8)
- b) disparition du P.A. quand le pH du milieu est de 4,5.

Cette perte d'activité réversible n'est pas due à la dépolarisation de repos puisque la repolarisation de la membrane par un courant constant ne permet pas d'obtenir un P.A., même en augmentant l'intensité de stimulation (fig. 23 b). Il semble donc que les ions H^+ en excès interviennent sur l'activation de la conductance sodique responsable du courant entrant.

* *

*

A pH acide, on observe une diminution de la pente de la courbe traduisant les variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[K^+]_e$ (fig. 19). A l'inverse, on constate une augmentation de la pente de la courbe P.R. - f (log $[Cl^-]_e$) (fig. 20, 21 et 22). L'analyse de ces résultats permet de penser que, dans ces conditions, le rapport P_K/P_{Cl} diminue. Ce résultat est conforme à celui trouvé chez la fibre myélinisée de grenouille (HILLE, 1973). La figure 19 montre que le P.R. se révèle

être le même à pH 7,8 et à pH 4,5 quand la $[K^+]_e$ est égale à 129 mM. Comme l'accroissement de $[K^+]_e$ entraîne généralement une augmentation de P_K , l'absence de variation pour $[K^+]_e = 129$ mV peut se comprendre. Quant à la perte de l'activité de la fibre en milieu acide, elle est conforme aux travaux effectués sur la fibre nerveuse de grenouille (WOODHULL, 1973). Cet auteur démontre en effet qu'en potentiel imposé, le courant entrant de Na^+ est considérablement diminué quand le pH passe d'une valeur normale de 7 à une valeur de 5.

3.2. - Perméabilités modifiées à pH basique

3.2.1. Effet de la variation de $[K^+]_e$

Il a été montré (fig. 19) que la pente de la courbe $PR = f(\log [K^+]_e)$ est plus forte à pH 7,8 qu'à pH 4,5. On devrait s'attendre par conséquent à observer une pente plus forte que la normale à pH alcalin. Effectivement, la valeur de pente de la courbe p.R. = $f(\log [K^+]_e)$ à pH 10 est de 42 mV (fig. 25), et la fibre s'hypermolarise de 4 à 6 mV environ pour une $[K^+]_e$ et une $[Cl^-]_e$ normales.

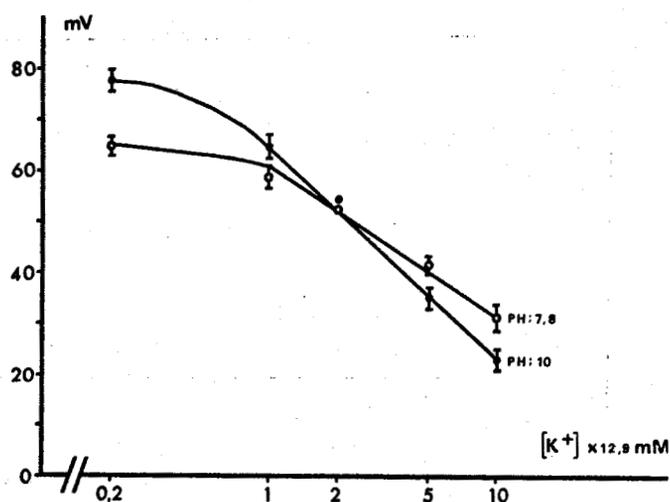


Figure 24 : Variations à pH 10 du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[K^+]_e$.

3.2.2. Effet de la variation de la concentration en chlore

La courbe traduisant les variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[Cl^-]_e$ montre qu'à pH 10, le P.R. devient quasiment indépendant de la $[Cl^-]_e$ (fig. 25).

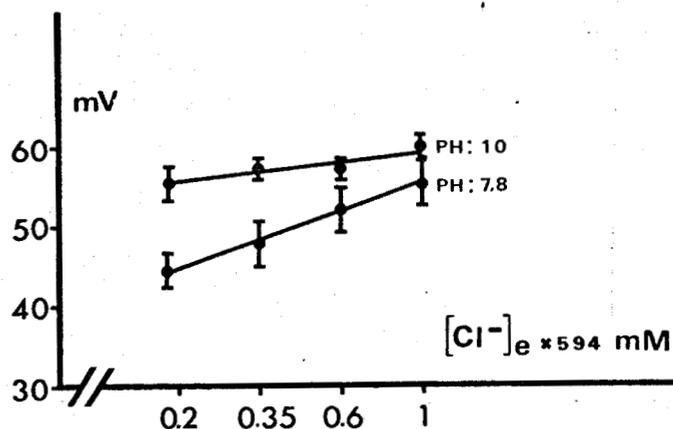


Figure 25 : Variation à pH 10 du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[Cl^-]_e$.

3.2.3. Effets des milieux basiques sur le P.A.

A pH 10, la fibre devient inexcitable et contrairement à ce qu'on observe en milieu acide, le retour en milieu normal ne permet, qu'en de très rares cas, de retrouver un P.A. bien que le P.R. recouvre sa valeur initiale.

*

*

*

L'analyse des résultats concernant l'action des milieux à pH 10 montre que contrairement aux milieux

acides le rapport P_K/P_{Cl} augmente. En effet, le P.R. tend vers une pile d'équilibre aux ions K^+ (fig. 24), puisque comme l'indique la figure 26 le P.R. devient presque insensible à la variation de $[Cl^-]_e$.

3.3. Résumé et conclusion des effets des variations de pH.

Les variations de pH ont des effets importants sur les perméabilités ioniques membranaires de la fibre nerveuse de crabe. La figure 19 montre une diminution de pente de la courbe P.R. = f (log $[K^+]_e$) à pH acide. En milieu acide, les figures 11, 20, 21 et 22 indiquent que l'on tend vers une pile aux ions Cl^- par suite du blocage de P_K de plus en plus important au fur et à mesure que la valeur du pH diminue. Ce résultat est conforme à celui donné par DROUIN et THE (1969), HILLE (1973) sur la fibre myélinisée de grenouille.

Quant au blocage de l'activité par les protons, il est en accord avec les résultats de HILLE (1968) et WOODHULL (1973) sur la fibre myélinisée de grenouille, qui montrent que les ions H^+ bloquent P_{Na} pendant l'activité.

Concernant l'action des pH basiques sur le P.R., la figure 19 et la figure 24 montrent une augmentation de la pente de la courbe P.R. = f (log $[K^+]_e$). Le P.R. tend vers une pile d'équilibre aux ions K^+ montrant que P_K domine les autres perméabilités et en particulier celle

au Cl^- , ce qui est confirmé par la figure 25 qui montre que le P.R. est faiblement dépendant de $[\text{Cl}^-]_e$. Cela semble indiquer qu'à pH 10, P_{Cl} est bloquée de façon très importante. Enfin le fait qu'en milieu de $[\text{Cl}^-]_e$ variable à pH normal, le P.R. ne retrouve pas sa valeur initiale après un certain délai, plaide, semble-t-il, en faveur de sa distribution non exclusivement passive.

Ainsi de l'étude des effets de variations de pH, il semble donc que deux perméabilités, P_{K} et P_{Cl} soient particulièrement impliquées dans l'électrogenèse normale de repos. Ce résultat vient appuyer ceux obtenus concernant la variation des concentrations ioniques extracellulaires à pH normal et celui relatif au S.I.T.S.

De plus les ions H^+ bloquent le courant entrant porté par les ions Na^+ , conformément à ce qui a été montré sur d'autres structures nerveuses.

4 - Effets des milieux de pH 11

Dans le but de mieux inhiber les perméabilités sensibles aux pH alcalins, en l'occurrence celle au Cl^- , il a été fait appel aux effets de milieux dont le pH est égal à 11. Les résultats escomptés, à savoir une pente plus forte qu'à pH 10 de la courbe traduisant les variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[\text{K}^+]_e$ ne sont pas observés. Il se produit, au contraire, des phénomènes extrêmement différents de ceux obtenus à pH 10. C'est ainsi que, si l'on fait agir un milieu dont la $[\text{K}^+]_e$

est normale et dont le pH est égal à 11, il se produit une très forte dépolarisation. D'une valeur moyenne de - 56 mV environ, dans les conditions normales, le P.R. passe en 5 mn à celle de - 7 mv environ. Sur quelques fibres, le P.R. s'annule ou peut même devenir positif. Si à la suite de cette dépolarisation, agissent des milieux hyperpotassiques de pH 11 ($K_e \times 2$; $K_e \times 5$), il est observé une repolarisation complète après 20 mn environ (fig. 26 et 27). D'ailleurs dans le cas où la concentration de K^+ est multipliée par un facteur de 5, le P.R. ne se stabilise pas à la valeur normale. En effet, après une légère hyperpolarisation (3 mV environ), on observe une faible dépolarisation précédant une stabilisation du P.R. à une valeur légèrement inférieure à la normale (fig. 27).

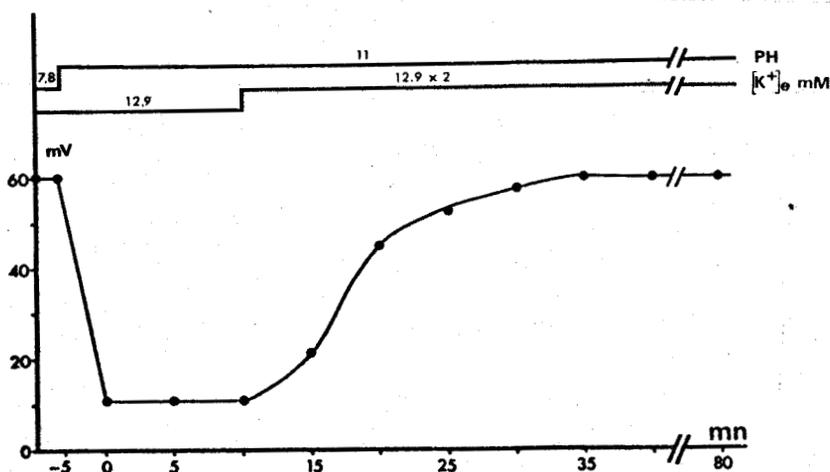


Figure 26 : Evolution du P.R. en présence d'un milieu de $[K^+]_e$ normale et d'un milieu de $[K^+]_e \times 2$. Le pH des milieux est égal à 11.

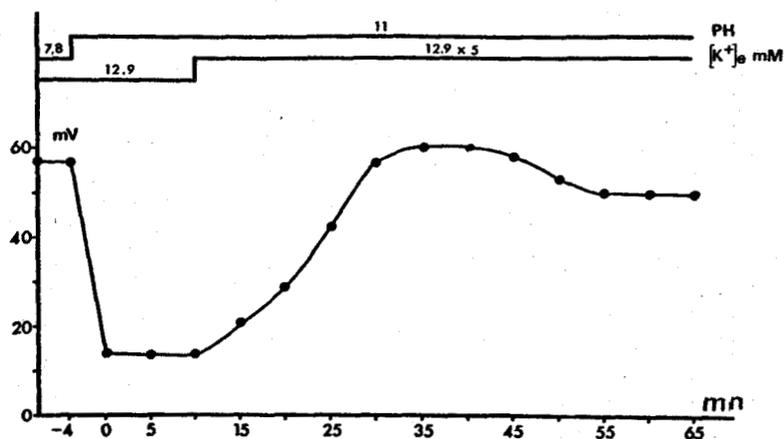


Figure 27 : Evolution du P.R. en présence d'un milieu de $[K^+]_e$ normale et d'un milieu de $[K^+]_e \times 5$. Le pH des milieux est égal à 11.

L'effet repolarisant paradoxal des milieux hyperpotassiques ne peut s'expliquer qu'en faisant appel à l'effet d'une pompe électrogène. Dans le but de connaître la nature de cette pompe, des expériences pouvant provoquer une inhibition du courant électrogène repolarisant ont été entreprises. Dans ce but, les effets de l'ouabaïne et des ions Li^+ remplaçant des ions Na^+ ont été étudiés.

4.1. Effets de l'ouabaïne

Si à la suite de la dépolarisation provoquée par le milieu de $[K^+]_e$ normale et de pH 11, agit un milieu dont la $[K^+]_e$ est multipliée par 2, contenant en outre de l'ouabaïne à la concentration de 10^{-3} , la repolarisation est

considérablement réduite par rapport à celle obtenue en absence du glycoside cardiaque (fig. 26). En effet, le potentiel de membrane décroît à nouveau pour se stabiliser à une valeur proche de celle correspondant à $[K^+]_e$ normale et pH 11 (fig. 28).

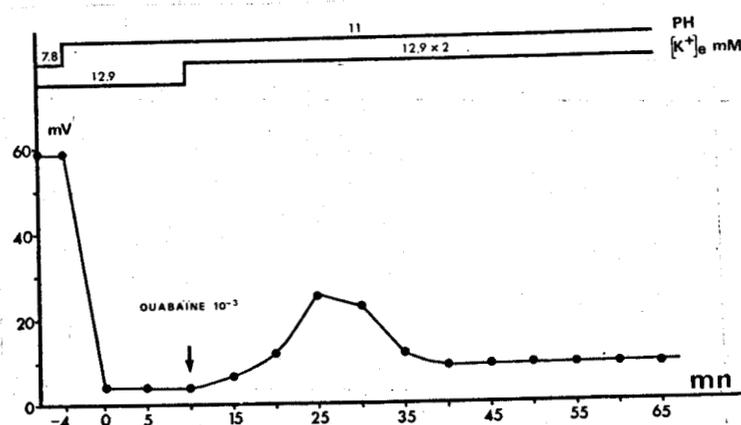


Figure 28 : Evolution du P.R. en présence d'un milieu de $[K^+]_e$ normale et d'un milieu de $[K^+]_e \times 2$ contenant de l'ouabaïne à la concentration de 10^{-3} . Le pH des milieux est égal à 11.

Ainsi puisqu'il est connu que l'ouabaïne est un inhibiteur spécifique de la pompe $Na^+ - K^+$ (SKOU, 1960, CALDWELL, 1960, BAKER, 1965), l'effet repolarisant du milieu enrichi en K^+ correspond à l'activation de cette pompe. D'ailleurs cette hypothèse est en accord avec l'absence d'effet de l'ouabaïne en milieu $[K^+]_e \times 5$ (fig. 29).

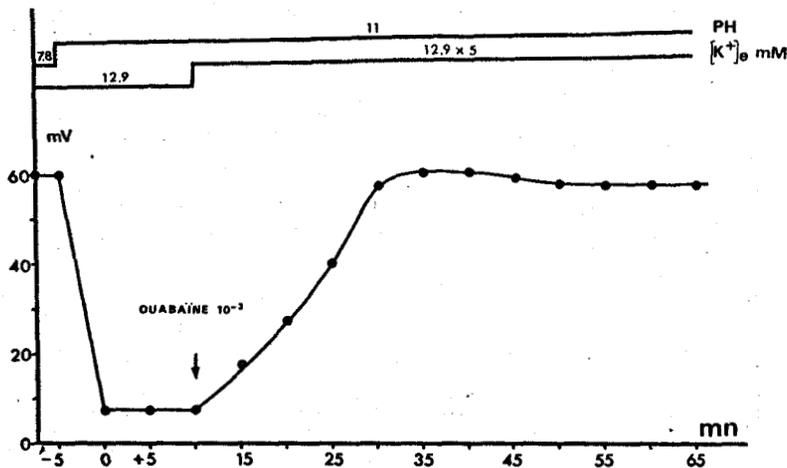


Figure 29 : Evolution du P.R. en présence d'un milieu de $[K^+]_e$ normale et d'un milieu de $[K^+]_e \times 5$ contenant de l'ouabaïne à la concentration de 10^{-3} . Le pH des milieux est égal à 11.

On sait en effet que le K^+ à forte concentration lève l'inhibition provoquée par l'ouabaïne (SKOU, 1960, HOFFMAN. 1966).

4.2. Effets des ions Li^+

Il est connu que le remplacement du Na^+ du milieu par du Li^+ entraîne une inhibition de la pompe $Na^+ - K^+$. Le Li^+ en effet, n'est pas échangeable avec le K^+ via la pompe $Na^+ - K^+$. Par conséquent, si l'activation de la pompe est responsable de la repolarisation à pH = 11, celle-ci ne doit plus se produire quand la $[K^+]_e$ est augmentée. En effet, le remplacement du Na^+ des milieux par

du Li^+ ne permet plus comme le montre la figure 30, la repolarisation ; le potentiel de membrane devenant indépendant de la concentration de $[\text{K}^+]_e$.

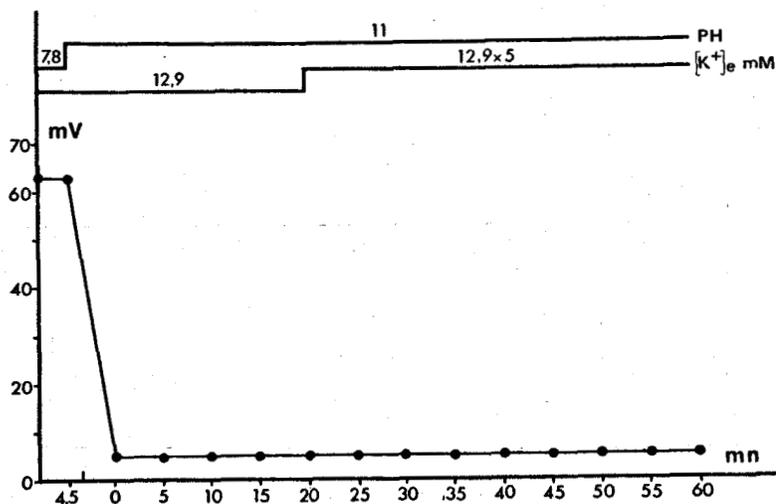


Figure 30 : Evolution du P.R. en présence d'un milieu de $[\text{K}^+]_e$ normale et d'un milieu de $[\text{K}^+]_e \times 5$. Dans ces milieux Li^+ remplace Na^+ . Le pH des milieux est égal à 11.

4.3. Résumé et conclusion.

L'analyse des résultats obtenus à pH 11 permet, semble-t-il, de conclure à l'existence d'une pompe $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ électrogène très active, au niveau de la fibre nerveuse de crabe, tout au moins dans certaines conditions. En effet à pH normal, les effets du Li^+ ne se traduisent que par une très légère dépolarisation (2 à 3 mV) comme d'ailleurs l'action de l'ouabaine. Ceci montre l'existence de la pompe dont l'activité est nécessaire dans les conditions

normales du fait d'une perméabilité de la membrane au Na^+ , K^+ et Cl^- . Dans les conditions normales cependant, la pompe ne produit pas de courant net.

L'existence d'une pompe électrogène à pH 11 peut d'autant plus être retenue que CONNELLY (1959) sur la fibre nerveuse de crabe, suggère l'existence d'une pompe sodique électrogène pour expliquer l'hyperpolarisation post-tétanique observée sur cette préparation.

Enfin, n'ayant pour l'instant à notre disposition que l'évolution du potentiel de membrane, en fonction du pH il ne nous est pas possible de donner une explication valable du changement important de comportement de la fibre entre pH 10 et pH 11 : de pH 7,8 à pH 10, la fibre s'hyperpolarise alors qu'elle est presque complètement dépolarisée à pH 11.

V - DISCUSSION - CONCLUSION

Les résultats présentés dans ce mémoire ont conduit à la formulation d'hypothèses concernant les perméabilités ioniques responsables du potentiel de membrane de la fibre nerveuse du crabe *Carcinus maenas*. Il convient maintenant de rassembler ces résultats et de les discuter en les confrontant avec l'ensemble de ceux acquis sur les cellules nerveuses et éventuellement sur d'autres types de cellules.

1 - Potentiel de repos

Le P.R. mesuré grâce à la technique du pont de saccharose présente une valeur moyenne de - 56 mV ($\sigma = \pm 6$ mV, n = 76). Cependant, JULIAN et Coll. (1962) sur l'axone de homard trouvent, avec la même technique de mesure, une valeur du P.R. de - 90 à - 130 mV alors qu'elle n'est que d'environ - 71 mV avec la technique des microélectrodes (DALTON, 1958). La technique du pont de saccharose permet néanmoins sur d'autres structures nerveuses (telles la fibre de calmar ou de seiche) d'avoir un accord parfait entre les valeurs du P.R. enregistrées par l'une et l'autre de ces deux techniques. De plus, ici, la constance du P.R. pendant plus de deux heures est un argument en faveur de la validité de cette technique.

L'étude des effets de la variation de la concentration externe des ions montre que la valeur du P.R. ne correspond pas à celle de la pile de concentration aux ions K^+ . En effet la pente de la courbe traduisant les variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[K^+]_e$ n'est que de 32 mV à 20°C. pour une variation de 10 fois de $[K^+]_e$. Ce résultat est conforme à ceux obtenus sur la fibre nerveuse de calmar ou de seiche (HODGKIN et STAMPFLI, 1951 ; BAKER et Coll., 1962), d'écrevisse (STRICKHOLM et WALLIN, 1967) et de grenouille (HODGKIN, 1951).

Etant donné la faible participation de P_{Na} dans l'électrogénèse normale de repos et l'absence d'influence de P_{Ca} et P_{Mg} , P_{Cl} doit probablement jouer un rôle important dans les phénomènes électriques de repos. Le fait que la pente de la courbe P.R. = f ($\log [K^+]_e$) n'est que de 32 mV permet de penser que Cl^- peut être en partie distribué activement de part et d'autre de la membrane. En effet, si le chlore était distribué passivement, la pente de la courbe P.R. = f ($\log [K^+]_e$) serait de 58 mV conformément à la loi de Donnan.

De fait, la courbe traduisant les variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[Cl^-]_e$ présente une pente de 14 mV, ce qui indique que E_{Cl} , valeur de la pile au chlore, est différente de celle du potentiel membranaire.

La distribution active de chlore a été mise en évidence sur l'axone géant de calmar (MAURO, 1954 ; KEYNES, 1963), sur l'axone d'écrevisse (STRICKHOLM et WALLIN, 1967) sur des neurones de mollusques, (CHIARANDINI et GERSCHENFELD, 1967 ; RUSSEL et BROWN, 1972). Signalons en outre que sur la fibre musculaire striée de *Carcinus maenas*, GOUBEL (1973) montre que le chlore est en partie distribué activement.

Il semble donc, en toute rigueur, que le P.R. de l'axone de *Carcinus maenas* corresponde à une pile de diffusion aux ions K^+ , Na^+ et Cl^- ; mais étant donné la

valeur faible de P_{Na} , il est possible, en première approximation, d'écrire l'équation permettant le calcul du

P.R. :

$$P.R. = \frac{RT}{F} \log \frac{P_K [K^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_e}{P_K [K^+]_e + P_{Cl} [Cl^-]_i}$$

Cette hypothèse est corroborée par l'étude du S.I.T.S. et du pH. En effet, en présence de S.I.T.S. (dérivé disulfoné du stilbène) P_{Cl} est inhibée comme l'ont montré KNAUF et ROTHSTEIN (1971), CABANTCHIK et ROTHSTEIN (1972) sur le globule rouge. En présence de cette substance, la pente de la courbe traduisant les variations du P.R. en fonction du logarithme décimal de $[K^+]_e$ est de 56 mV ; cette valeur est non significativement différente de celle prévue par l'équation de Nernst. Dans ces conditions la fibre se comporte, semble-t-il, comme une électrode aux K^+ .

Quant aux effets du pH, ils sont en accord avec ceux obtenus sur certaines structures nerveuses et également sur d'autres tissus excitables :

- blocage de la conductance aux cations aux pH acides, phénomène également trouvé par CHALAZONITIS (1963) sur le neurone géant d'Aplysie et d'Helix, HILLE (1968), DROUIN et THE (1969), HILLE (1973) sur la fibre de grenouille, STRICKHOLM et Coll. (1969), SHRAGER (1974) sur la fibre d'écrevisse. En milieu très acide (pH 3,75) le P.R. correspond à une pile de concentration aux ions Cl^- ;

- blocage de la conductance aux anions aux pH basiques. A pH 10, la valeur du P.R. tend vers celle de la pile aux ions K^+ . En effet, la pente de 32 mV à pH normal, de la relation $PR = f \log [K^+]_e$ passe à 42 mV à pH 10. Le même effet est obtenu sur la fibre musculaire d'écrevisse par DE MELLO et HUTTER (1966).

Les effets du S.I.T.S. et de la variation du pH semblent confirmer les résultats obtenus à la suite de la variation des concentrations ioniques externes, à savoir que le P.R. est principalement contrôlé par K^+ et Cl^- .

A pH 11 cependant, la fibre présente un comportement inattendu : une forte dépolarisation à $[K^+]_e$ normale apparaît, qui peut être annulée totalement par l'addition de K^+ au milieu. Cette repolarisation peut s'expliquer en faisant appel à l'action de la pompe $Na^+ - K^+$ électrogène dans ces conditions. La démonstration est apportée en inhibant la pompe, par exemple en utilisant l'ouabaine ou en remplaçant les ions Na^+ extracellulaires par des ions Li^+ . En effet, l'ouabaine est un inhibiteur spécifique de cette pompe comme cela a été démontré par de nombreux auteurs dont SCHATZMANN (1953), GLYNN (1957) sur le globule rouge, CALDWELL et KEYNES (1959), SKOU (1960), CALDWELL (1960), CALDWELL et Coll. (1960), BAKER et Coll. (1969), de WEER (1970), de WEER et GEDULDIG (1973) sur l'axone géant de calmar, BAKER (1965) sur le nerf de crabe, SENFT (1967) sur l'axone de homard.

Sur notre préparation, l'ouabaïne agit de la même façon puisqu'elle empêche, à pH 11, la repolarisation provoquée par le milieu hyperpotassique. Cependant, la concentration en K^+ ne doit pas être trop forte puisqu'il est connu que le K^+ en excès lève l'action de l'inhibition de l'ouabaïne. Ceci a été démontré aussi par SCHATZMANN (1953), GLYNN (1957), HOFFMANN (1966) sur le globule rouge, BAKER et WILLIS (1970) sur des cellules de mammifères.

De même, les résultats obtenus par remplacement des ions Na^+ par des ions Li^+ sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs, KEYNES et SWAN (1959) sur la fibre musculaire de grenouille, SKOU (1965) sur l'axone de calmar, PLOEGER et DEN HERTOOG (1973) sur la fibre amyélinique de rat. On observe une inhibition de la pompe, le Li^+ n'étant pas échangeable via la pompe $Na^+ - K^+$.

Il existerait donc au niveau de la fibre nerveuse de *Carcinus maenas* une pompe électrogène très active, dans certaines conditions tout au moins. Cette hypothèse peut d'autant plus être retenue que CONNELLY (1959) sur la fibre de crabe, évoque également l'existence d'une pompe électrogène sodique pour expliquer l'hyperpolarisation post-tétanique.

2 - Potentiel d'action

Le P.A. est principalement contrôlé par le mouvement des ions Na^+ . Ce résultat est conforme à ceux obtenus sur les axones géants de céphalopodes (HODGKIN et HUXLEY, 1939 ; CURTIS et COLE, 1942 ; HODGKIN et HUXLEY 1952 a). Cependant, le fait que la courbe traduisant l'amplitude du P.A. en fonction du logarithme décimal de $[\text{Na}^+]_e$ ne soit que de 26 mV à 20°C pour une variation de $[\text{Na}^+]_e$ de 10 fois, amène à un certain nombre d'hypothèses pouvant expliquer ce fait :

- l'augmentation de P_{Na} pendant l'activité ne permet pas d'accroître considérablement le rapport de cette perméabilité sur celles aux ions K^+ et Cl^- ;

- la participation éventuelle de P_{Ca} lors de la phase de dépolarisation comme l'ont montré HODGKIN et KATZ (1949) sur l'axone de calmar, KERKUT et GARDNER (1967) sur le neurone d'aplysie, KOSTYUK et Coll. (1974) sur le neurone d'*Helix pomatia* ;

- enfin une troisième hypothèse supposerait l'existence d'une activation précoce de la conductance responsable du courant sortant assurant la repolarisation. Ainsi la rectification normale retardée aurait une cinétique différente de celle de l'axone de calmar (HODGKIN et HUXLEY, 1952 a).

Seule la dernière hypothèse mérite d'être retenue. En effet, les deux premières ne le peuvent raisonna-

blement car, d'une part, l'absence de K^+ et Cl^- dans le milieu externe ou le blocage de P_{Cl} par le S.I.T.S., et, d'autre part, l'absence de Ca^{++} externe n'entraînent que de faibles variations du décours de la repolarisation liées, selon toute vraisemblance, à la modification du P.R.

En conclusion, nos résultats ont permis d'émettre un certain nombre d'hypothèses quant à l'électrogénèse de la fibre nerveuse de crabe. En particulier :

1) le P.R. correspond en première approximation à une pile de diffusion aux ions K^+ et Cl^- ;

2) le chlore pourrait être en partie distribué activement de part et d'autre de la membrane cellulaire ;

3) l'existence d'une pompe électrogène est démontré à pH alcalin (pH = 11) ;

4) une rectification normale, précoce est possible. La technique du pont de saccharose s'étant révélée satisfaisante, il pourra maintenant être entreprise l'étude, en potentiel imposé, des courants ioniques membranaires.

RESUME

- 1) Le P.R. de la fibre nerveuse du crabe *Carcinus maenas* correspond en première approximation à une pile de diffusion aux ions K^+ et Cl^- , la distribution du chlore étant en partie active.
- 2) Les milieux fortement alcalins permettent de mettre en évidence une pompe électrogène.
- 3) La rectification normale retardée serait précoce au niveau de la fibre nerveuse du crabe *Carcinus maenas*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADELMAN, W.J. Jr et MOORE, J.W. (1961)
Action of external divalent ion reduction on sodium movement in the squid giant axon.
J. gen. Physiol., 45 : 93
- BAKER, P.F. (1965)
Phosphorus metabolism of intact crab nerve and its relation to the active transport of ions.
J. Physiol., London, 180 : 383
- BAKER, P.F., BLAUSTEIN, M.P., KEYNES, R.D., MANIL, J., SHAW, T.I. et STEINHARDT R.A. (1969)
The ouabain-sensitive fluxes of sodium and potassium in Squid giant axons.
J. Physiol. London, 200 : 459
- BAKER, P.F., HODGKIN, A.L. et SHAW, T.I. (1962)
Replacement of the axoplasm of giant nerve fibres with artificial solutions.
J. Physiol., London, 164 : 350
- BAKER, P.F. et WILLIS, J.S. (1970)
Potassium ions and the binding of cardiac glycosides to mammalian cells.
Nature (London), 226 : 521
- BRINK, F. (1954)
The role of calcium in neural processes.
Pharmacol. Rev., 6 : 243
- BRINLEY, F.J. et MULLINS, L.J. (1965)
Ion fluxes and transference numbers in squid axons.
J. Neurophysiol., 28 : 526
- BROWN, A.M., WALKER, J.L. Jr et SUTTON, R.B. (1970)
Increased chloride conductance as the proximate cause of hydrogen ion concentration effects in Aplysia neurons.
J. gen. Physiol., 56 : 559
- CABANTCHIK, Z.I. et ROTHSTEIN, A. (1972)
The nature of the membrane sites controlling anion permeability of human red blood cells as determined by studies with disulfonic stilbene derivatives.
J. Membrane Biol., 10 : 311
- CALDWELL, P.C. (1960)
The phosphorus metabolism of squid axons and its relationship to the active transport of sodium.
J. Physiol., London, 152 : 545

- CALDWELL, P.C. et KEYNES, R.D. (1959)
The effect of ouabain on the efflux of sodium from
a squid giant axon.
J. Physiol, London, 148 : 8
- CALDWELL, P.C. et KEYNES, R.D. (1960)
The permeability of the squid axon to radioactive
potassium and chloride ions.
J. Physiol., London, 154 : 177
- CALDWELL, P.C., HODGKIN, A.L., KEYNES, R.D. et SHAW, T.I.
(1960)
The effects of injecting "energy-rich" phosphate
compounds on the active transport of ions in the
giant axon of Loligo.
J. Physiol., 152, 545
- CARPENTER, D.O. et ALVING, B.O. (1968)
A contribution of an electrogenic Na⁺ pump to membrane
potential in Aplysia neurons.
J. gen. Physiol., 52 : 1
- CHALAZONITIS, N. (1963)
Effects of changes in Pco₂ and Po₂ on rythmic poten-
tials from giant neurons.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 109 : 451
- CHAMBERLAIN, S.G. et KERKUT, G.A. (1969)
Voltage clamp analysis of the sodium and calcium
inward currents in snail neurones.
Comp. Biochem. Physiol., 28 : 787
- CHIARANDINI, D.J. et GERSCHENGELD, H.M. (1967)
Ionic mechanism of cholinergic inhibition in molluscan
neurons.
Science (Wash.D.C.) 156 : 1595
- CHRISTOFFERSEN, G.R.J. (1973)
Chloride conductance and the effect of extracellular
calcium concentration on resting neurons in the snail
Helix pomatia.
Comp. Biochem. Physiol., 46 A : 371
- CONNELLY, C.M. (1959)
Recovery processes and metabolism of nerve.
Rev. Mod. Phys., 31 : 475

- COOKE, I.M., LEBLANC, G. et TAUC, L. (1974)
Sodium pump stoichiometry in *Aplysia* neurones from simultaneous current and tracer measurements.
Nature, Vol. 251, 5472 : 254
- CURTIS, H.J. et COLE, K.S. (1942)
Membrane resting and action potentials from the squid giant axon.
J. Cell. Comp. Physiol., 19 : 135
- DALTON, J.C. (1958)
Effects of external ions on membrane potentials of a lobster giant axon.
J. gen. Physiol., 41 : 529
- DE MELLO, W.C. et HUTTER, O.F. (1966)
The anion conductance of crustacean muscle.
J. Physiol., London, 121, : 191
- DROUIN, H. et THE, R. (1969)
The effect of reducing extracellular pH on the membrane current of the Ranvier node.
Pflügers Arch., 313 : 80
- Von EULER, C. et SODERBERG, U. (1952)
Medullary chemosensitive receptors.
J. Physiol., London, 118 : 545
- EYZAGUIRRE, C. et ZAPATA, P. (1968)
Pharmacology of pH effects on carotid body chemoreceptors in vitro.
J. Physiol., London, 195 : 557
- FOX, J.M. (1974)
Selective blocking of the nodal sodium channels by ultra violet radiation. II. The interaction of Ca^{++} , H^+ and membrane potential.
Pflügers Arch., 351 : 303
- FRANKENHAUESER, B. et HODGKIN, A.L. (1957)
The action of calcium on the electrical properties of squid axon.
J. Physiol., London, 137 : 218
- GEDULDIG, D. et GRUENER, R. (1970)
Voltage clamp of the *Aplysia* giant neurone.: early sodium and calcium currents.
J. Physiol., 211 : 217

- GEDULDIG, D. et JUNGE, D. (1968)
Sodium and calcium components of action potentials
in the Aplysia giant neurone.
J. Physiol., 199 : 347
- GERASIMOV, V.D., KOSTYUK, P.G. et MAISKII, V.A. (1965)
The influence of divalent cations on the electrical
characteristics of membranes of giant neurones.
Biofizika, 10 : 447
- GLYNN, I.M. (1957)
The action of cardiac glycosides on sodium and potas-
sium movements in human red cells.
J. Physiol., London, 136 : 148
- GOLDMAN, D.E. (1943)
Potential, impedance and rectification in membranes.
J. gen. Physiol., 27 : 37
- GOUBEL, M.M. (1973)
Contribution à l'étude de la distribution du chlore
par la détermination de son activité intracellulaire
chez la fibre musculaire striée de cfabe.
Thèse de 3^o cycle, LILLE.
- HILLE, B. (1968)
Charges and Potentials at the nerve surface divalent
ions and pH.
J. gen. Physiol., 51 : 221
- HILLE, B. (1973)
Potassium channels in myelinated nerve selective
permeability to small cations.
J. gen. Physiol., 61 : 669
- HODGKIN, A.L. (1951)
The ionic basis of electrical activity innarve and
muscle.
Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc., 26 : 339
- HODGKIN, A.L. et HUXLEY, A.F. (1939)
Action potentials recorded from inside a nerve fibre.
Nature, London, 144 : 710
- HODGKIN, A.L. et HUXLEY, A.F. (1952 a)
Currents carried by sodium and potassium ions through
the membrane of the giant axon of Loligo.
J. Physiol., London, 116 : 449
- HODGKIN, A.L. et HUXLEY, A.F. (1952 b)
Cold Spring Harbor Sym. Quant Biol., 17 : 43

- HODGKIN A.L. HUXLEY. A.F. et KATZ, B. (1949)
Ionic currents underlying activity in the giant axon of
the Squid.
Arch. Sci. Physiol., 3 : 129.
- HODGKIN, A.L. et KATZ, B. (1949)
The effect of sodium on the electrical activity of
the giant axon of the squid.
J. Physiol., London, 108, : 37
- HODGKIN, A.F. et STAMPFLI, R. (1951)
in KAYSER, Tome II, p. 122
- HOFFMAN, J.F. (1966)
The red cell membrane and the transport of sodium
and potassium.
Amer. J. Med., 41 : 666
- JULIAN, F.J., MOORE, J.W. et GOLDMAN, D.E. (1962)
Membrane potentials of the lobster giant axon obtai-
ned by use of the sucrose-gap technique.
J. gen. Physiol., 45 : 1195
- JUNGE, D. (1967)
Multi-ionic action potentials in molluscan giant
neurones.
Nature, London, 215 : 546
- KERKUT, G.A. et GARDNER, D.R. (1967)
The role of calcium ions in the action potentials of
Helix aspersa neurones.
Comp. Biochem. Physiol., 20 : 147
- KERKUT, G.A. et THOMAS, R.C. (1965)
An electrogenic sodium pump in snail nerve cells.
Comp. Biochem. Physiol., 14 : 167
- KEYNES, R.D. (1952)
The leakage of radioactive potassium from stimulation
of nerve.
& J. Physiol., London, 113 : 99
- KEYNES, R.D. (1952)
The ionic movements during nervous activity.
J. Physiol., London, 114 : 119
- KEYNES, R.D. (1963)
Chloride in the squid giant axon
J. Physiol., London, 169 : 690
- KEYNES, R.D. et SWAN, R.C. (1959)
The permeability of frog muscle fibers to lithium ions.
J. Physiol., London, 147 : 626

- KNAUF, P.A., ROTHSTEIN, A. (1971)
Chemical modification of membranes. I. Effect of
sulfhydryl and amino reactive reagents on anion and
cation permeability of the human red blood cell.
J. gen. Physiol., 58,: 190
- KOSTYUK, P.G., KRISHTAL, O.A. et DOROSCHENKO, P.A. (1974)
Calcium currents in snail neurones.
Pflügers Arch., 348 : 95
- KOSTYUK, P.G., KRYSH TAL, O.A. et PIDOPLICHKO (1972)
Electrogenic sodium pump and the associated changes
in conductivity of the surface membrane of neurones.
Biophysics, 6 : 1100
- MAURO, A. (1954)
Electrochemical potential difference of chloride ion
in the squid giant axon sea water systems.
Federation Proc., 13 : 96
- MEWES, H. (1966)
Das Actionspotential der Riesennervenzellen der
Weinberg schnecke Helix pomatia.
Pflügers Arch. ges. Physiol., 289 : 10
- OVERTON, E. (1902)
Beiträge zur allgemeinen Muskel und Nervers
Physiologie.
Arch. Ges. Physiol., 92 : 346
- PLOEGER, E.J. et DEN HERTO G, A. (1973)
The effects of lithium on excitable cell membrane.
II. The effect on the electrogenic sodium pump of
non-myelinated nerve fibers of the rat.
Europ. J. Pharmacol., 21 : 24
- RUSSEL, J.M. et BROWN, A.M. (1972)
Active transport of chloride by giant neuron of the
Aplysia abdominal ganglion.
J. gen. Physiol., 60 : 499
- SCHATZMANN, H.J. (1953)
Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktivenkalium
und Natriumtransport durch die Erythrocytenmembrane
Helv. Physiol. Pharmacol. Acta., 11 : 346
- SENFT, J.P. (1967)
Effects of some inhibitors on the temperature - depen-
dant component of resting potential in lobster axon.
J. gen. Physiol., 50 : 1838

- SHANES, A.M. (1954)
Effect of temperature on potassium liberation during
nerve activity.
Am. J. Physiol., 177 : 377
- SHRAGER, P. (1974)
Ionic conductance changes in voltage clamped crayfish
axons at low pH.
J. gen. Physiol., 64 : 666
- SKOU, J.C. (1960)
Further investigations on a Mg^{++} , Na^{+} - activated
adenosine-triphosphatase, possibly related to the
active transport of Na^{+} and K^{+} across the nerve cell
membrane.
Biochem. Biophys. Acta, 42 : 6
- SKOU, J.C. (1965)
Enzymatic basis for active transport of Na^{+} and K^{+}
across cell membrane.
Physiol. Rev., 45 : 596
- STAMPFLI, R. (1954)
A new method for measuring membrane potentials with
external electrodes.
Experientia, 10 : 508
- STRICKHOLM, A. et WALLIN, B.G. (1967)
Relative ion permeabilities in the crayfish giant
axon determined from rapid external ion changes.
J. gen. Physiol., 50 : 1929
- STRICKHOLM, A., WALLIN, B.G. et SHRAGER, P. (1969)
The pH dependency of relative ion permeabilities in
the crayfish giant axon.
Biophys. J., 9 : 873
- TASAKI, I. (1953)
Nervous transmission.
C.C. Thomas ed., Springfield, III.
- TASAKI, I., WATANABE, A. et LERMAN, L. (1967)
Role of divalent cations in excitation of squid
giant axons.
Amer. J. Physiol., 213 : 1465

DE WEER, P. (1970)

Effects of Intracellular Adenosine 5' diphosphate on the sensitivity of sodium efflux from squid axon to external sodium and potassium.

J. gen. Physiol., 56 : 583

DE WEER, P. et GEDULDIG, D. (1973)

Electrogenic sodium pump in squid giant axon.

Science, N.Y., 179 : 1326.

WOODHULL, A.M. (1973)

Ionic blockade of sodium channels in nerve.

J. gen. Physiol., 61 : 687

ANNEXE

CALCUL DU POTENTIEL DE DEMARCATION

Soit i_e et i_i l'intensité du courant en un point, respectivement à l'extérieur et à l'intérieur de la fibre et r_e et r_i la résistance par unité de longueur, respectivement du liquide extracellulaire et du liquide intracellulaire.

La chute du potentiel extracellulaire V_E en fonction de la distance x est

$$\textcircled{1} \quad \frac{\partial V_E}{\partial x} = - i_e r_e$$

et celle du potentiel intracellulaire est

$$\textcircled{2} \quad \frac{\partial V_I}{\partial x} = - i_i r_i$$

$$\text{En tout point } i_e = i_i \quad \textcircled{3}$$

Si en 0, il n'y a pas de potentiel de jonction, alors

$$\textcircled{4} \quad V_E - V_0 = \int_0^x \frac{\partial V_E}{\partial x} dx = - r_e \int_0^x i_e dx$$

$$\text{et } \textcircled{5} \quad V_I - V_0 = \int_0^x \frac{\partial V_I}{\partial x} dx = - r_i \int_0^x i_i dx$$

En vertu de $\textcircled{3}$

$$\textcircled{3'} \quad \int_0^x i_e dx = - \int_0^x i_i dx$$

Comme

$$\textcircled{4} \int_0^x i_e dx = - \frac{(V_E - V_O)}{r_e}$$

$\textcircled{5}$ peut s'écrire

$$\textcircled{6} V_I - V_O = - \frac{r_i}{r_e} (V_E - V_O)$$

D'où

$$\begin{aligned} \textcircled{7} V_E - V_I &= (V_E - V_O) - (V_I - V_O) \\ &= (V_E - V_O) \left(1 + \frac{r_i}{r_e}\right) \end{aligned}$$

$$V_E - V_O = \frac{r_e}{r_e + r_i} (V_E - V_I)$$

