

Les tampons présentent l'inconvénient de ne fonctionner que dans des zones de pH restreintes et d'avoir une capacité d'«amortissement» limitée. Ce sont des systèmes incapables d'assurer l'équilibre du pH dans un organisme constitué de milliards de nos cellules. Plus que les systèmes tampons, les garants de l'équilibre acido-basique global sont les systèmes respiratoire, circulatoire et excréteur.

Le dioxyde de carbone, produit par les réactions d'oxydation du glucose qui ont lieu dans les mitochondries, les centrales énergétiques des cellules, se combine avec les molécules d'eau pour donner de l'acide carbonique (H_2CO_3). Cette réaction est réversible, car l'acide carbonique se décompose facilement en eau et en dioxyde de carbone. Dans l'organisme, l'association ou la dissociation du dioxyde de carbone et de l'eau est activée par une enzyme, l'anhydrase carbonique.

Souvent considéré comme un «déchet», le dioxyde de carbone est précieux, car associé à l'eau, il a des propriétés acido-basiques remarquables. Sous sa forme H_2CO_3 , il peut s'ioniser, pour donner l'ion bicarbonate HCO_3^- , lequel peut fixer un ion H^+ et faire diminuer l'acidité. Le bicarbonate de sodium est un remède de grand-mère efficace contre l'acidité gastrique.

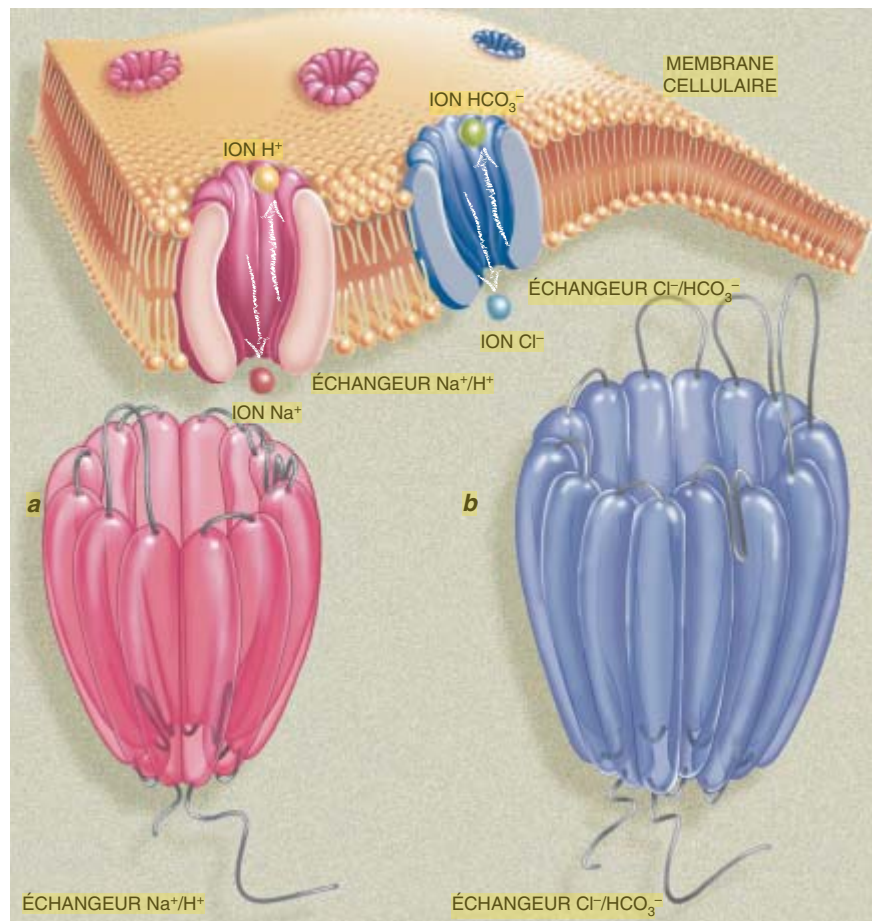
Les ions HCO_3^- produits par les cellules s'accumulent dans les globules rouges, et sont transportés par le sang jusqu'aux poumons. La pression partielle du dioxyde de carbone est négligeable dans l'air inspiré, de sorte que l'équilibre entre H_2CO_3 et CO_2 est déplacé dans le sens de la production de dioxyde de carbone, c'est-à-dire de la recombinaison des ions HCO_3^- avec des ions H^+ qui redonnent de l'acide carbonique H_2CO_3 , dans les alvéoles et les capillaires pulmonaires (voir la figure 1). Sous l'action de l'anhydrase carbonique des globules rouges, cet acide carbonique se dissocie rapidement sous forme d'eau et de dioxyde de carbone, éliminé dans l'air expiré.

Ainsi, l'élimination du dioxyde de carbone par le système respiratoire assure celle des ions H^+ produits par l'organisme. Contrairement au dogme, le dioxyde de carbone n'est pas un poison issu de l'activité métabolique des cellules, mais c'est une molécule vitale, car sa concentration maintenue dans des limites étroites garantit l'équilibre acido-basique de l'organisme.

Le rein intervient aussi dans la régulation de l'équilibre acido-basique : il dispose de divers mécanismes actifs qui, d'une part, assurent l'évacuation des ions H^+ du sang dans les urines et, d'autre part, évitent l'élimination des ions bicarbonate par la voie urinaire (les ions sont réabsorbés par une structure nommée le tubule rénal). C'est pour cette raison que de nombreux désordres de la fonction rénale, qui autorisent la fuite des ions tampons, tels les ions phosphate et bicarbonate, dans les urines, ont des effets délétères sur le maintien de l'équilibre acido-basique et aboutissent parfois à des acidoses graves. Les premiers signes sont souvent un état de somnolence, des troubles de la mémoire et de l'attention, un pouls et un rythme respiratoire rapides, et des douleurs articulaires, thoraciques et abdominales. Lorsque l'insuffisance rénale responsable de la forte acidité du sang est traitée, les douleurs et les troubles neurologiques et respiratoires disparaissent.

Les transporteurs membranaires

Comme nous l'avons souligné, l'équilibre acido-basique des cellules doit être sans cesse réajusté, et la survie de ces cellules nécessite, outre les systèmes tampons locaux, des mécanismes actifs d'excrétion des protons, du cytoplasme vers le milieu extracellulaire. La membrane plasmique constitue une barrière entre l'intérieur et l'extérieur des cellules, qui empêche la diffusion de l'eau, des ions et des molécules chargées. Pourtant, malgré la présence de cette barrière, les cellules sont capables, selon leurs besoins, d'accumuler ou d'éliminer toute une série de composés qui ne peuvent traverser passivement la membrane hydrophobe. Elles utilisent des protéines intégrées dans la membrane plasmique, essentiellement des canaux et des transporteurs membranaires, qui assurent le rôle d'interface entre l'intérieur et l'extérieur de



3. DEUX TYPES D'ÉCHANGEURS assurent la stabilité du pH au sein des cellules en transportant les ions H^+ ou les ions tampons bicarbonate HCO_3^- de part et d'autre de la membrane. L'échangeur sodium/proton (Na^+/H^+), qui compte 12 segments transmembranaires (a), assure l'excrétion des ions H^+ hors des cellules. L'échangeur chlore/bicarbonate (Cl^-/HCO_3^-) contient 14 segments intramembranaires (b) et fait sortir les ions tampons bicarbonate HCO_3^- des cellules. Ainsi, lorsque ces deux transporteurs fonctionnent à la même vitesse, des ions H^+ et HCO_3^- quittent les cellules de sorte que le bilan est une entrée d'ions chlorure et d'ions sodium.

la cellule. Ces transporteurs reconnaissent «leurs» molécules, ou substrats, parmi toutes celles qui sont présentes dans les fluides biologiques et les «fixent» spécifiquement. La protéine transporteur, qui porte d'abord son substrat à l'extérieur de la membrane change alors rapidement de conformation pour introduire la molécule prise en charge à l'intérieur de la cellule, où elle est relâchée.

Ainsi, afin de réguler leur *pH*, les cellules utilisent des transporteurs membranaires qui facilitent le passage des ions H^+ , ou des ions tampons à travers la membrane plasmique.

Quelles sont la structure et la fonction de ces protéines transporteurs? Contrairement aux protéines solubles, ces protéines insérées dans la membrane sont présentes en faibles quantités, et sont difficiles à purifier sous leur forme fonctionnelle. Dans les années 1980, on a commencé à étudier les caractéristiques moléculaires des différentes familles de transporteurs membranaires qui participent à la régulation du *pH*.

Chez les organismes pluricellulaires, deux principaux types d'«échangeurs» assurent la régulation du *pH* intracellulaire : un transporteur membranaire

qui élimine les ions H^+ en excès et les remplace par des ions sodium Na^+ (c'est l'échangeur sodium/proton, Na^+/H^+), et un transporteur membranaire qui, au contraire, a une fonction acidifiante : il favorise la sortie des ions bicarbonate HCO_3^- qu'il remplace par des ions chlorure Cl^- (c'est l'échangeur chlore/bicarbonate). Ces deux transporteurs, présents dans tous les types de cellules, maintiennent le *pH* intracellulaire en équilibre dynamique.

L'échangeur sodium/proton

Les échangeurs d'ions H^+ et Na^+ ont été découverts en 1976 par Heini Mürer de l'Université de Zurich. Ils utilisent l'énergie due au gradient de concentration du sodium qui règne de part et d'autre de la membrane plasmique grâce à la pompe à sodium, pour expulser un ion H^+ , en échange d'un ion sodium Na^+ qui entre dans le cytoplasme (voir la figure 3). Ces échangeurs sont bloqués par l'amiloride, un diurétique antihypertenseur, et par ses dérivés, qui empêchent la fixation du sodium sur la protéine.

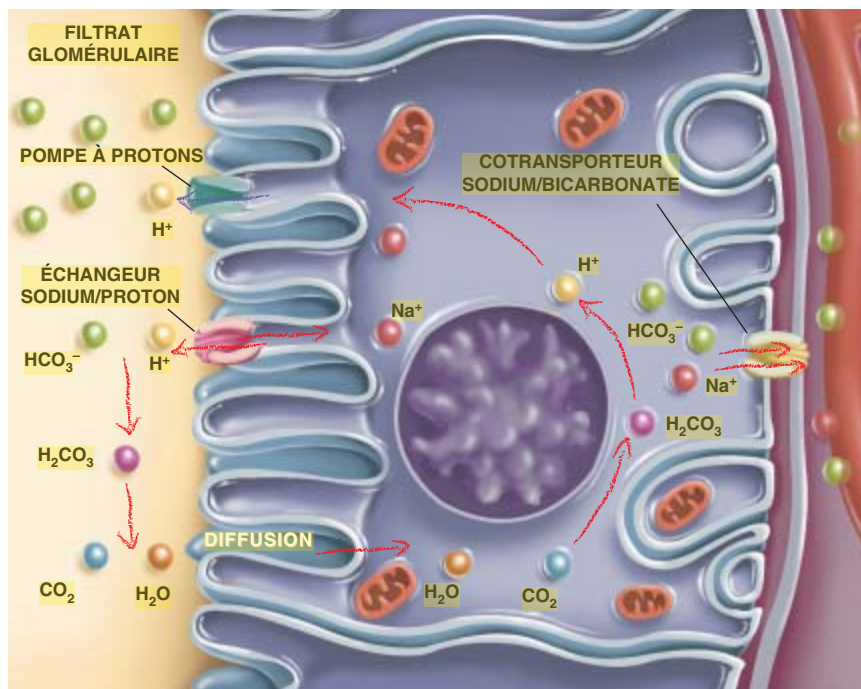
Ces inhibiteurs ont révélé qu'il existe différentes formes d'échangeurs

sodium/proton : une forme bloquée par de faibles concentrations d'amiloride, exprimée dans toutes les cellules, et responsable de la régulation du *pH* intracellulaire et des formes que seules de fortes concentrations en inhibiteurs parviennent à bloquer. Ces dernières sont présentes, notamment dans le tubule rénal et dans l'intestin (voir la figure 4). Elles participent à l'absorption intestinale du sodium, à la réabsorption rénale du sodium, et à l'élimination des ions H^+ dans les urines.

Ainsi, lorsque le *pH* cytoplasmique est proche de sa valeur optimale (entre 7,1 et 7,2 pour la majorité des types cellulaires), les échangeurs sodium/proton présents dans la membrane d'une cellule sont peu actifs, mais ils se mettent à fonctionner rapidement lorsque le milieu intracellulaire commence à devenir acide. Toute augmentation de la concentration intracellulaire en ions H^+ modifie le nombre de protons portés par certains des acides aminés qui constituent la protéine-échangeur. Cette modification est un interrupteur moléculaire qui confère aux échangeurs sodium/proton une conformation active. Ces derniers éliminent alors activement du cytoplasme les protons en excès : le *pH* intracellulaire est ramené à sa valeur physiologique.

L'activité de cet échangeur est modulable par d'autres facteurs que le *pH*. Ainsi, dans la majorité des types cellulaires, de nombreuses stimulations par des hormones, des neuromédiateurs ou des facteurs de croissance (encore nommés mitogéniques), sont capables d'augmenter l'efficacité de l'échangeur sodium/proton. Ces diverses substances modifient la conformation de l'échangeur et, par conséquent, son affinité pour les ions H^+ : elles changent le seuil d'activation de l'échangeur sodium/proton, qui devient plus sensible aux variations du *pH*.

En 1989, Jacques Pouyssegur et ses collègues de l'Université de Nice-Sophia Antipolis, isolèrent les séquences génétiques codant un échangeur sodium/proton. On put alors préciser la structure de ce type de protéines. La protéine, intégrée dans la bicouche lipidique, a 12 segments transmembranaires, et un grand domaine cytoplasmique, qui module l'activation de l'échangeur en fonction de l'état de stimulation des cellules par les signaux hormonaux ou mitogéniques. Cette région régulatrice est organisée en un enchaînement de sous-



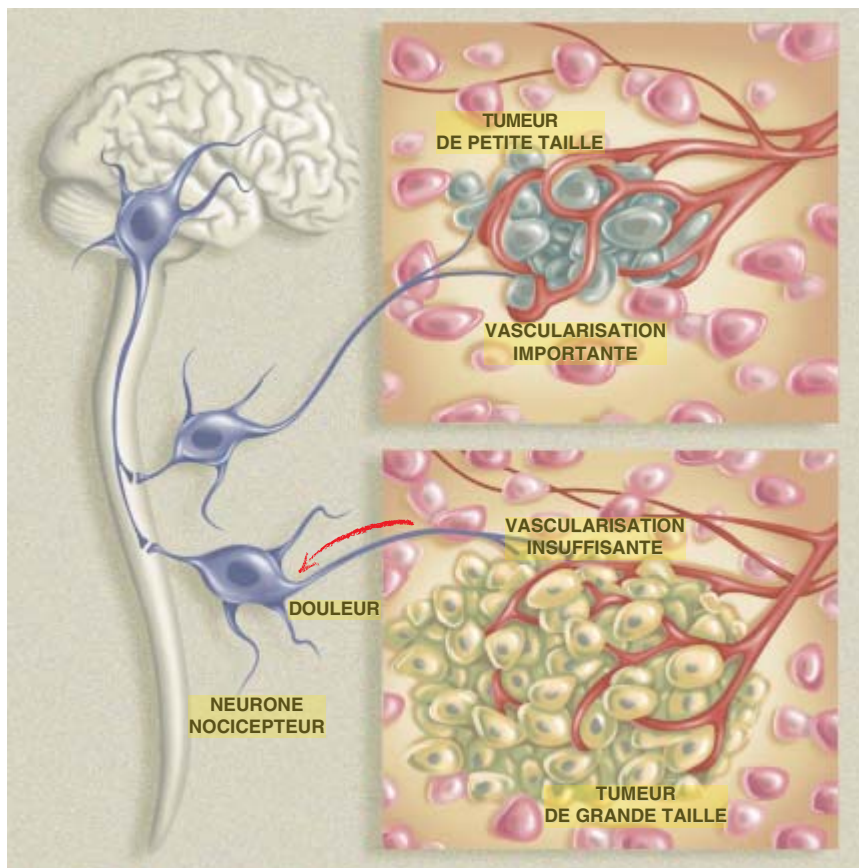
4. DANS LE REIN, les ions H^+ excrétés par les échangeurs sodium/proton et par les pompes à protons situés sur la bordure en brosse des cellules se recombinaient avec les ions HCO_3^- présents dans le filtrat glomérulaire et redonnent l'acide carbonique H_2CO_3 . Sous l'action de l'anhydrase carbonique, ce dernier est transformé en dioxyde de carbone dissous qui diffuse librement à travers les membranes cellulaires. À nouveau hydraté, il donne de l'acide carbonique, lequel se dissocie, et les ions bicarbonate sont «réabsorbés» activement dans le milieu intérieur. De nombreux désordres de la fonction rénale, qui autorisent la fuite des ions tampons dans les urines, ont des effets délétères sur le maintien de l'équilibre acido-basique et aboutissent, parfois, à des acidoses graves.

domaines qui sont la cible de différentes protéines responsables de la transmission des signaux extracellulaires au cœur des cellules. L'interaction de la région cytoplasmique avec les effecteurs de ces différents signaux produit des changements de structure de l'échangeur qui en modulent l'efficacité.

Après l'obtention des séquences génétiques de la forme la plus exprimée de l'échangeur sodium/proton, nommée NHE-1, les gènes codant des formes plus spécialisées d'échangeurs ont été isolés, notamment par l'équipe de Mark Donowitz, de l'Université Johns Hopkins, à Baltimore, et par celle de John Orłowski, de l'Université McGill de Montréal. Toutes ces protéines dérivent d'un gène ancestral commun, et ont des séquences apparentées. Les échangeurs NHE-1 et NHE-6 sont exprimés dans toutes les cellules. Les formes NHE-2 et NHE-3 sont présentes dans la bordure en brosse de l'intestin grêle et du tubule rénal, où elles participent à l'absorption du sodium. L'équipe de Michel Paillard, à l'Hôpital Broussais, a caractérisé l'expression des formes NHE-2, NHE-3 et NHE-4 de l'échangeur dans le tubule rénal ; désormais, on comprend mieux comment ces formes contribuent à l'acidification urinaire et à la réabsorption des ions bicarbonate (voir la figure 4). La forme NHE-5 est localisée dans le cerveau et assurerait une régulation supplémentaire du pH dans ces cellules dont l'activité électrique est très sensible aux variations de l'acidité.

L'échangeur chlore/bicarbonate

L'activité alcalinisante de l'échangeur sodium/proton est compensée par un autre système de transport, l'échangeur chlore/bicarbonate, qui, au contraire, a une action acidifiante sur le cytoplasme. Comme nous l'avons rappelé, toute augmentation de pH intracellulaire entraîne la dissociation de l'acide carbonique présent dans le cytoplasme en ions H^+ et HCO_3^- . Lorsque cela se produit, les échangeurs chlore/bicarbonate font sortir activement les ions HCO_3^- du cytoplasme, et maintiennent à l'intérieur des cellules les ions H^+ qui proviennent de l'acide carbonique dissocié : le milieu intracellulaire s'acidifie. On a montré qu'il existe différentes formes d'échangeurs chlore/bicarbonate, qui ont des rôles physiologiques différents.



5. UNE AUGMENTATION DE L'ACIDITÉ des cellules peut déclencher un signal douloureux. Ainsi, les cellules en prolifération dans certaines tumeurs peu vascularisées consomment de grandes quantités d'énergie, et manquent souvent d'oxygène, ce qui crée une acidification chronique de la masse tumorale. Des neurones spécialisés sont capables de détecter une telle acidification et de convertir cette information en un signal électrique qui se propage jusqu'au cerveau

Le premier gène codant un de ces échangeurs a été isolé par l'équipe de Harvey Lodish, à l'Institut Whitehead, à Cambridge, en 1985 ; c'est l'échangeur AE_1 . Il est présent en grandes quantités dans la membrane des globules rouges, où il permet l'accumulation des ions bicarbonate qui seront ensuite évacués dans les poumons. Ultérieurement, d'autres gènes ont été isolés : ils codent le même type d'échangeurs, mais leur localisation change selon le gène exprimé. Ainsi les formes AE_2 , et AE_3 sont exprimées dans le tube digestif, le rein, le cœur, les muscles lisses, ou le cerveau, où elles assurent le maintien du pH intracellulaire en contrôlant les concentrations en bicarbonate intra- et extracellulaires.

Comme les échangeurs sodium/proton, ces transporteurs comportent une partie cytoplasmique, capable de fixer différentes protéines qui modulent leur activité, et une région transmembranaire qui assure la fonction de transport. Cette dernière, sur laquelle se fixent les inhibiteurs, est constituée de 14 segments transmembranaires.

Les rôles physiologiques des variations de l'acidité

Pendant longtemps, on a cru que les perturbations de l'équilibre homéostatique étaient accidentelles. Puis on a découvert avec surprise que les petites fluctuations de la concentration en ions H^+ , tant dans les milieux extracellulaires qu'intracellulaires, sont en fait exploitées par les organismes et par les cellules pour accomplir des fonctions physiologiques importantes, par exemple la transmission de messages douloureux, ou le renouvellement des tissus.

De nombreuses situations provoquant une lésion tissulaire entraînent une acidification de l'environnement des cellules lésées : lors d'un infarctus du myocarde, l'ischémie provoquée par l'occlusion d'une ou de plusieurs artères coronaires entraîne une acidose des cellules cardiaques. De même, les cellules en prolifération dans certaines tumeurs de grande taille ou peu vascularisées consomment de grandes quantités d'énergie, et manquent souvent d'oxygène, ce qui crée une acidification



Code 075001 • 100 F
144 pages

BELIN • POUR LA SCIENCE