

Physique des objets biologiques

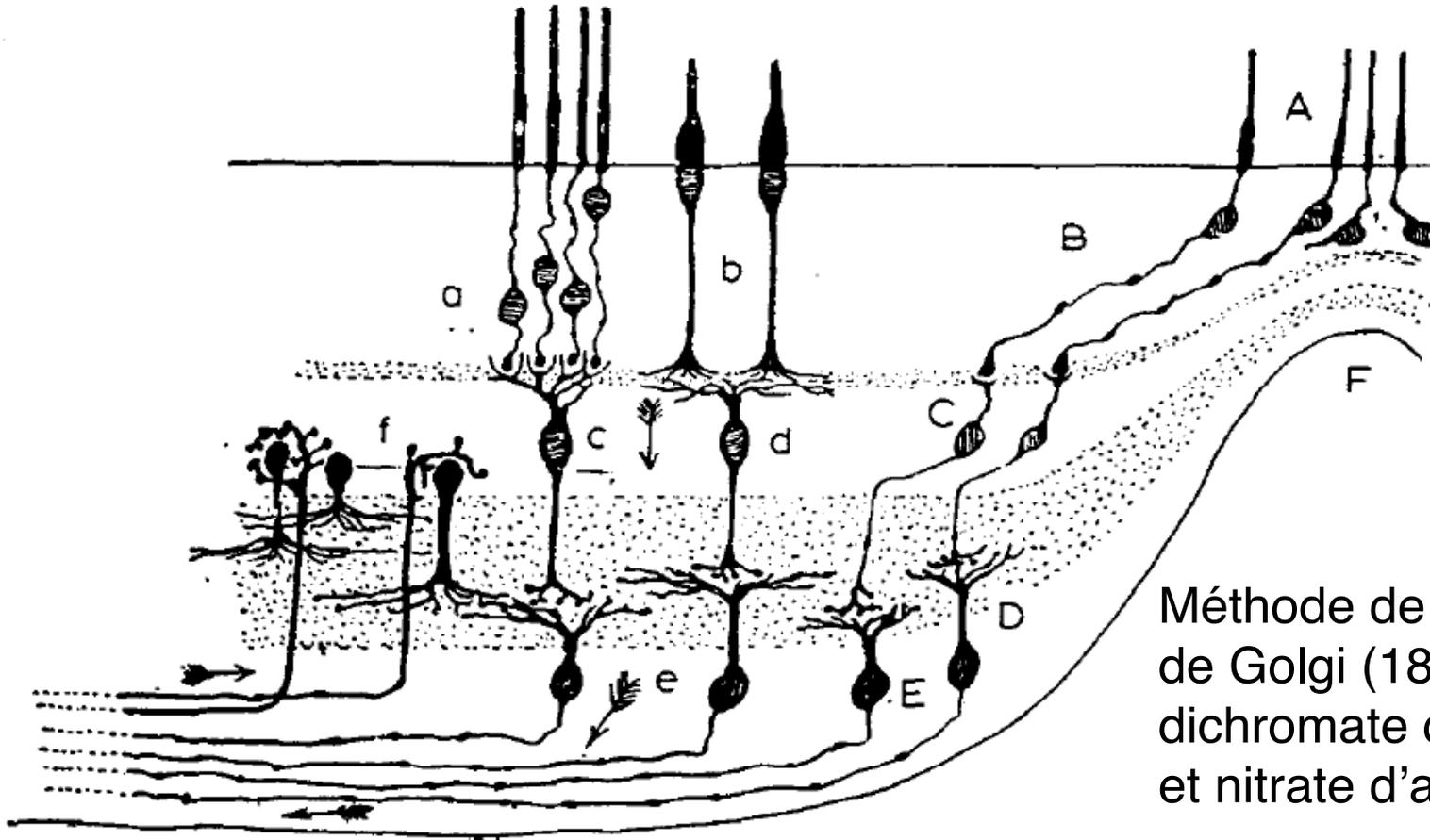
Rémi Monasson

Biophysique des neurones et de leurs interactions

- 1 Physiologie
- 2 Le neurone : enregistrement et modélisation
- 3 Les interactions : description et plasticité

1- Physiologie

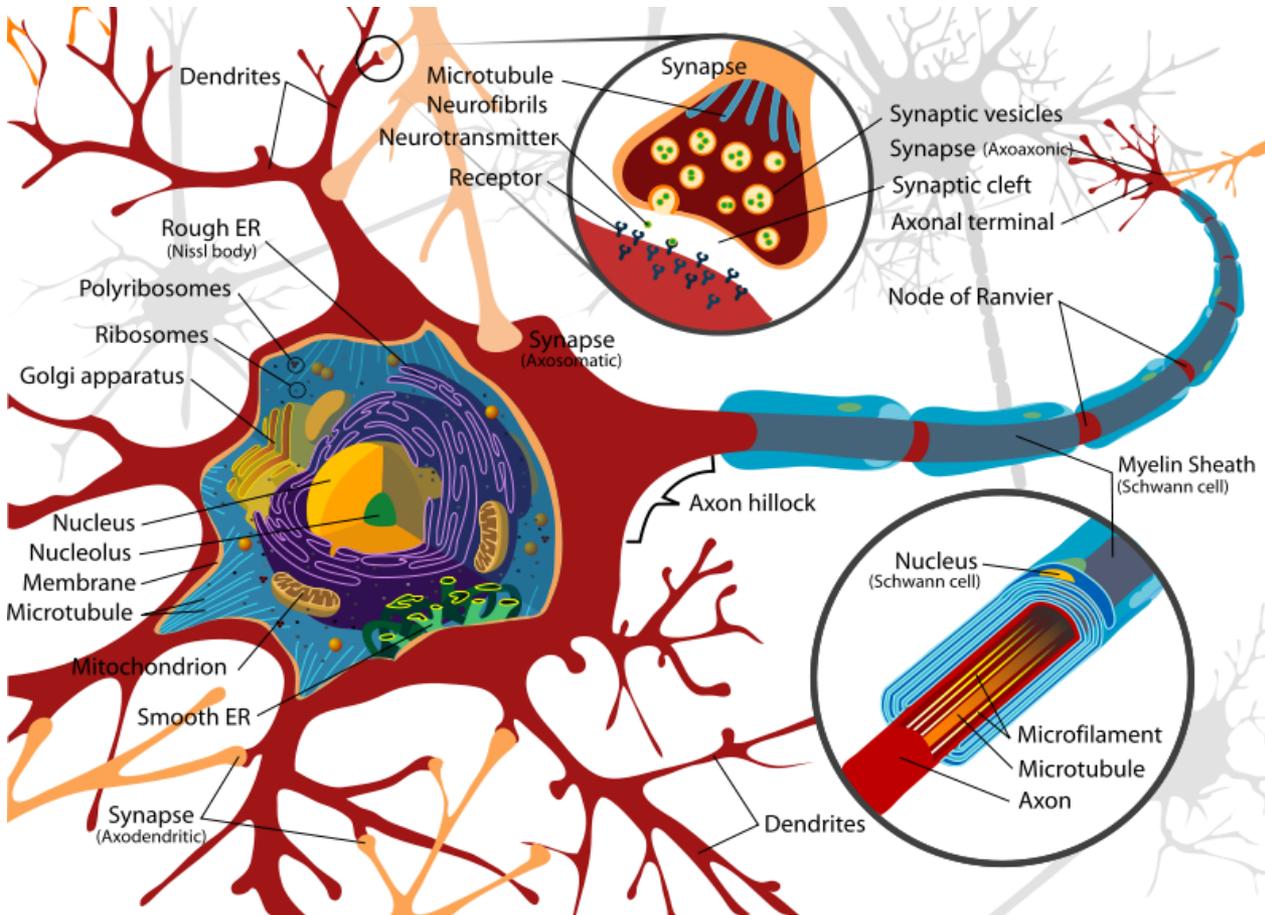
Observation de la rétine par Ramon y Cajal (discours Nobel, 1906)



Méthode de coloration
de Golgi (1873) =
dichromate de potassium
et nitrate d'argent

Le tissu cérébral est discontinu :
il est fait de neurones, connectés à travers leurs axones et dendrites

Un neurone typique :



Taille du corps cellulaire :
4 à 100 micromètres

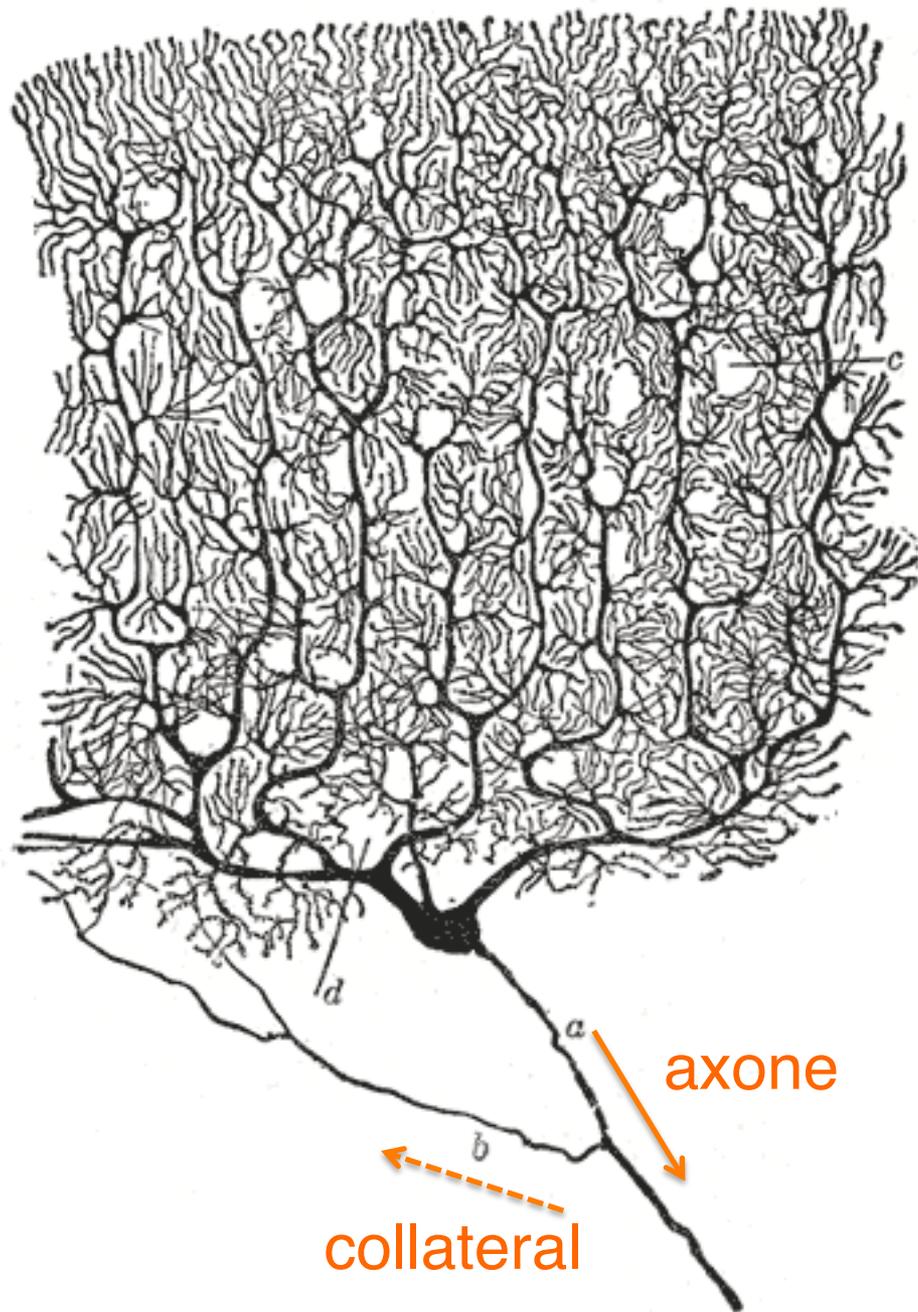
Longueur axone :
5 m chez la girafe

Diamètre axone :
1 à 15 micromètres

Nombre de synapses par
neurone : de 1000 à 10000

Taille vésicule synaptique :
de 50 à 200 nanomètres

Largeur fente synaptique :
20-40 nanomètres



Diversité des types
neuronaux

arbre dendritique

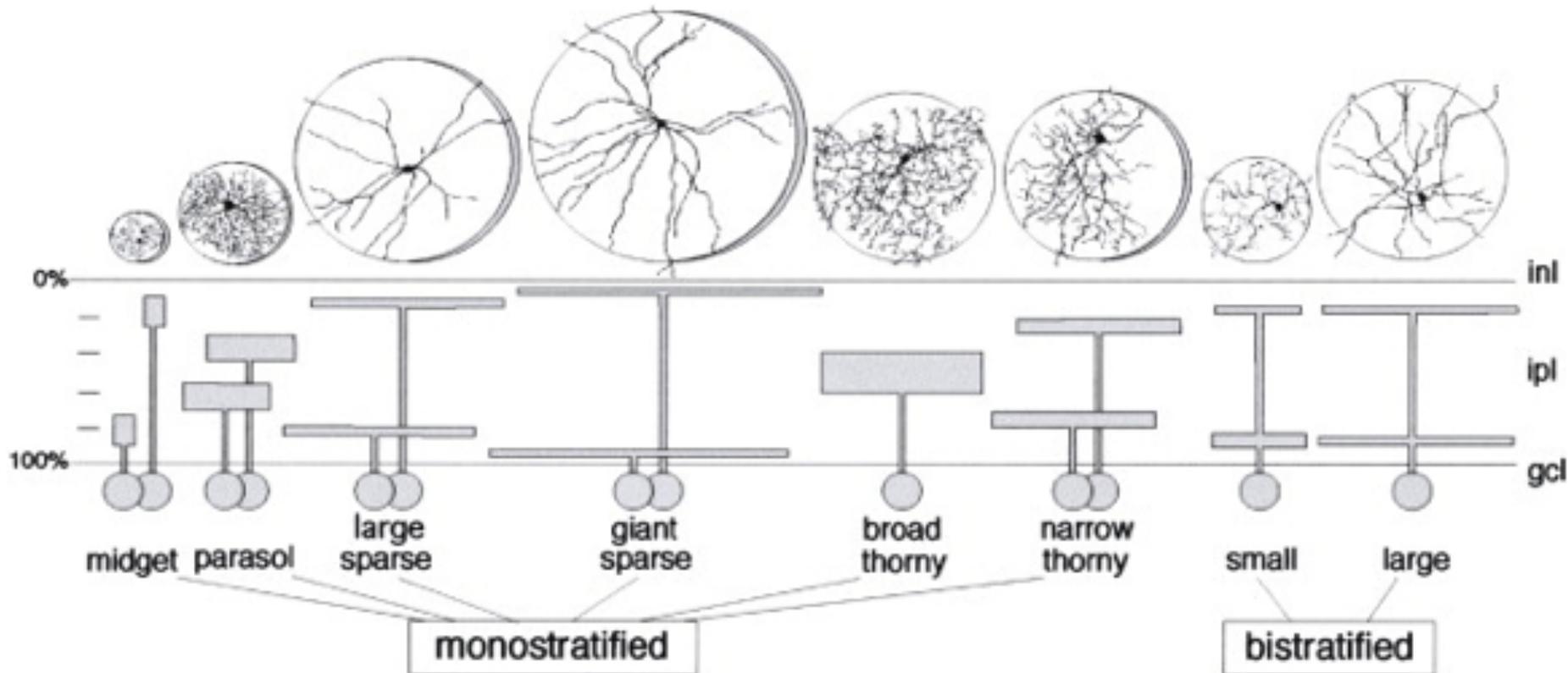
Cellule de Purkinje
(cervelet)

axone

collateral

Diversité des types neuronaux : cellules ganglionnaires rétiniennes du singe

— = 50 micromètres



Nombres de neurones et synapses dans les organismes vivants



• Eponge :	0	
• Ver C-Elegans :	302	(5000)
• Méduse :	environ 800	
• Escargot :	11.000	
• Mouche drosophile :	100.000	(10.000.000)
• Fourmi :	250.000	
• Cafard :	1.000.000	
• Grenouille :	16.000.000	
• Souris :	75.000.000	(100.000.000.000)
• Pieuvre :	300.000.000	
• Chat :	1.000.000.000	(1.000.000.000.000)
• Chimpanzé :	7.000.000.000	
• Homme :	80.000.000.000	(100.000.000.000.000)

La répartition fonctionnelle est aussi très variable entre espèces :

Fraction de neurones dans le cortex : 5% chez la souris, 25% chez l'homme

Nombre de récepteurs olfactifs : homme = 12 millions, chien de chasse = 1-4 milliards

Résumé

- Un neurone est une cellule faite de trois éléments essentiels : un corps cellulaire (soma), un axone (long câble organisé par des microtubules) et des dendrites
- Les neurones sont connectés à travers des couplages synaptiques
- Il existe une très grande variété de neurones d'un point de vue physiologique (taille, aspect, ...) avec des conséquences fonctionnelles (voir plus loin)
- Il existe de grandes variations dans les nombres de neurones et de synapses entre organismes vivants

2- Le neurone

2a- technique du patch-clamp

2b- les canaux ioniques et le potentiel d'action

2c- modélisation biophysique

2d- enregistrement de l'activité : électrode,
multi-électrodes et méthodes optiques

2a- techniques du patch clamp

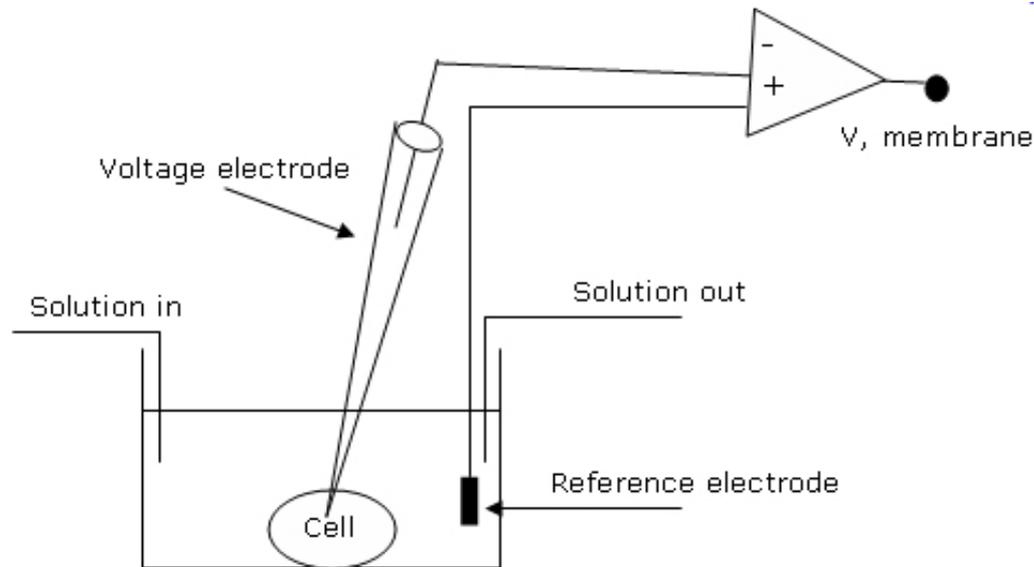
Fragment de membrane

Maintien

Principe :

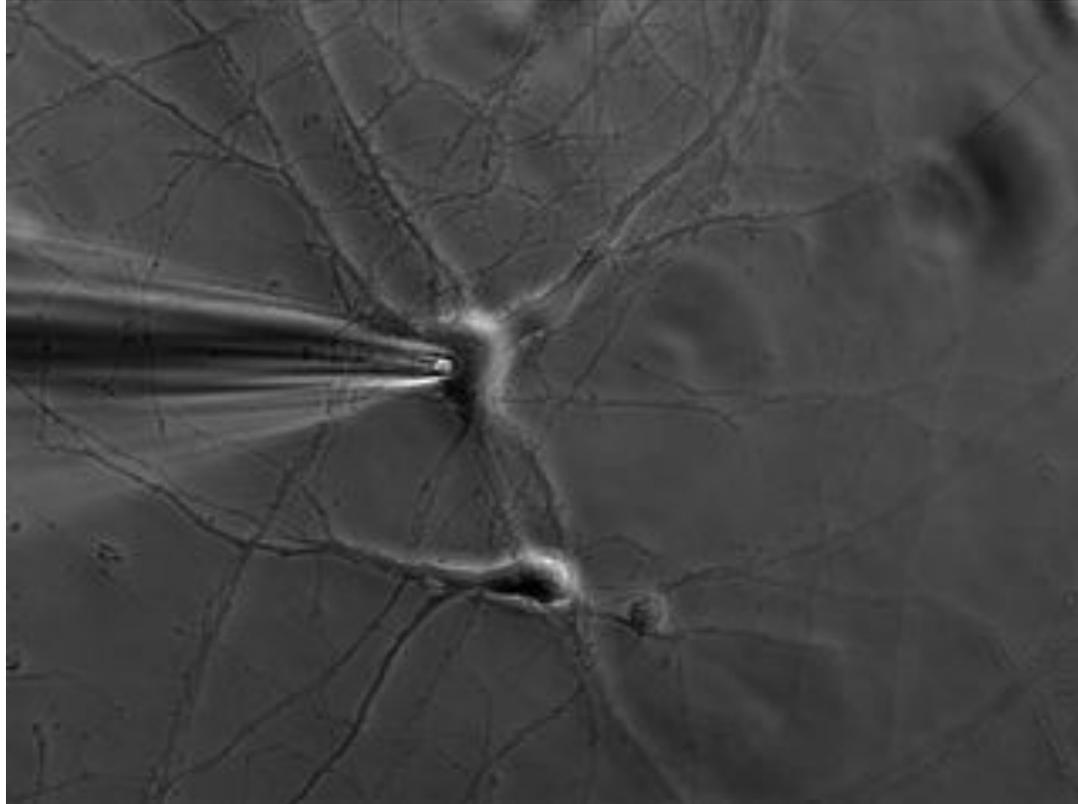
mesurer le courant à travers une membrane cellulaire à différence de potentiel fixée = voltage-clamp

mesurer la différence de potentiel entre coté extracellulaire et coté intracellulaire d'une membrane à courant fixé = current-clamp



Méthode essentielle de l'électrophysiologie = mesure des courants et des différences de tensions à l'échelle biologique (ici, le neurone, le canal ionique, la synapse, ...)

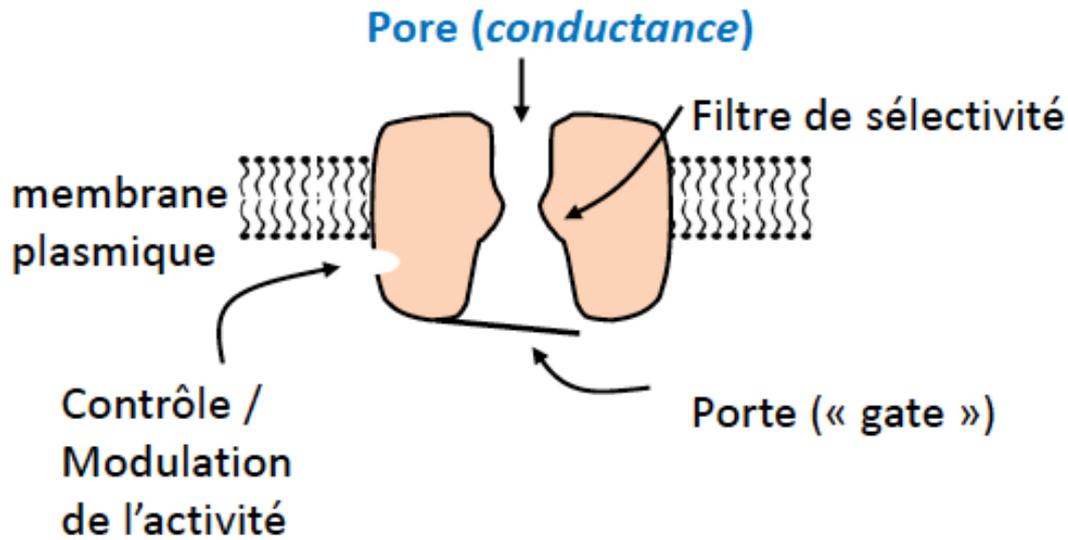
Exemple : Micropipette (diamètre = 1 micromètre)



Q : comment les courants passent 'à travers' la membrane?

R : il existe des canaux ioniques (Na^+ , K^+ , ...)

Conductance



$$(V_{\text{imposé}} - E_{\text{ion}}) = R \cdot i$$

$$R = 1 / g$$

$$i = g \cdot (V_{\text{imposé}} - E_{\text{ion}})$$

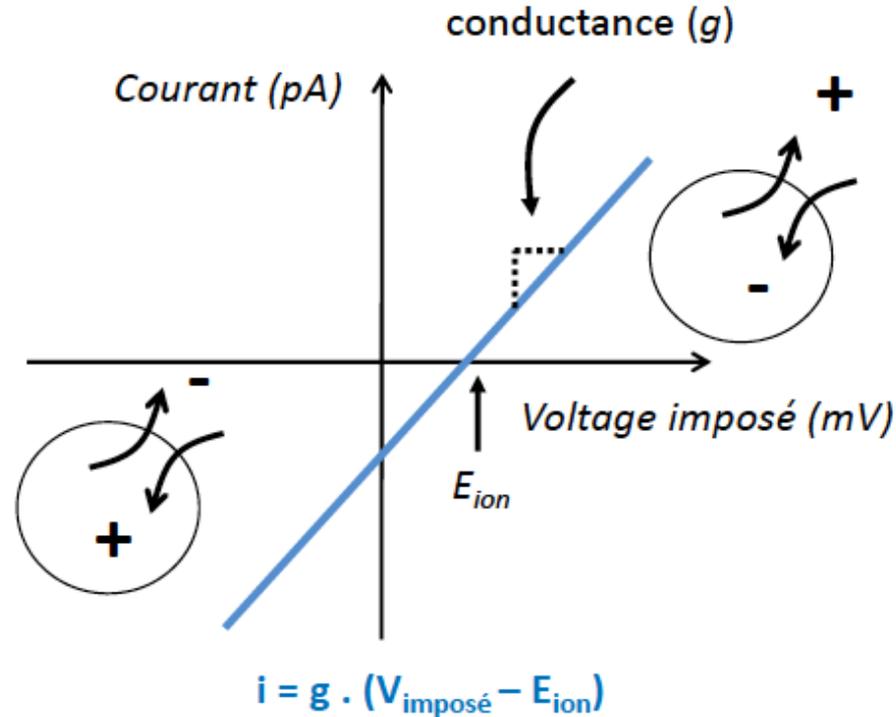
Origine de E_{ion} :

Différence entre les concentrations c_{ext} et c_{int} des ions de charge q

$$E_{\text{ion}} = \frac{\mu_{\text{ext}} - \mu_{\text{int}}}{q}$$
$$= \frac{k_B T}{q} \log(c_{\text{ext}}/c_{\text{int}})$$

- Unité de la conductance : Siemens (S)
- Représente la facilité avec laquelle les ions traversent le pore

Relation courant - voltage

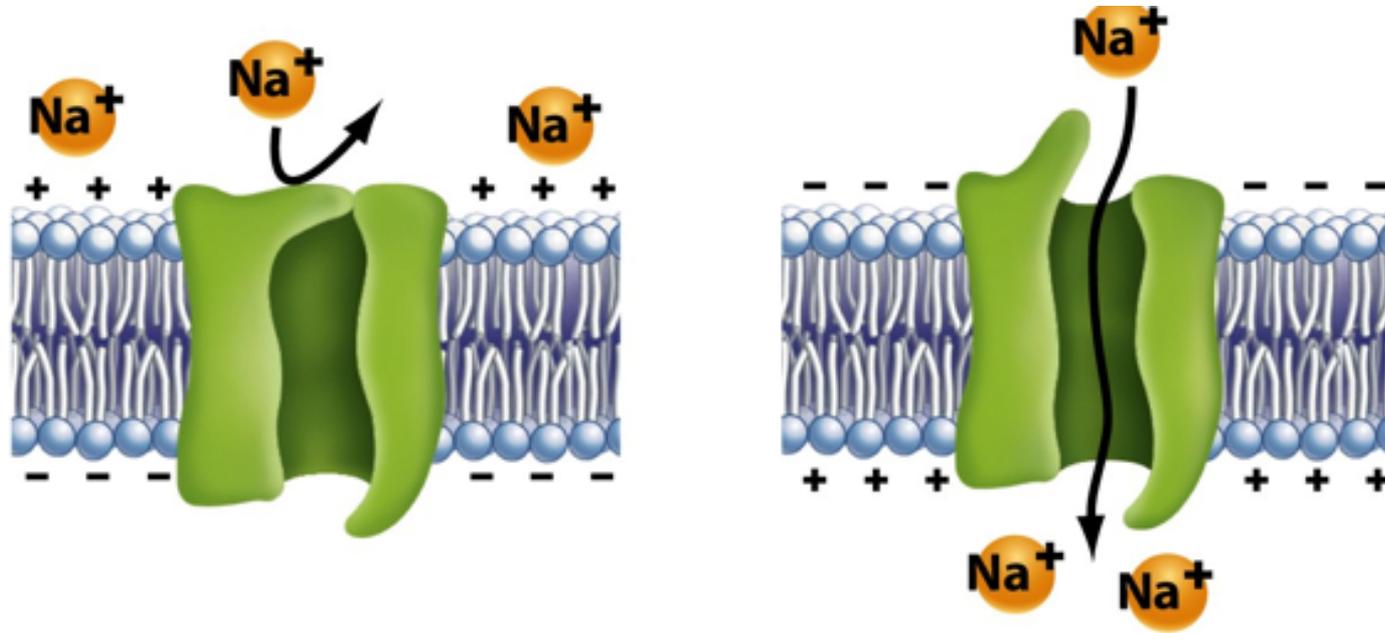


Le flux des ions dépend du gradient électrochimique ($V_{\text{imposé}} - E_{\text{ion}}$) :

- Si $(V_{\text{imposé}} - E_{\text{ion}}) > 0$: flux sortant de cations ou flux entrant d'anions (courant positif).
Hyperpolarisation de la membrane plasmique.
- Si $(V_{\text{imposé}} - E_{\text{ion}}) < 0$: flux entrant de cations ou flux sortant d'anions (courant négatif).
Dépolarisation de la membrane plasmique.

NB : la conductance g peut dépendre de $V_{\text{imposé}}$ et du temps ...!

2b- les canaux ioniques et le potentiel d'action



Ouverture/fermeture pilotée par la différence de potentiel membranaire
+ état inactivé transitoire suite à une ouverture

les plus importants pour le fonctionnement des neurones

Très spécifique en général : ions Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻

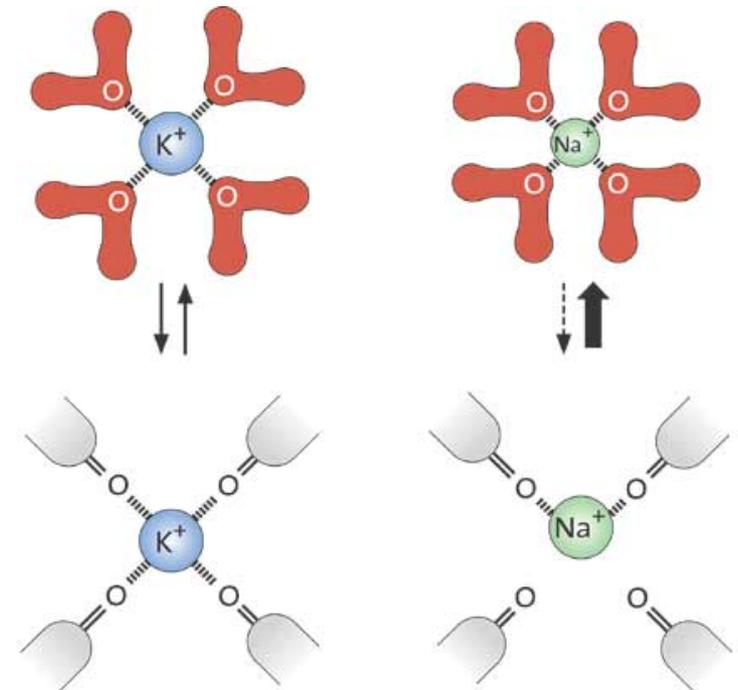
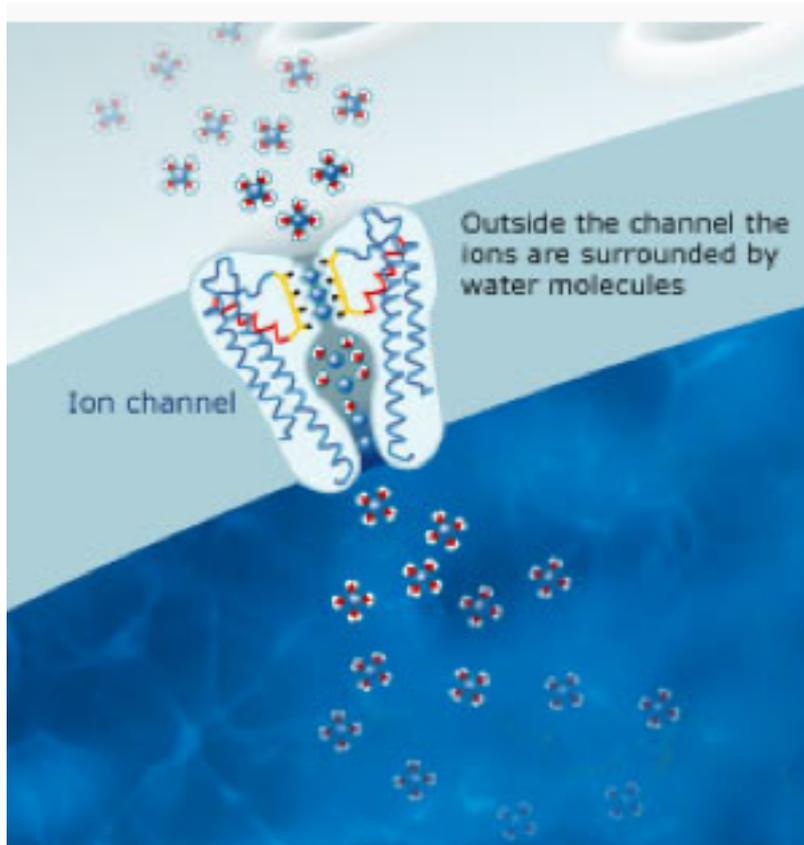
(certaines types de canaux différents dans une cellule)

Mécanisme de sélectivité ? complexe : première structure 3D des canaux K en 1998 par R. MacKinnon (Nobel de Chimie en 2003)

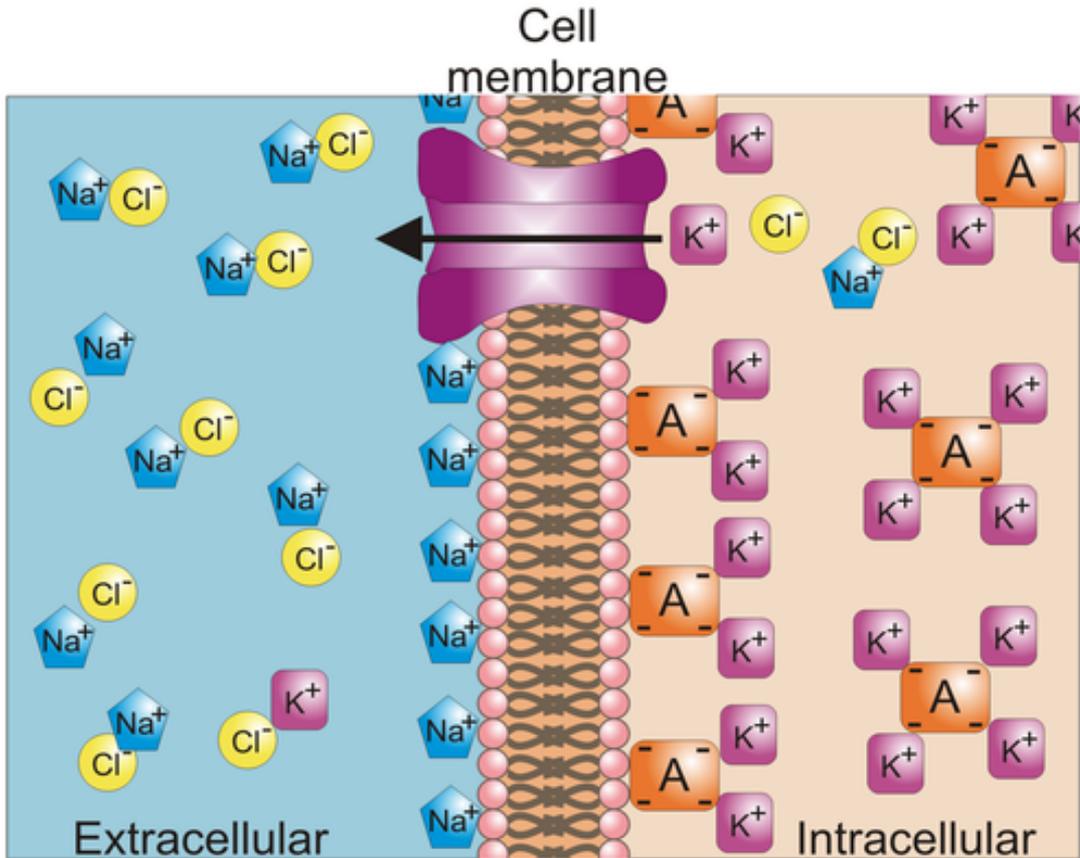
Mécanisme de sélectivité complexe :

structure 3D des canaux K découverte en 1998 par R. MacKinnon

(Nobel de Chimie en 2003)



Origine de la sélectivité =
barrière d'énergie libre due à la solvation



Charge Separation + — Across Membrane

Ion Concentration Gradients



A= anions (protéines)

Différence de potentiel
nécessaire à l'ouverture :

$$E_{\text{ion}} = \frac{k_B T}{q} \log (c_{\text{ext}}/c_{\text{int}})$$

Potassium (K) :

$q = 1 e$, $c_{\text{ext}} = 5 \text{ mM}$,

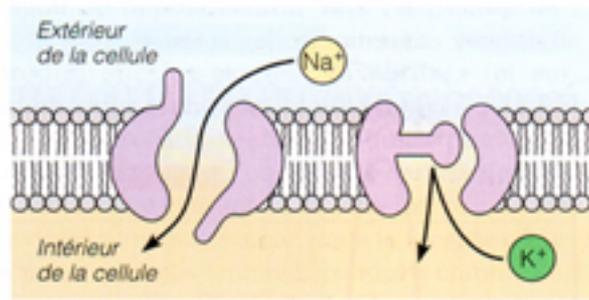
$c_{\text{int}} = 140 \text{ mM} \rightarrow E_K = -84 \text{ mV}$

Sodium (Na) :

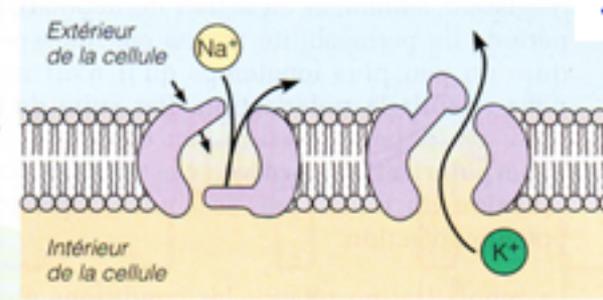
$q = 1 e$, $c_{\text{ext}} = 140 \text{ mM}$,

$c_{\text{int}} = 12 \text{ mM} \rightarrow E_{\text{Na}} = +40 \text{ mV}$

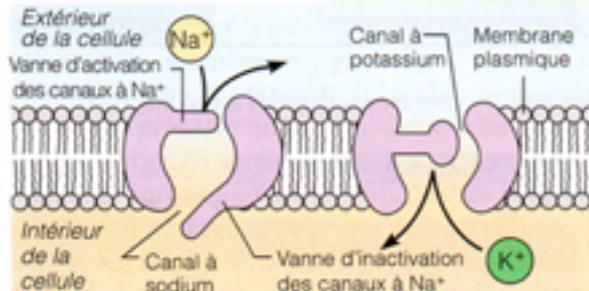
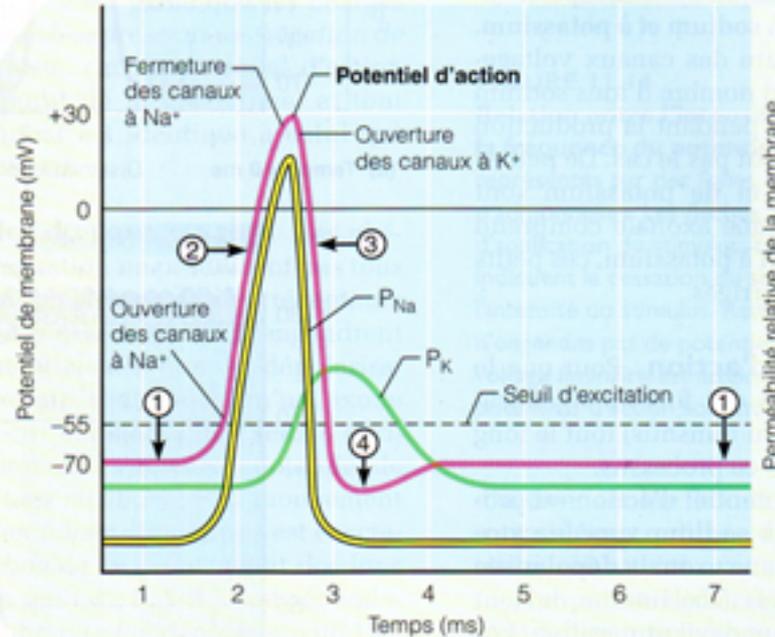
Mécanisme de dépolarisation et repolarisation de la membrane axonale



② Phase de dépolarisation : les canaux à Na⁺ s'ouvrent

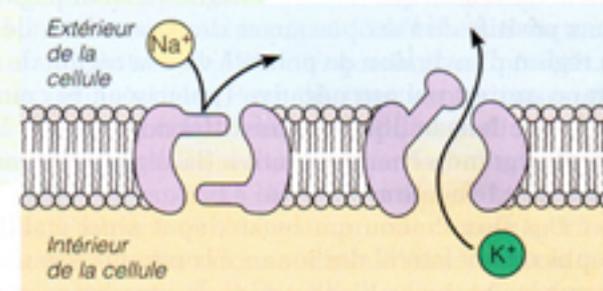


③ Phase de repolarisation : les canaux à Na⁺ se ferment et les canaux à K⁺ s'ouvrent



① État de repos : tous les canaux à Na⁺ et à K⁺ à fonction active sont fermés

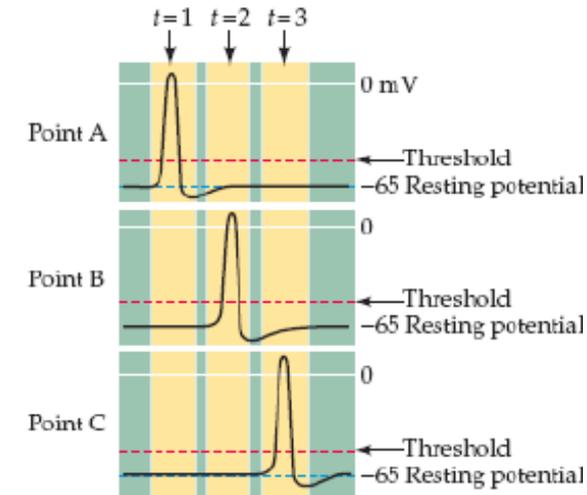
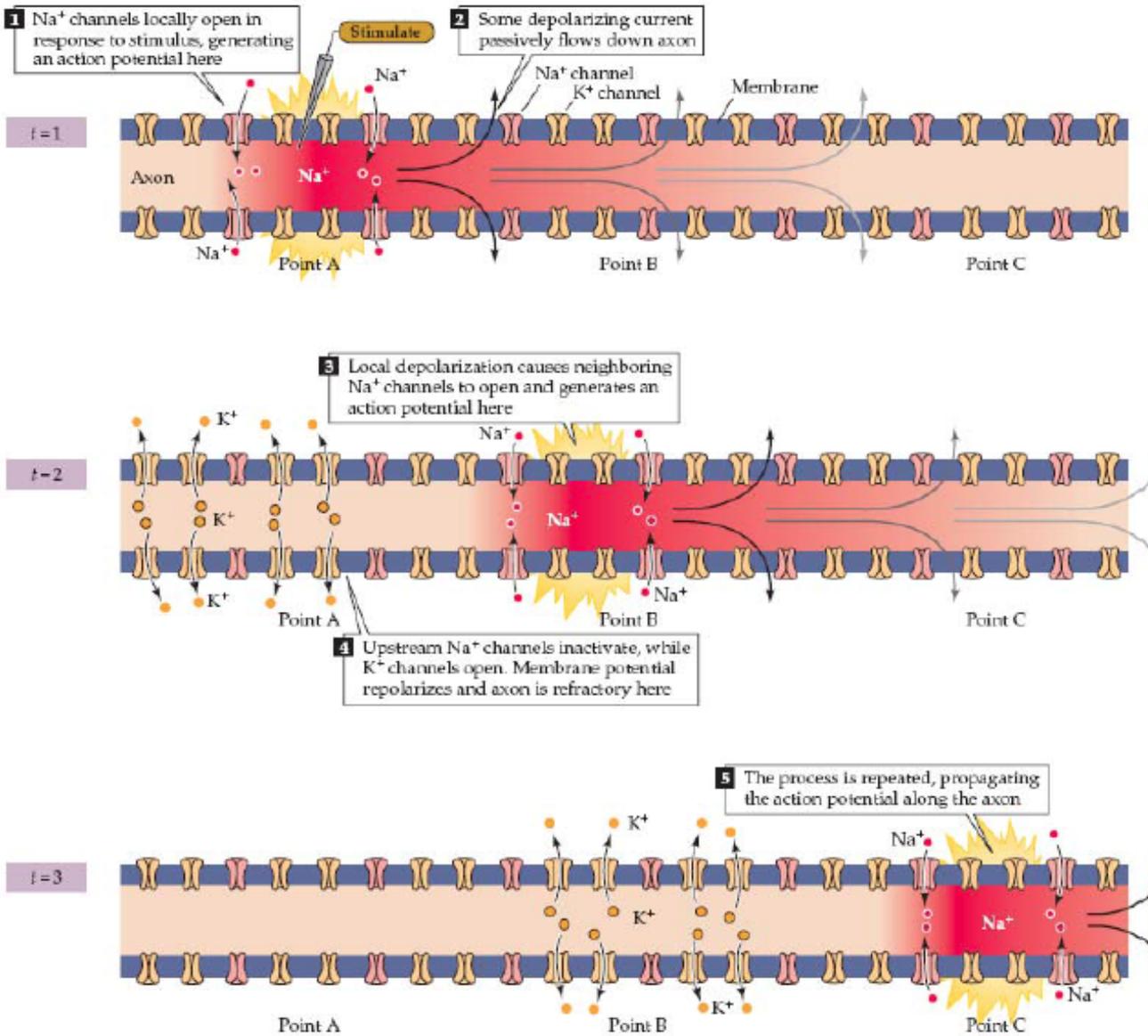
(a) Modifications de la perméabilité de la membrane et phases du potentiel d'action



④ Phase d'hyperpolarisation tardive : les canaux à K⁺ restent ouverts et les canaux à Na⁺ restent fermés, mais la vanne d'inactivation de ces derniers est en voie de s'ouvrir

Propagation du potentiel d'action de long de l'axone :

pourquoi un sens est-il privilégié?



Ordre de grandeur de la vitesse de propagation = 1 à 100 m/sec

2b- modélisation

Hodgkin et Huxley : série d'articles en 1952, prix Nobel en 1963
= un accomplissement majeur de la biophysique

J. Physiol. (1952) 117, 500-544

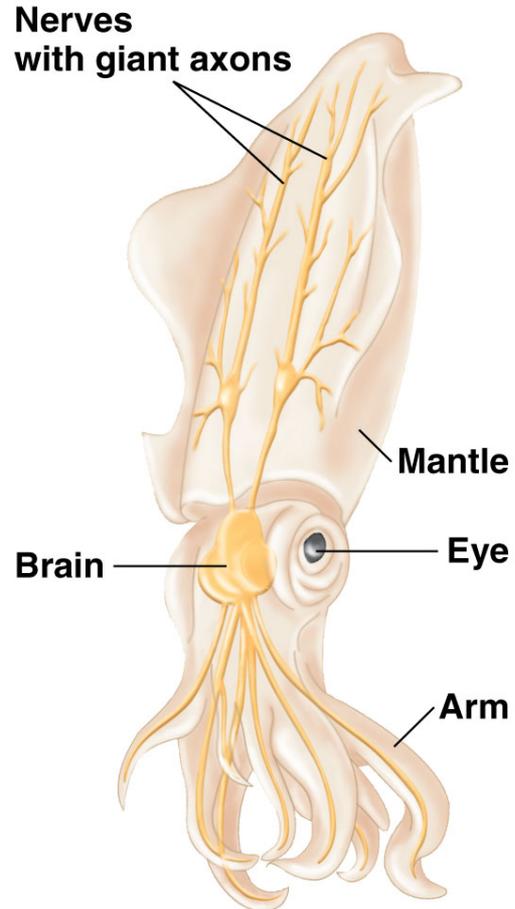
A QUANTITATIVE DESCRIPTION OF MEMBRANE CURRENT AND ITS APPLICATION TO CONDUCTION AND EXCITATION IN NERVE

BY A. L. HODGKIN AND A. F. HUXLEY

From the Physiological Laboratory, University of Cambridge

(Received 10 March 1952)

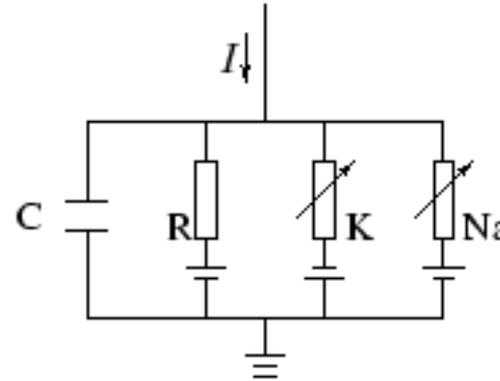
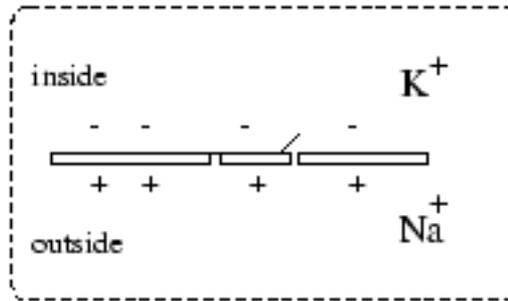
This article concludes a series of papers concerned with the flow of electric current through the surface membrane of a giant nerve fibre (Hodgkin, Huxley & Katz, 1952; Hodgkin & Huxley, 1952 *a-c*). Its general object is to discuss the results of the preceding papers (Part I), to put them into mathematical form (Part II) and to show that they will account for conduction and excitation in quantitative terms (Part III).



- Système : axone géant du calamar diamètre = 1 mm !
- Contrôle les muscles pour l'expulsion rapide de l'eau, permettant des déplacements rapides
- Détermination des propriétés électriques de l'axone à partir d'expérience de voltage-clamp =

mesure de la dépendance des conductances $g(V,t)$ des canaux en fonction du potentiel de membrane V et du temps t

Modèle de Hodgkin-Huxley (1952)



Conservation du courant :

$$I = C_m \frac{dV_m}{dt} + \bar{g}_K n^4 (V_m - V_K) + \bar{g}_{Na} m^3 h (V_m - V_{Na}) + \bar{g}_l (V_m - V_l)$$

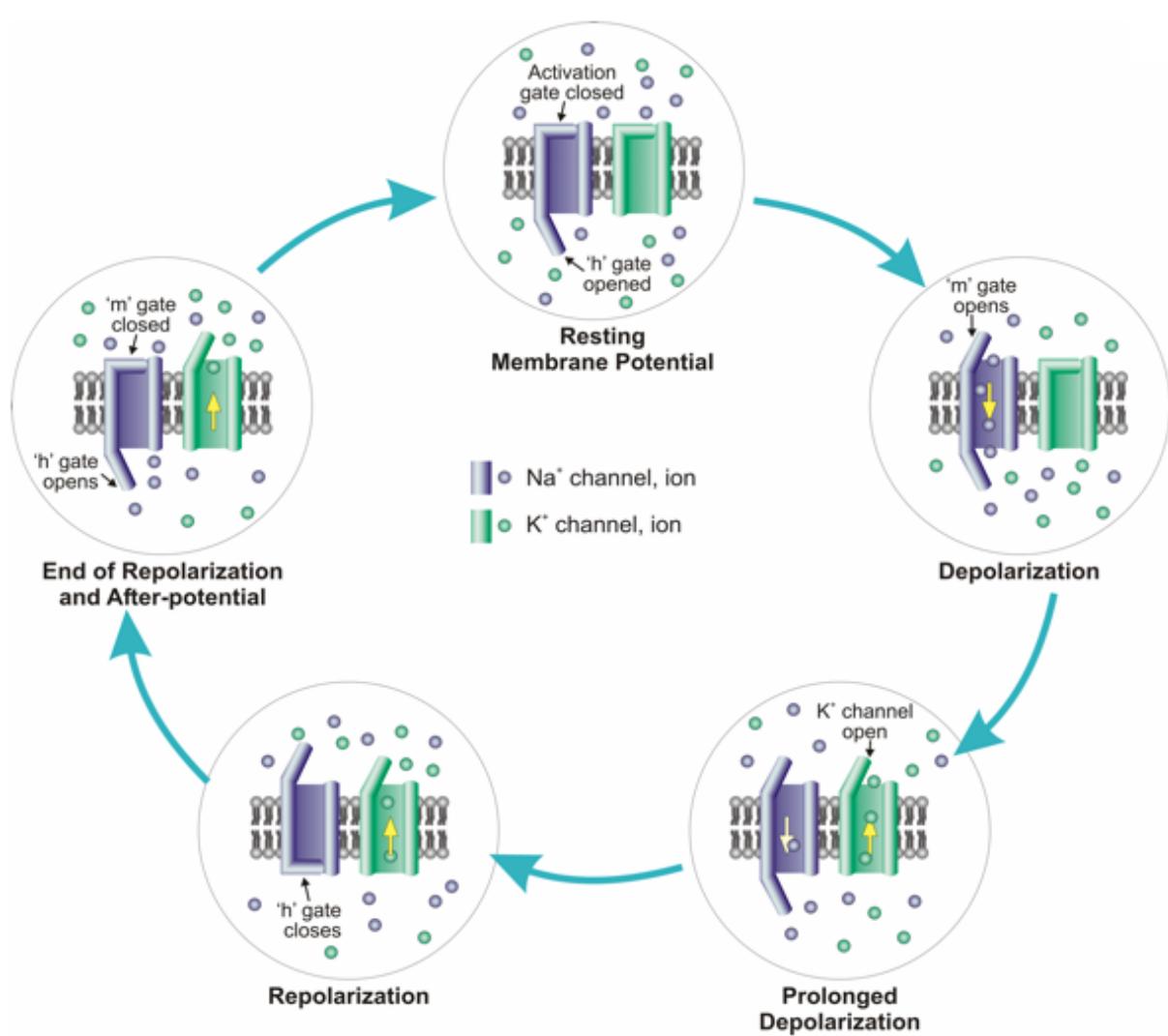
Charge
membrane

Canaux K

Canaux Na

Courant de fuite

n , m , h sont des variables de « portes » des canaux
elles dépendent du temps et du potentiel V



Equations :

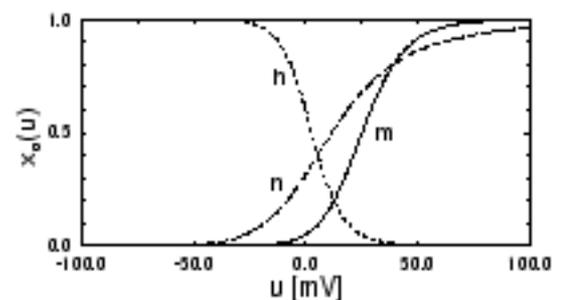
$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1 - n) - \beta_n n$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(1 - m) - \beta_m m$$

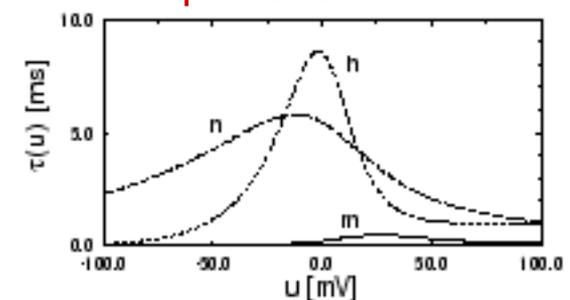
$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(1 - h) - \beta_h h$$

Expressions empiriques des α et β

Valeur équilibre



Temps de relaxation



- Pour une cellule : $I = 0$
- Propagation le long de l'axone :
(V est une fonction de x)

$$I = \frac{a}{2R} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2}$$

a = diamètre axone
 R = résistance axoplasme

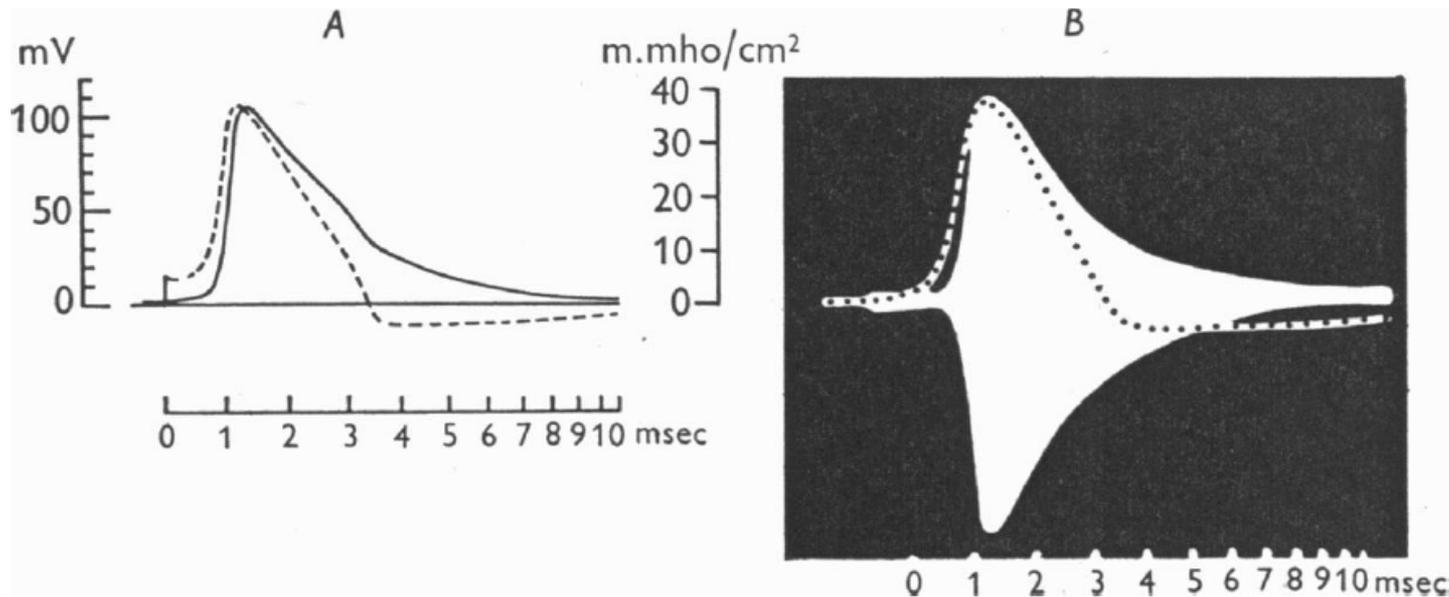
- Cas du transport passif (pas de canaux Na,K)

Vitesse $\sim r$ (rayon de l'axone)
Amortissement

- Cas du transport actif (avec canaux Na, K)

Vitesse $\sim r^{1/2}$

Modèle de H-H complexe (beaucoup de paramètres, équations empiriques) mais très précis, en excellent accord avec toutes les mesures électrophysiques :



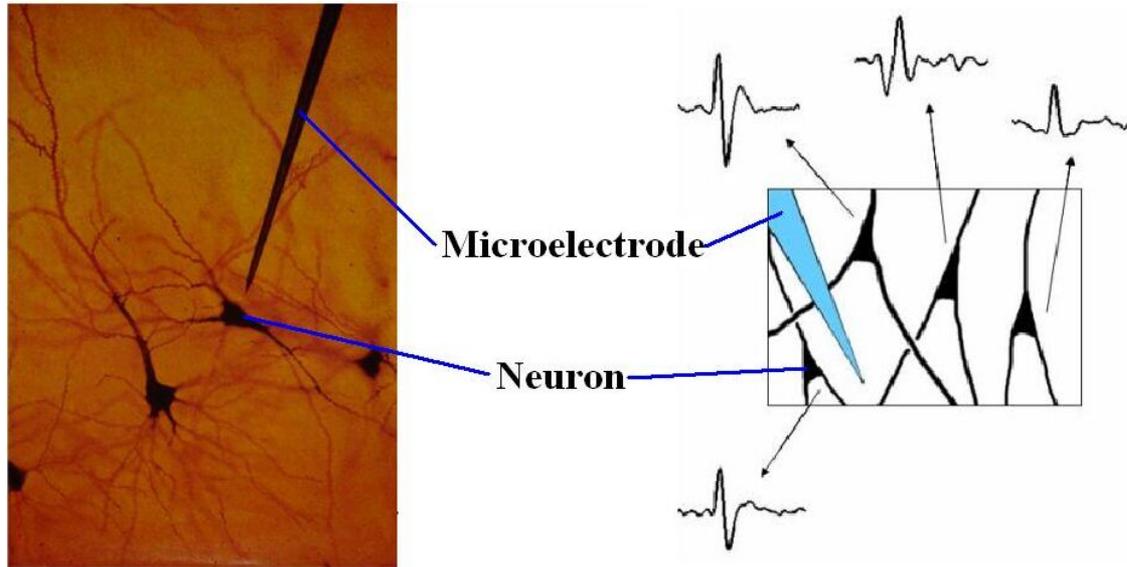
H.H.
(1952)

[mho=S]

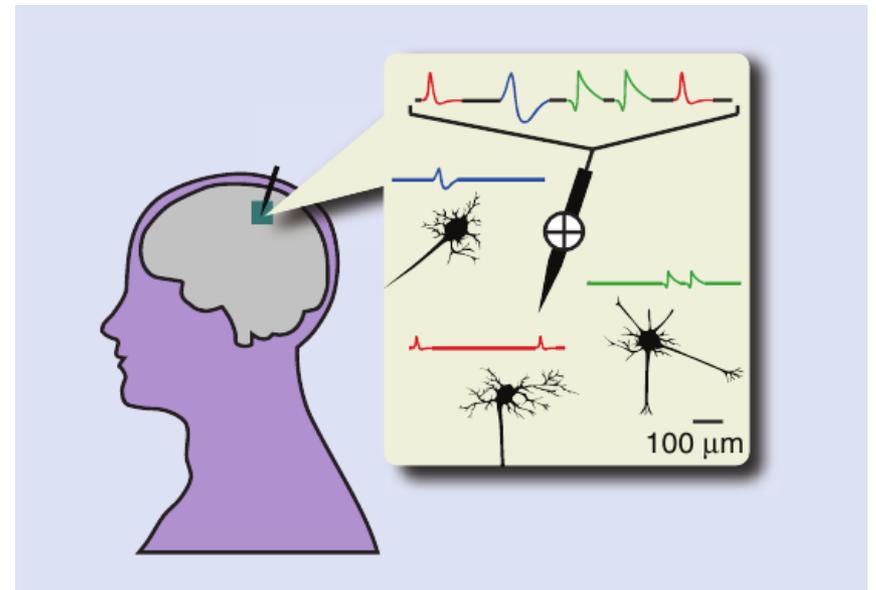
Fig. 16. *A*, solution of eqn. (26) for initial depolarization of 15 mV at a temperature of 6° C. The broken curve shows the membrane action potential in mV; the continuous curve shows the total membrane conductance ($g_{Na} + g_K + \bar{g}_l$) as a function of time. *B*, records of propagated action potential (dotted curve) and conductance change reproduced from Cole & Curtis (1939). The time scales are the same in *A* and *B*.

Modèles plus simples? Intègre-et-décharge -> voir petite classe

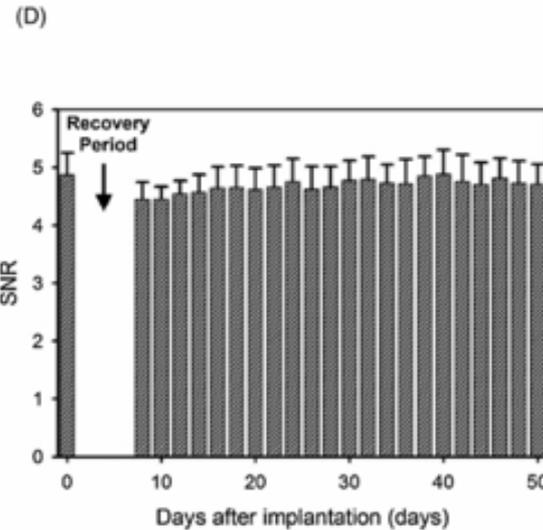
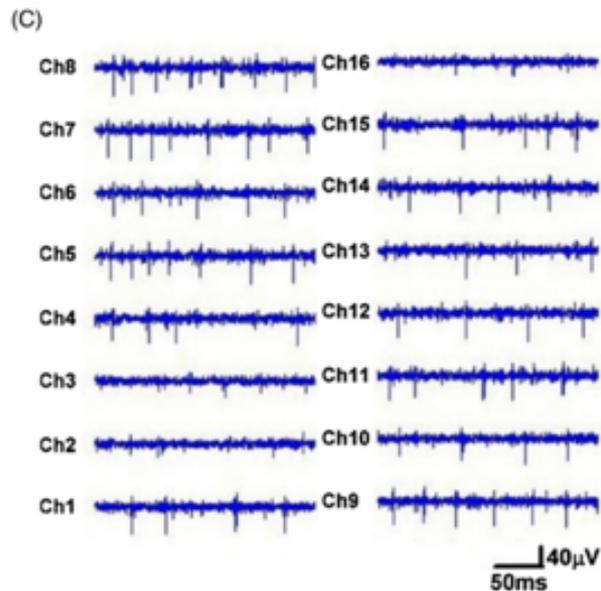
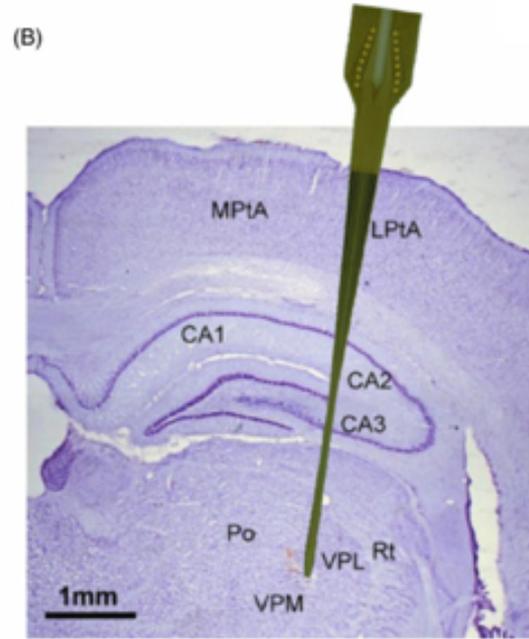
2c- Enregistrement extra-cellulaire par électrode et «spike sorting»



Le potentiel de l'électrode est la superposition des activités des neurones les plus proches (+ bruit de fond).



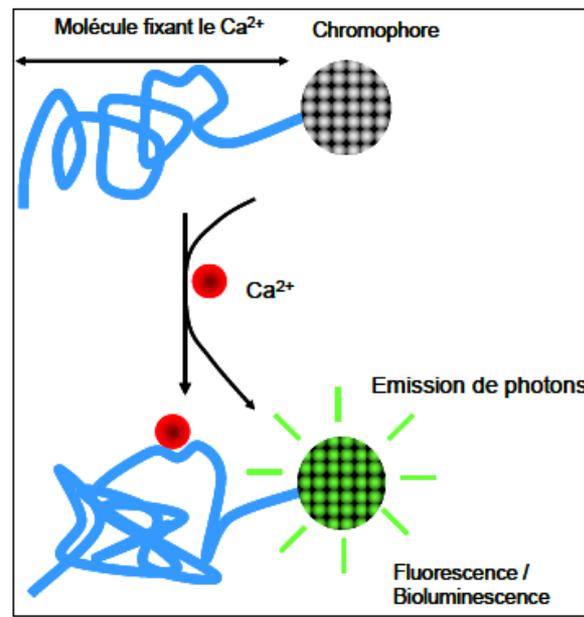
Réseaux multi-électrodes



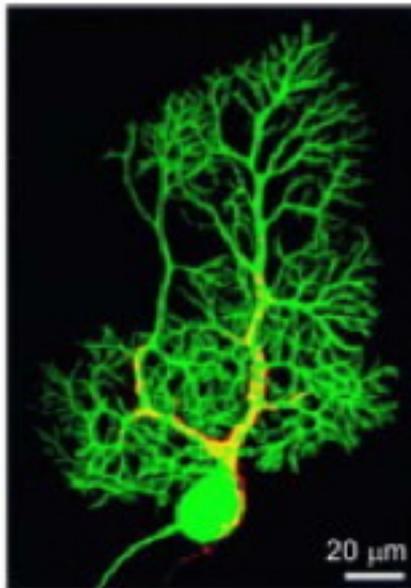
Possibilité d'enregistrer l'activité de dizaines, voire de centaines de cellules in vivo pendant des jours

Méthodes d'imagerie calcique

Sondes calciques

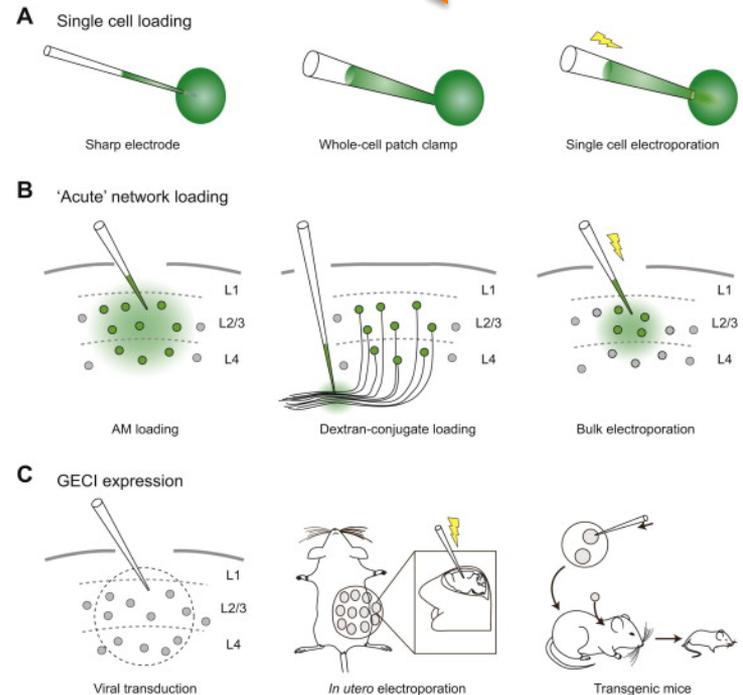


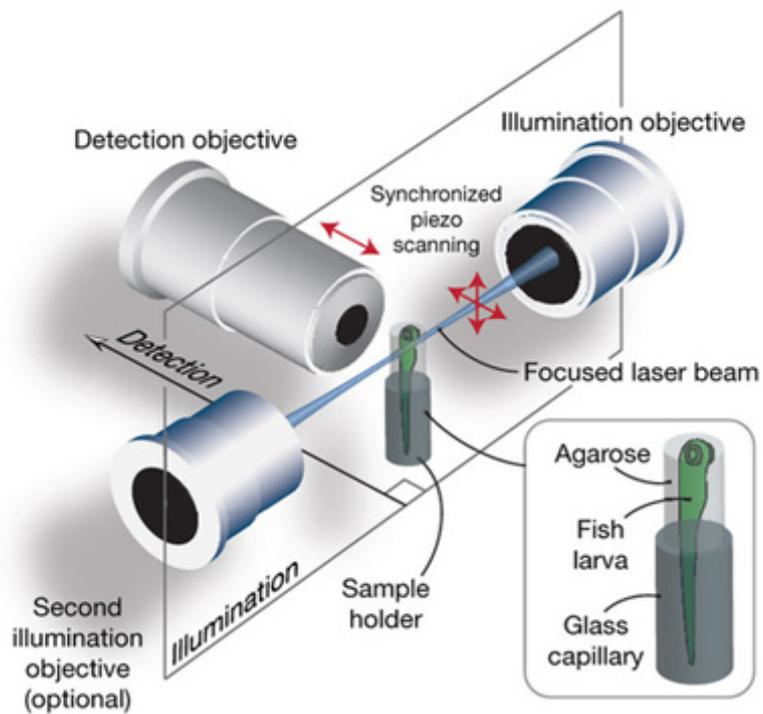
Chargement des sondes



Cellule de Purkinje

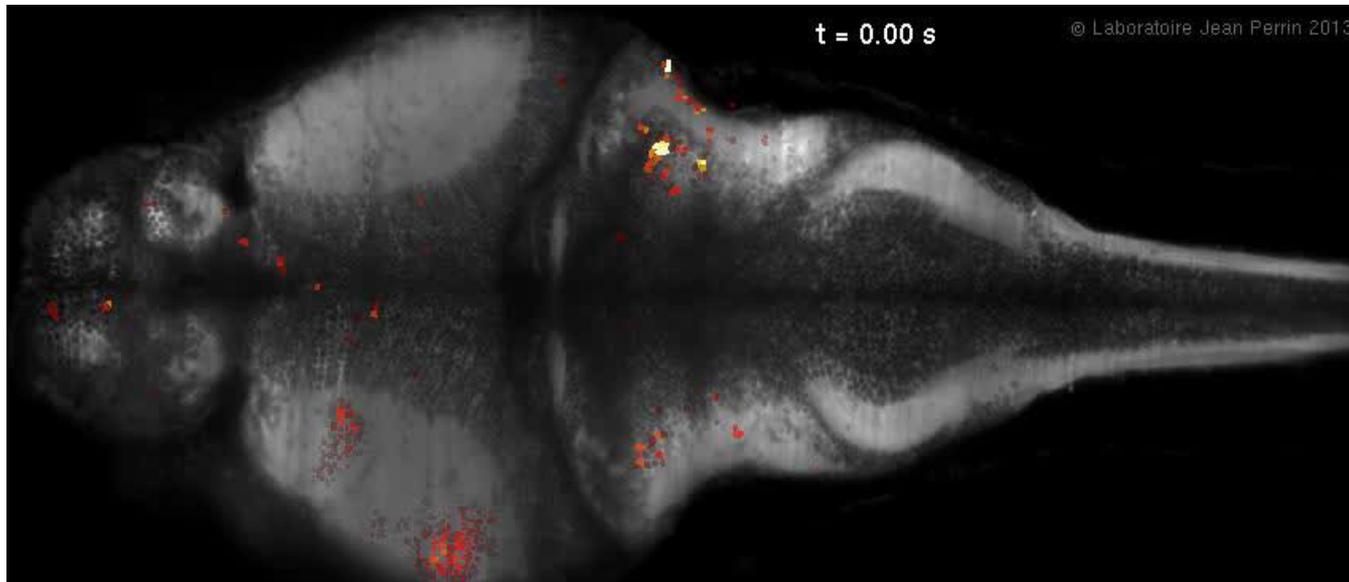
← Visualisation de l'activité





Méthodes d'imagerie : application au poisson zèbre

- Reconstruction 3D possible
- Plusieurs dizaines de milliers de neurones en temps réel



R. Candelier,
G. Debresgeas,
et al. (2013)

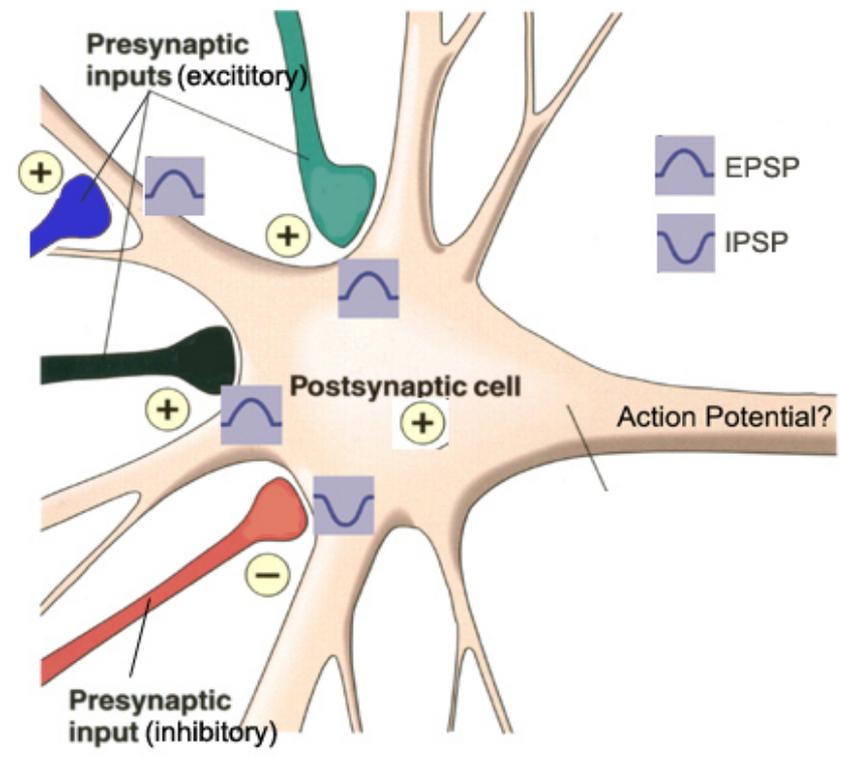
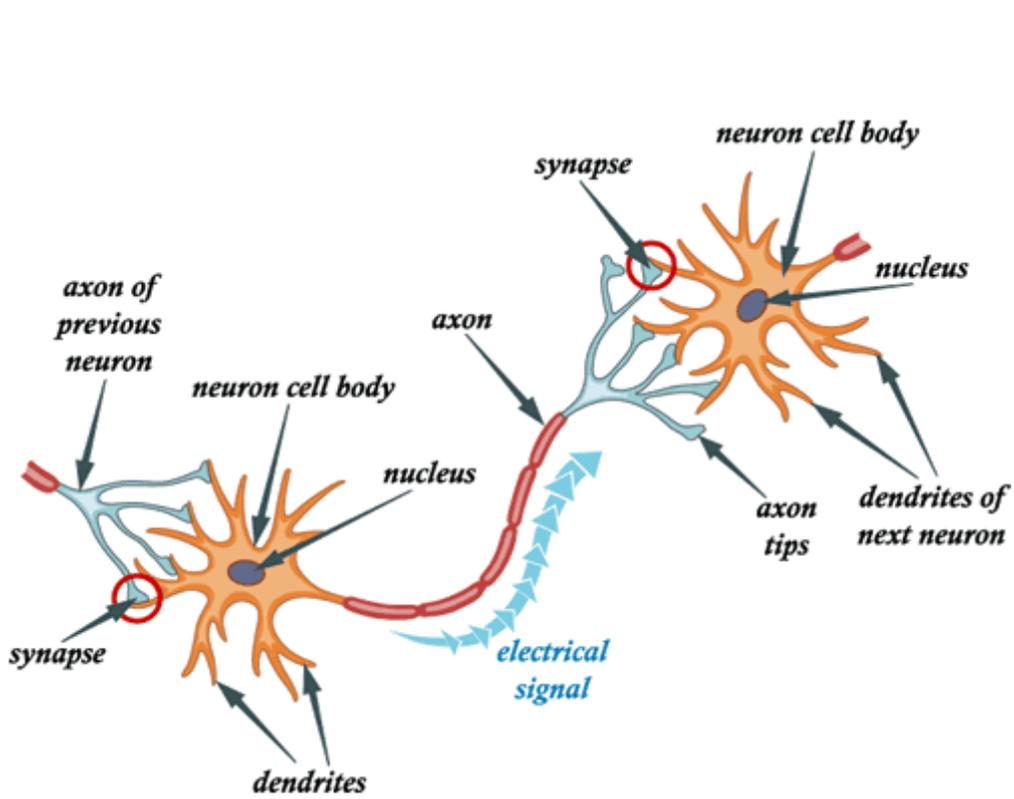
3- Les interactions

3a- Description des synapses

3b- Potentiation et déplétion

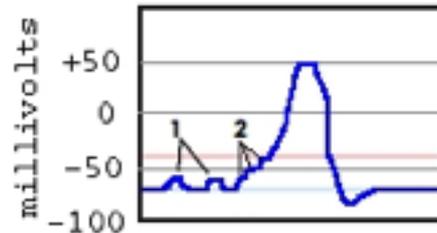
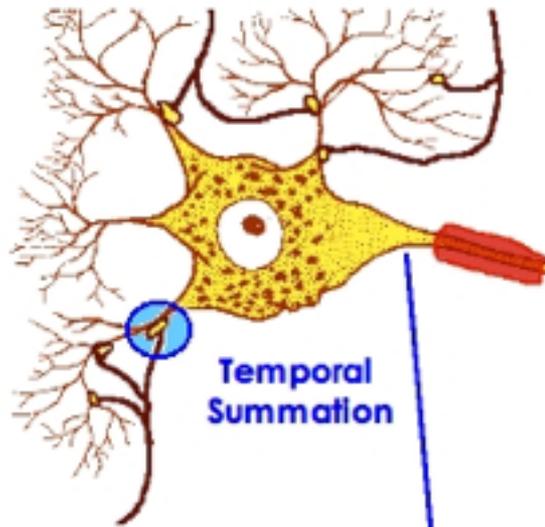
3a- Fonction de la synapse

Transmission et pondération des signaux électriques entre neurones

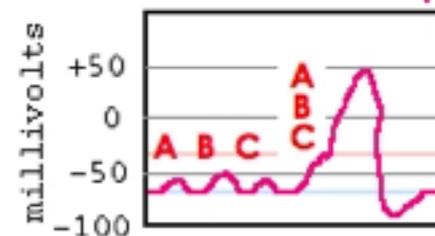
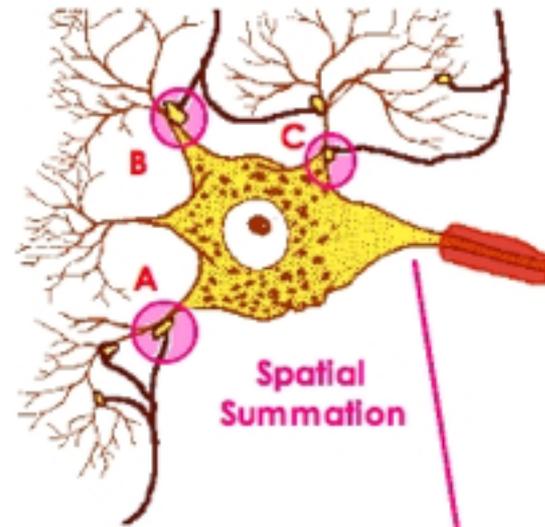


EPSP, IPSP = Excitatory, Inhibitory Post-Synaptic Potentials

Intégration spatio-temporelle des entrées synaptiques



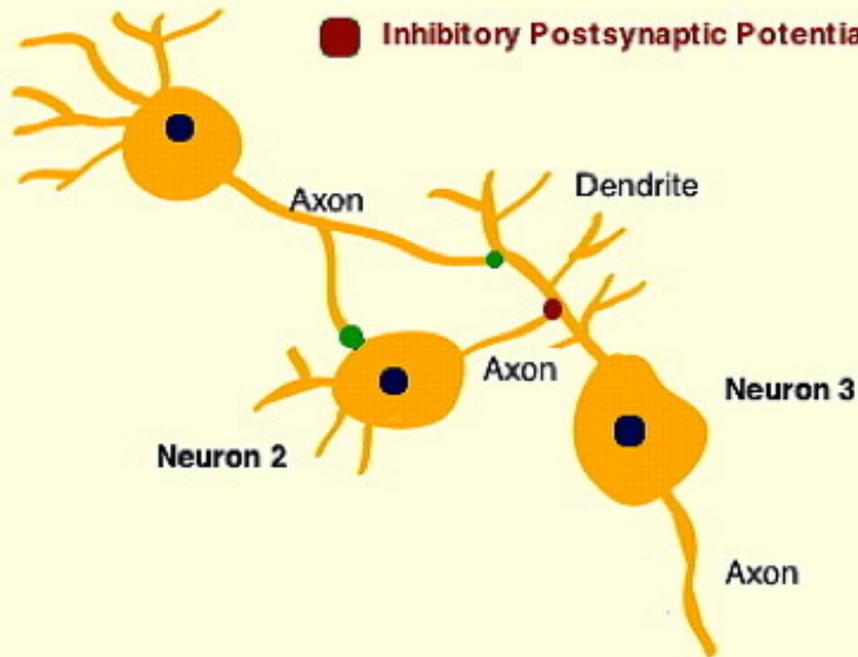
1. Two firings with a pause in between cause no action potential.
2. Three firings in rapid succession cause the neuron to reach the threshold of excitation.



- A, B, C Each of these firings alone causes a partial depolarization but not enough for an action potential.
- But, if A,B,C fire simultaneously their combined effects will cause an action potential

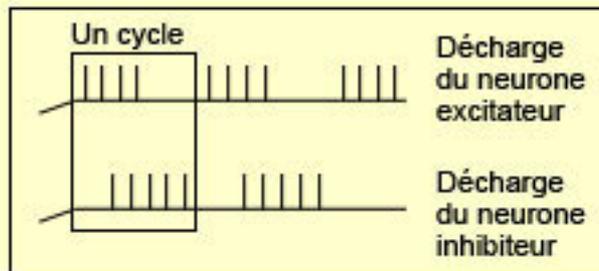
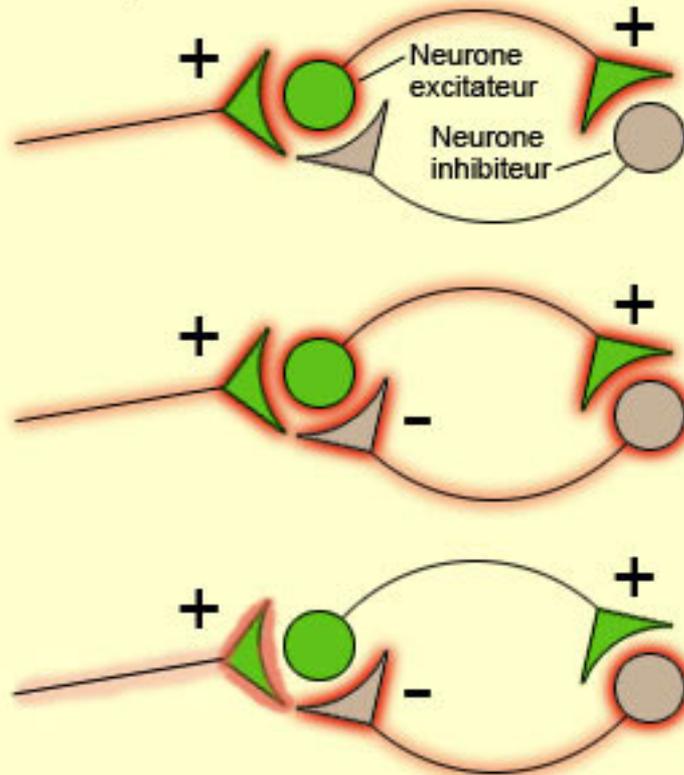
Neuron 1

■ Excitatory Postsynaptic Potential
■ Inhibitory Postsynaptic Potential



- Le caractère excitateur ou inhibiteur d'une synapse est fixé par le neurone pré-synaptique (cf. nature des neurotransmetteurs dans 2 transparents ...)
- Les neurones inhibiteurs (interneurones) sont très importants pour stabiliser l'activité des réseaux (et prévenir les emballements, cf. épilepsie)
- Permettent de réaliser des connexions de signe, de poids, de délais variés et **variables en fonction de l'activité**

Afférence excitatrice
active en permanence



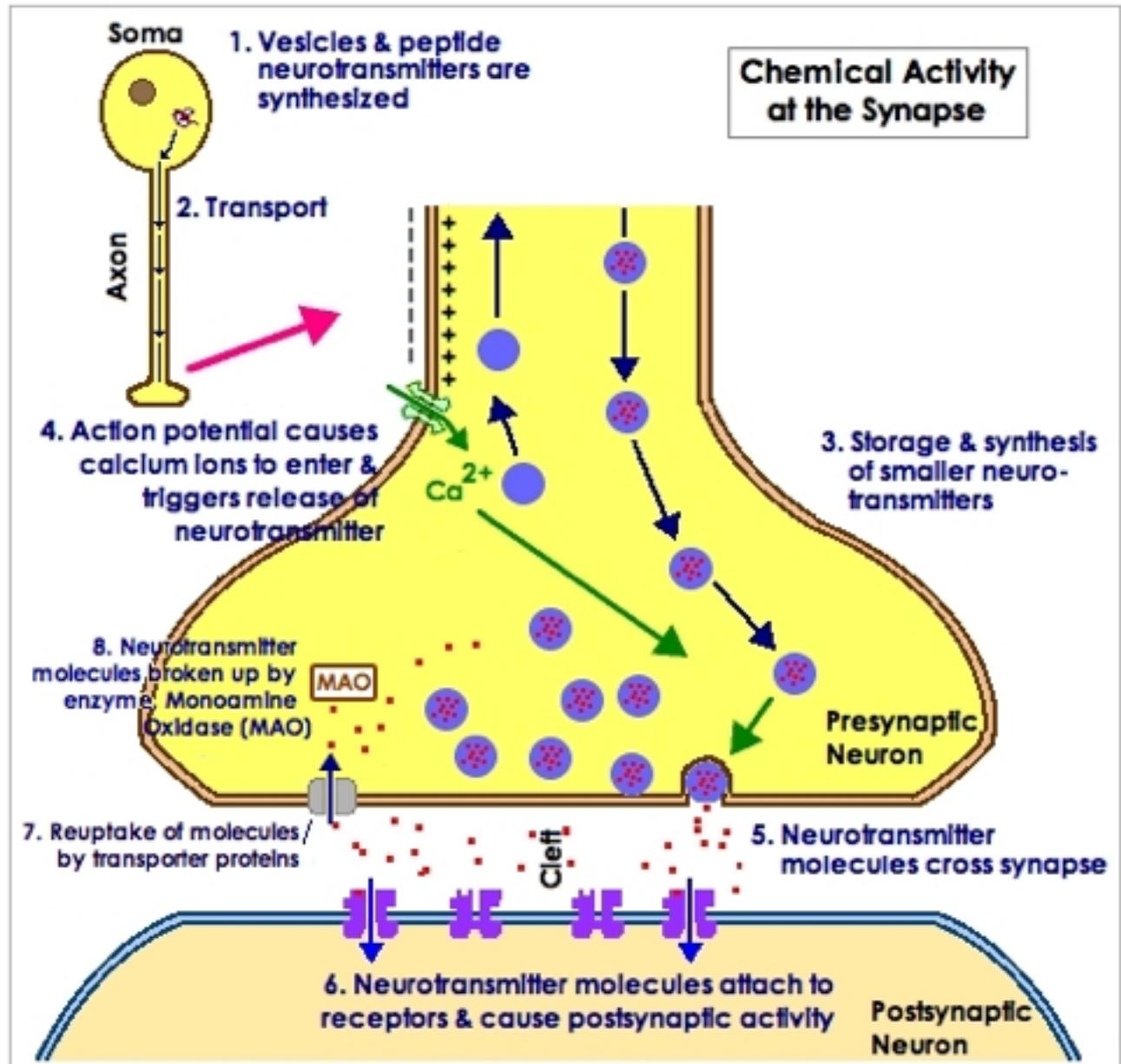
Exemple de circuit très simple :
Le « clignotant » neuronal

Principe à la base des variations
périodiques de l'activité,
omniprésentes dans le cortex
(entre 1 et 70 Hz)

Fonctionnement
détaillé d'une
synapse

Potentiel d'action
pré-synaptique
-> Chimie ->
Potentiel post-
synaptique

40 nm
↑↓



6bis. Ouverture de canaux Na (Excitateurs) ou K (inhibiteurs)

3b- plasticité synaptique

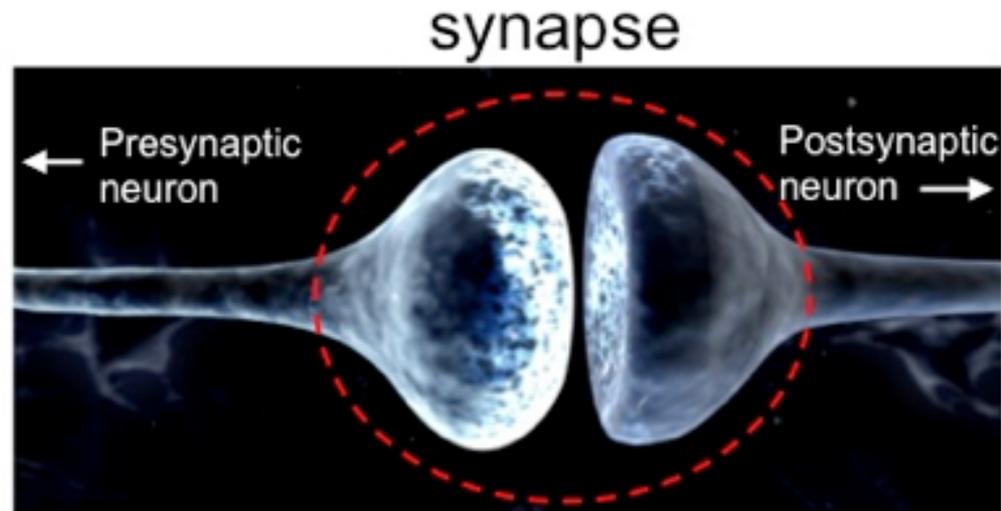
L'intensité de l'EPSP ou IPSP dans le neurone post-synaptique suivant l'arrivée d'un potentiel d'action pré-synaptique est variable au cours du temps = phénomène de plasticité synaptique

Mécanisme chimique : augmentation ou diminution du nombre de vésicules synaptiques libérés, du nombre de récepteurs post-synaptiques, changement dans la qualité des neurotransmetteurs, ...

Fondement microscopique de l'apprentissage :

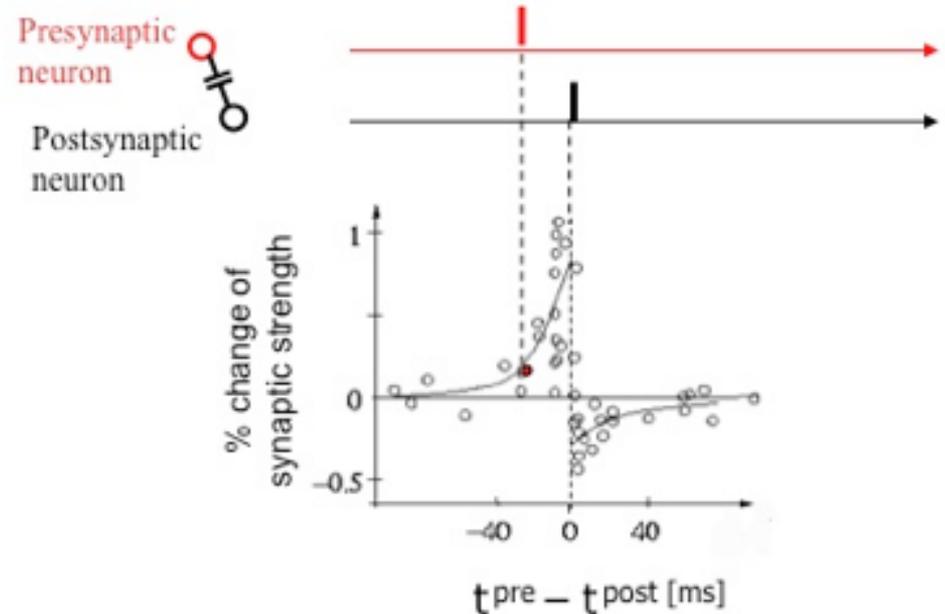
- déjà suggéré par Ramon Y Cajal en 1894 : la mémorisation provient de la modification des couplages entre neurones plutôt que de l'apparition de nouveaux neurones
- théorisé par Hebb en 1949 : renforcement ou déplétion synaptique selon que les neurones pré- et post-synaptiques ont tendance à être actifs ensemble ou pas.
- Résultats expérimentaux?

Plasticité dépendant du délai entre potentiels d'action pré- et post-synaptiques



Protocole :

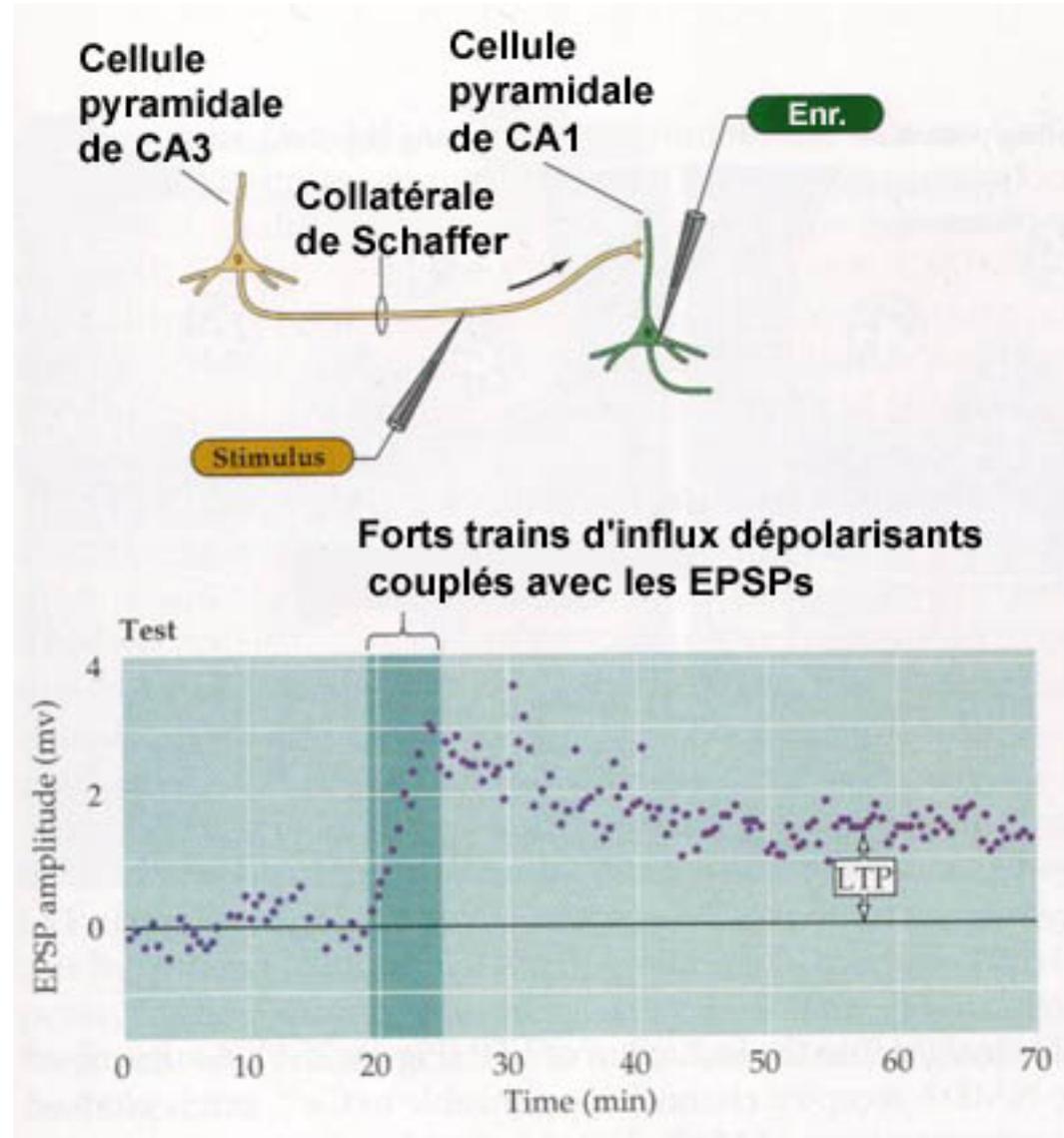
1. Estimation préalable de l'intensité de la synapse
2. Stimulations répétées avec délai fixée
3. Nouvelle estimation de l'intensité de la synapse



Effet sur des échelle de temps allant de 10 msec à quelques minutes

Potentiation (ou déplétion) à long terme (= minutes -> mois)

T. Lomo,
enregistrements dans
l'hippocampe du rat
(1966)



Mécanismes microscopiques par parfaitement compris à l'heure actuelle

Conclusions

- les neurones sont des cellules ayant des propriétés électrophysiologiques spécifiques, permettant la production, la transmission, l'intégration de potentiels d'action
- Les neurones interagissent entre eux à travers des couplages synaptiques, dont le signe et le poids sont modulables et dépendent de l'activité neuronale, des entrées et stimulations extérieures
- Les techniques d'enregistrement et de stimulation actuelles permettent de caractériser l'activité de milliers de neurones, en temps réel.
- La modélisation permet de comprendre les propriétés dynamiques détaillées d'un seul neurone (H.H. = un des plus grands succès de la biophysique)
- Propriétés collectives, de réseau??
Après les vacances !!