



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS-MOSTAGANEM**

**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

**Polycopié pédagogique**

**Thermodynamique des transports  
membranaires**

**Niveau : Licence 3 en BIOCHIMIE**

**Préparé par : D<sup>r</sup>. DIB Wafaa**

**Année Universitaire 2017/2018**

## Sommaire

<b>Introduction .....</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre 1 : Les membranes biologiques</b>	
I.1 Les membranes biologiques .....	02
I.2 Composition et structure des membranes biologiques .....	02
I.2.1 Structure et fonctions des lipides .....	05
I.2.1.1 Les Glycérophospholipides (ou Phospholipides).....	05
I.2.1.2 Les Sphingolipides .....	06
I.2.1.3 Le Cholestérol .....	07
I.2.2 Les protéines .....	08
I.2.2.1 Structure des protéines .....	08
I.2.3 Les glucides membranaires .....	09
I.2.3.1 Glycolipides .....	12
I.2.3.2 Glycoprotéines .....	13
I.1.3 Dynamique des lipides dans les membranes et fluidité..	14
I.1.3.1 Le modèle de «mosaïque fluide » .....	14
I.3.2 Les radeaux lipidiques .....	15
I.3.3 Principe de formation des radeaux lipidiques .....	17
I.3.4 Protéines associées aux radeaux lipidiques .....	19
I.3.5 Importance biologique des radeaux membranaires .....	21
I.4 Les membranes modèles .....	22
<b>Chapitre 2 : Principe de la thermodynamique</b>	
II.1 La thermodynamique .....	24
II.2 Propriétés mécanistiques .....	25
II.2.1 Mécanique quantique .....	25
II.3 États et processus en thermodynamique .....	27
II.4 Principes fondamentaux de la thermodynamique .....	28
II.5 Mécanique statistique .....	30
II.5.1 Entropie de Boltzmann .....	31

II.5.1.1 Entropie continue de Boltzmann .....	31
II.5.1.2 Entropie combinatoire de Boltzmann .....	31
II.5.2.3 Entropie macroscopique de Boltzmann .....	33
II.6 Probabilité .....	33
II.7 Désordre .....	34
II.8 Travail .....	35
II.9 Physiologie .....	36
<b>Chapitre3 : La genèse des membranes biologiques</b>	
III.1 La polarité cellulaire .....	40
III.2 La polarité et l'intégrité épithéliale .....	40
III.2.1 Les structures associées à la polarité apico-basale .....	40
III.2.1.1 Les adhésions cellule-cellule .....	40
III.2.1.1.1 Les jonctions intercellulaires .....	41
III.2.1.1.1.1 Les jonctions serrées (zonulae occludentes) .....	41
III.2.1.1.1.2 Les jonctions adhérentes (zonulae adherentes) .....	42
III.2.1.1.1.3 Les desmosomes (maculae adherentes) .....	43
III.2.1.1.1.4 Les jonctions communicantes (gap junctions) .....	44
III.2.1.2 Les adhésions cellule-matrice .....	45
III.2.1.2.1 Les contacts focaux .....	45
III.2.1.2.2 Les hémidesmosomes .....	46
III.2.3. Influence des adhésions sur la polarité cellulaire .....	46
III.2.4. La signalisation associée à la polarité apico-basale .....	46
III.2.5 La division cellulaire asymétrique et l'intégrité épithéliale .....	47
<b>Chapitre 4 : Aspects dynamiques du transport membranaire</b>	
IV.1 Transport membranaire .....	49
IV.1.1 Transport passif .....	49
IV.1.1.1 Le transport par diffusion simple .....	49
IV.1.1.2 Le transport par diffusion facilitée .....	51
IV.1.2 Le transport actif .....	53
IV.1.2.1 Le transport actif primaire .....	53
IV.1.2.2 Transport actif secondaire .....	56
IV.1.3 Le transport vésiculaire .....	57
IV.1.3.1 Exocytose .....	57

IV.1.3.2 Endocytose .....	57
IV.1.3.3 Pinocytose .....	58
<b>Chapitre 5 : Implication des membranes biologiques dans certains processus pathophysiologiques</b>	
V.1 Pathologie liée au cadhérines .....	61
V.2 Pathologie liée aux intégrines .....	62
V.2.1 Rôle des intégrines dans la progression de la tumeur .....	62
V.2.2 Les maladies inflammatoires et auto-immunitaires .....	64
V.3 Pathologies liées aux Connexines .....	65
V.3.1 Connexines et pathologies humaines .....	65
V.3.1.1 Désordres génétiques associés aux connexines .....	65
V.3.1.2 Connexines et cancers .....	67
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>68</b>

## **Introduction**

Ce document présente des notions de base sur la structure et le rôle des membranes plasmiques dans le fonctionnement cellulaire.

La cellule est une unité fondamentale, structurale et fonctionnelle des organismes vivants. Elle peut remplir toutes les fonctions de l'organisme, à savoir le métabolisme, le mouvement, la croissance, la reproduction ou encore la transmission de gènes. C'est une entité vivante qui fonctionne de manière autonome, tout en restant coordonnée avec les autres. On en distingue deux types : les cellules eucaryotes et les cellules procaryotes :

La cellule est une unité vivante. Elle se nourrit en puisant dans le milieu extracellulaire les nutriments nécessaires au maintien de son activité et de sa croissance. Elle rejette dans ce même milieu les produits de dégradation inutiles ou toxiques. Par le caractère hydrophobe de sa couche lipidique, la membrane plasmique de la cellule ne permet pas le passage de molécules polaires (électrolytes) et de macromolécules. Celle-ci est cependant semi-perméable, car la cellule doit réguler ses concentrations ioniques. L'ensemble des échanges vont ainsi se faire à travers la membrane plasmique ou à l'aide de protéines transmembranaires. Il existe deux modes de transport moléculaires : le transport passif et le transport actif

Des recherches réalisées depuis sur les membranes biologiques et modèles ont conduit à des modifications importantes du modèle de Singer et Nicolson. Des études fonctionnelles portant sur le trafic de protéines et de lipides ont suggéré que les lipides et protéines membranaires n'étaient pas distribués de façon aléatoire dans la membrane (Lisanti and Rodriguez-Boulan, 1990; van Meer and Simons, 1988). Elles ont conduit à l'émergence d'une nouvelle approche de la structure des membranes biologiques, les présentant comme des mélanges hétérogènes organisés en domaines dont certains exercent des fonctions biologiques importantes.

Les membranes lipidiques modèles, même si elles ne rendent pas compte de la complexité des membranes cellulaires et notamment ni de l'asymétrie de répartition des lipides, ni des interactions protéines-protéines, ont concouru à la connaissance actuelle des membranes biologiques et représentent en ce sens un outil indispensable à leur étude.

Enfin, ce document traite les membranes biologiques, le principe de la thermodynamique, la genèse des membranes biologiques, les aspects dynamiques du transport

membranaire et enfin l'implication des membranes biologiques dans certains processus patho-physiologiques.

## **Chapitre 1 : Les membranes biologiques**

### **I.1 Les membranes biologiques**

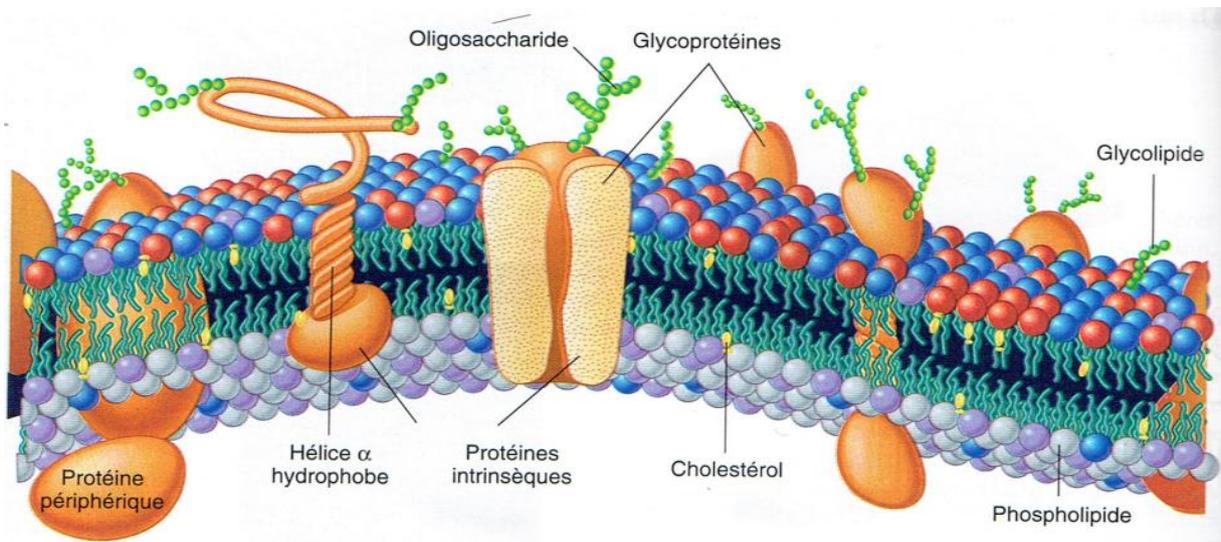
La cellule est considérée comme étant l'unité structurelle et fonctionnelle de tout être vivant. Elle est délimitée par une membrane et contient un cytoplasme dans lequel baignent des organites, structures spécialisées assurant des fonctions cellulaires variées. Ces organites sont également séparés du milieu extérieur par une membrane, dont l'organisation est similaire à celle de la membrane plasmique. Les membranes biologiques sont constituées de lipides, dont les propriétés permettent une organisation en bicouche. Cette bicouche constitue une barrière relativement imperméable de façon à isoler le compartiment interne du milieu environnant. Les échanges avec le milieu extérieur peuvent s'effectuer grâce à des protéines traversant intégralement la membrane, organisées en canaux et assurant le transfert sélectif de composés de part et d'autre de la membrane. Ces protéines ne sont toutefois pas les seules à être intégrées aux membranes. D'autres protéines, transmembranaires ou périphériques, sont également associées aux lipides membranaires et remplissent des fonctions variées. Plus qu'un simple filtre, les membranes biologiques constituent donc le lieu d'organisation de nombreux systèmes fonctionnels importants (Fyfe et al., 2001), dont la nature peut dépendre du type cellulaire ou de l'organite considéré.

Les premières conceptions des membranes cellulaires présentaient les lipides comme n'ayant qu'un rôle de barrière physique inerte, sans aucun rôle biologique précis. La comparaison évoquée par la théorie de la mosaïque fluide, émise par Singer et Nicolson (1972), est celle d'une mer de lipides dans laquelle flotte des icebergs protéiques. Cette image fait référence à la relative mobilité des différents constituants membranaires mais ne prend pas en compte leurs interactions, en particulier l'influence de la nature des lipides sur la fonctionnalité des protéines. Plus tard, Hulbert et Else (1999) ont amélioré cette représentation dans leur théorie du pacemaker. Celle-ci soutient que l'insaturation globale des acides gras (la partie hydrophobe des lipides membranaires) influence l'activité des enzymes et détermine donc la vitesse des processus membranaires. En particulier, les phospholipides riches en acides gras poly-insaturés oméga 3 entraînerait une activité moléculaire importante des protéines membranaires associées.

Toutefois, les activités enzymatiques ne sont pas uniquement sensibles aux caractéristiques globales de la membrane telles que son degré d'insaturation. Les phospholipides sont représentés par plusieurs classes. De part la nature de leurs chaînes d'acides gras, mais également de leur tête polaire, ceux-ci peuvent former un microenvironnement autour des protéines membranaires, nécessaire à leur activité optimale (Spector et Yorek 1985 ; Tillman et Cascio 2003 ; Holmes et al., 2012). La phosphatidyléthanolamine (PE) et la phosphatidylcholine (PC) constituent les deux phospholipides les plus abondants dans les membranes.

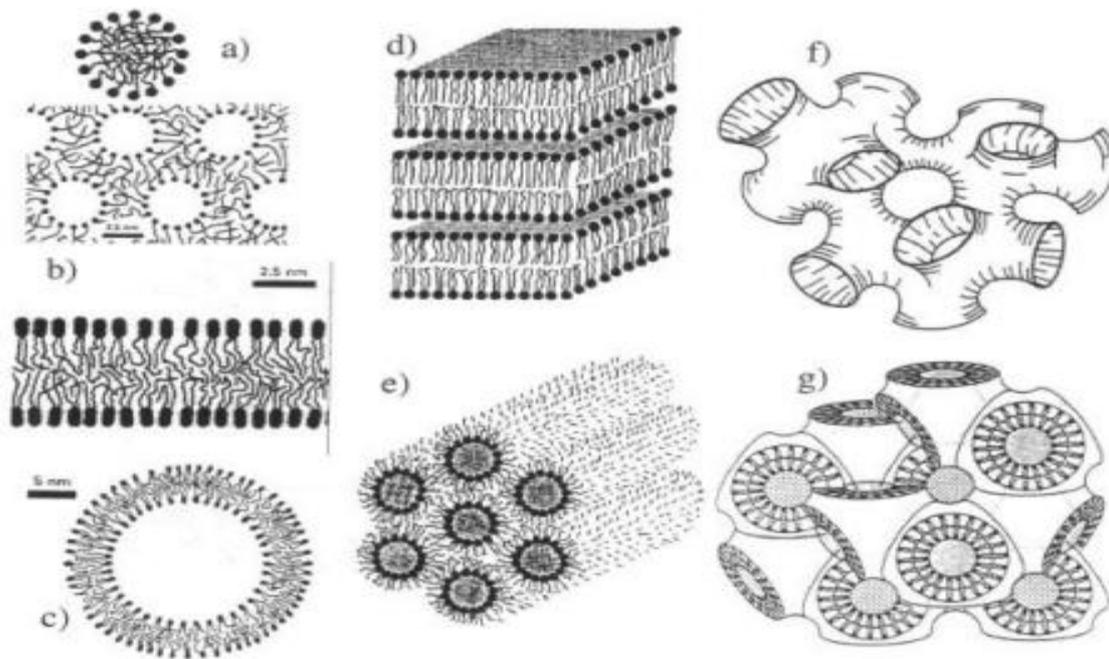
### **I.2 Composition et structure des membranes biologiques**

Les membranes biologiques sont principalement constituées de deux couches de molécules amphiphiles (lipides) se faisant face de manière antiparallèle dans lesquelles sont insérées des protéines. Les lipides membranaires représentent 30 à 50 % de la masse membranaire selon le type d'organite. Ils appartiennent à une famille particulière de molécules amphiphiles qui possèdent une tête polaire, donc hydrophile, chargée ou non, et au moins une chaîne aliphatique, hydrophobe (Nikolson, 1972). Les protéines sont quant à elles enchâssées dans la double couche lipidique et contribuent non seulement à sa solidité, mais surtout remplissent des fonctions essentielles (échanges et communications). La charpente des membranes cellulaires est donc une construction supramoléculaire de lipides associés à des protéines, dont les molécules sont régulièrement orientées, ce qui leur assure à la fois cohésion et souplesse (Figure 1).



**Figure 1: Structure de la membrane plasmique (Nikolson, 1972)**

Les membranes vont se former grâce aux propriétés amphiphiles des lipides constitutifs. En effet, dans l'eau (principal composant des cellules et du milieu extracellulaire), les lipides s'orientent spontanément pour former une double couche dans laquelle les queues hydrophobes se font face en raison de leur affinité réciproque ; les têtes polaires sont dirigées vers l'eau (Figure 1). L'organisation ainsi créée minimise l'énergie du système (énergie libre de Gibbs), et stabilise l'édifice. Les forces en jeu permettant de la maintenir sont de faible énergie, il s'agit d'interactions hydrophobes (liaisons hydrogènes de l'eau perturbées par les portions hydrophobes) et d'interactions de Van der Waals. Afin de minimiser l'énergie libre du système, un auto-assemblage des molécules individuelles a lieu. Cet auto-assemblage peut être à l'origine de nombreuses phases de morphologie différentes (Decher et Hong, 1991 ; Decher et al., 1992) (Figure 2). En ce sens, les membranes biologiques définissent les limites des compartiments intracellulaires ainsi que de la cellule elle-même.



**Figure 2 : Exemple de phases possibles pour les molécules amphiphiles dans un solvant aqueux :** a) micelles et micelles inverses, b) bicouche, c) liposome, d) phase lamellaire, e) phase hexagonale inverse (micelles cylindriques inverse), f) phase éponge, g) phase cubique inverse bicontinue, d'après (Decher et Hong,1991; Decher et al., 1992).

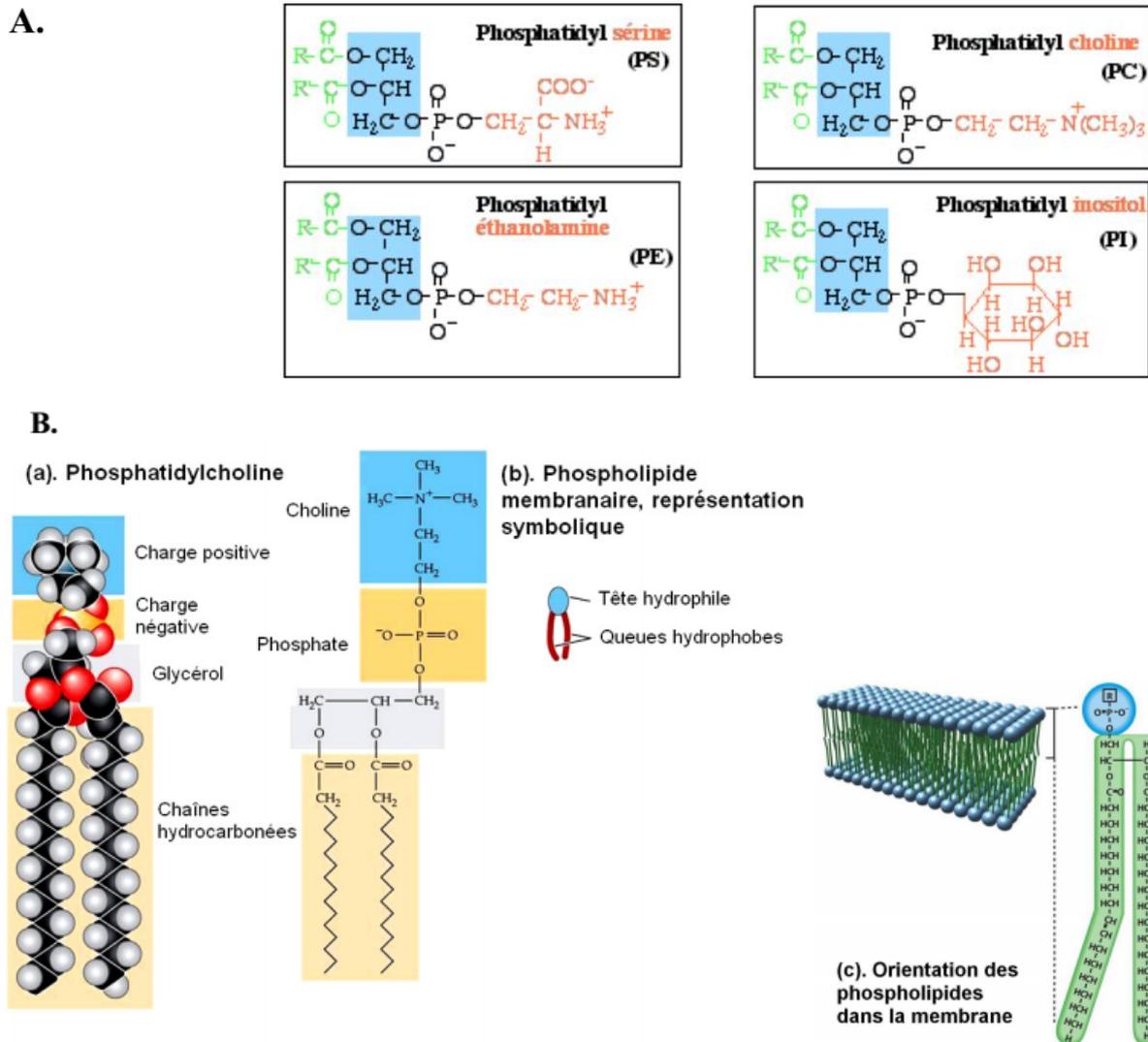
Le volume moléculaire occupé par la tête polaire dépend de son inclinaison par rapport au plan de la membrane, de la vitesse de son mouvement rotatif et de son hydratation. Le volume moléculaire occupé par les chaînes acyles est en particulier fonction du nombre d'insaturations en *cis* présentes dans ces chaînes. Plus celles-ci sont nombreuses et proches du centre de la chaîne grasse, plus le désordre des chaînes acyles augmente (du fait des rotations autour des doubles liaisons C=C) et plus le volume moléculaire occupé par cette chaîne grasse est grand. De même, plus le nombre d'isomérisations *trans-gauches* augmente, plus le volume moléculaire des chaînes acyles augmente. Lorsque les parties hydrophobes et hydrophiles s'équilibrent, on peut schématiser les lipides sous forme de cylindres et le type de phase adopté est alors la phase lamellaire ( $L\alpha$ ) qui correspond à un empilement de bicouches phospholipidiques espacées par des couches aqueuses. Par contre, si la partie hydrophobe du lipide est plus importante que la partie hydrophile, celui-ci est représenté par une forme conique avec la tête polaire au sommet du cône, et une phase dite hexagonale est préférentiellement adoptée. Les lipides en phase aqueuse hexagonale HII, sont organisés sous forme de cylindres (de symétrie hexagonale) constitués de canaux aqueux vers lesquels les têtes polaires s'orientent. On trouve dans les membranes biologiques une très grande variété de substances lipidiques. Les lipides qui entrent dans leur structure appartiennent aux trois catégories suivantes: les glycérophospholipides, les sphingolipides et les stérols. On retrouve également un certain nombre de composants moins abondants tels que des lysolipides les glycolipides et les cébrosides.

## **I.2.1 Structure et fonctions des lipides**

Les lipides sont des composés biologiques définis en fonction d'une propriété physique : la solubilité. Ils présentent en effet une solubilité nulle ou faible dans l'eau mais élevée dans les solvants organiques tels que le méthanol, le chloroforme, le cyclohexane, l'éther éthylique ou l'acétone. Formés principalement de longues chaînes composées de carbone et d'hydrogène, ils peuvent également contenir d'autres éléments comme l'oxygène, le phosphore, le soufre ou l'azote. Les lipides sont des molécules biologiques ayant des structures et des fonctions diverses, pouvant par exemple être impliqués dans la défense immunitaire (cas des eicosanoïdes), la constitution de réserves énergétiques (triglycérides et esters de stérol) ou la structuration des membranes (phospholipides et stérols).

### **I.2.1.1 Les Glycérophospholipides (ou Phospholipides)**

Les glycérophospholipides, appelés couramment phospholipides, constituent la famille de lipides la plus répandue dans les membranes biologiques, ils sont particulièrement abondants dans les membranes internes. Ils présentent à la fois une partie hydrophobe définie par de longues chaînes hydrocarbonées, et une partie hydrophile, du fait de la présence d'une tête polaire. La structure plus détaillée consiste en un squelette de base glycérol, sur lequel deux des fonctions alcool sont estérifiées par des acides gras, constituant les chaînes hydrocarbonées hydrophobes (généralement supérieures à 16 atomes de carbone), dont une est habituellement insaturée. La tête polaire est constituée d'un groupement phosphate, substituant la troisième fonction alcool du squelette glycérol. Le phosphate est suivi par un groupement alcool déterminant la classe du glycérophospholipide. Il s'agit classiquement de la choline, l'éthanolamine, la sérine, ou l'inositol. La phosphatidylcholine (PC) est le lipide membranaire standard représentant 50% des lipides cellulaires (van Meer, 2005). La formule chimique des glycérophospholipides les plus communs est indiquée sur la figure 3 A et B. Une illustration de l'orientation des phospholipides dans la membrane est indiquée dans la figure 3.B(c). Enfin le tableau 1 montre les principales chaînes d'acides gras retrouvées à l'état naturel.



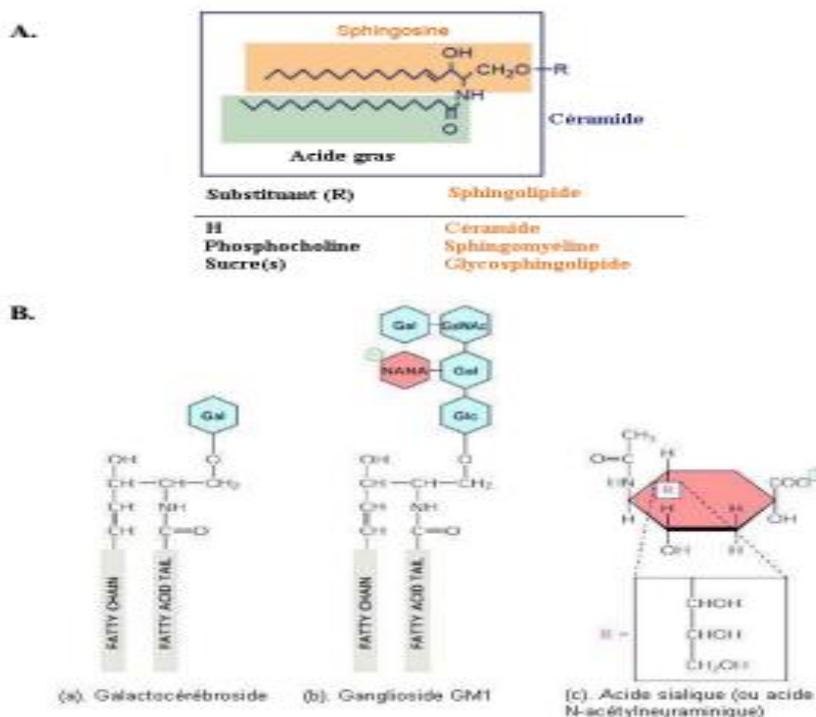
**Figure 3.** A) Formule détaillée de la phosphatidylsérine (PS), la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE), et le phosphatidylinositol (PI). B) (a) Structure et formule chimique d'un phospholipide : la phosphatidylcholine, à gauche : modèle compact, au centre : formule chimique. (b) Représentation symbolique des phospholipides. (c) Modèle de l'orientation des phospholipides dans la membrane. Données adaptées de (Purves et al., 2003)

**Tableau 1 :** Quelques uns des principaux acides gras saturés et insaturés retrouvés à l'état naturel. D'après (Nomenclature, 1978).

Symbole	Structure chimique	Nom systématique de l'acide	Nom commun de l'acide
C12 : 0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	Dodécanoïque	laurique
C14 : 0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	Tétradécanoïque	myristique
C16 : 0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Hexadécanoïque	palmitique
C18 : 0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Octadécanoïque	stéarique
C20 : 0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	Icosanoïque <sup>1</sup>	arachidique
C22 : 0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	Docosanoïque	béhénique
C24 : 0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	Tétracosanoïque	lignocérique
C18 : 1(9)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis</i> -9-octadécénoïque	oléique
C18 : 2(9,12)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>cis,cis</i> -9,12-octadécadiénoïque	linoléique
C20 : 4(5,8,11,14)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	<i>cis,cis,cis,cis</i> -5,8,11,14-icosatétraénoïque	arachidonique

### I.2.1.2 Les Sphingolipides

Les sphingolipides forment une famille de lipides caractérisée par la présence d'un squelette de base sphingosine : un amino-alcool possédant une longue chaîne hydrocarbonée insaturée (C18:1). Au niveau de la partie apolaire, un acide gras saturé (ou plus rarement insaturé) à longue chaîne (le plus souvent de 18 à 24 carbones dans les sphingolipides de mammifères) est greffé sur la fonction amine par liaison amide, formant une céramide. Le groupement polaire du lipide est greffé sur la fonction alcool primaire de la sphingosine. Les sphingolipides constituent une famille très nombreuse en raison de la diversité des groupements polaires. En fonction de ceux-ci, on distinguera les céramides, la sphingomyéline (SM) et les glycosphingolipides (figure 4). Le groupement polaire correspond à une phosphocholine ou phosphoéthanolamine dans le cas de la SM, et un mono- ou un oligosaccharide dans le cas des glycosphingolipides, dont la dénomination est alors respectivement cérébrosides ou gangliosides. Les gangliosides comprennent un ou plusieurs acides sialiques (ou acide N-acétylneuraminique) dans leur partie glucidique (exemple du GM1 ou ganglioside monosialide 1 dans la figure 4.B). La SM représente 10 à 20 % molaire des lipides membranaires, tandis que les glycosphingolipides sont présents habituellement à des niveaux faibles (Simons et van Meer, 1988).



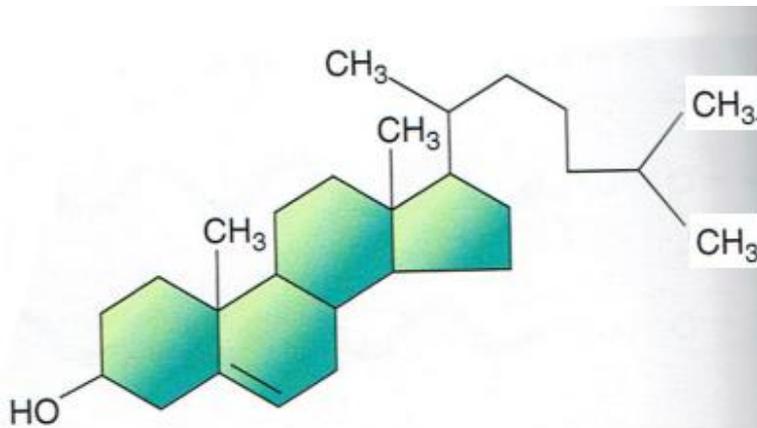
**Figure 4. Molécules de sphingolipides.** A) Les sphingolipides sont des dérivés de la sphingosine. Ils varient selon la fonction greffée au niveau de l'hydroxyle en position 1 de la sphingosine. B) Les glycosphingolipides correspondent à la substitution en position 1 de mono- ou oligosaccharides. (a) Exemple d'un cérébroside : le galactocérébroside. (b) Exemple d'un ganglioside : le GM1 (ganglioside monosialide 1). (c) Structure de l'acide sialique ou acide N-acétylneuraminique ou NANA, faisant partie du GM1. Gal = galactose;

*Glc = glucose, GalNAc = N-acétylgalactosamine. D'après Molecular Biology of the Cell, third edition.*

### I.2.1.3 Le Cholestérol

Le cholestérol et ses dérivés constituent une autre catégorie importante de lipides membranaires : les stérols. Le cholestérol est la forme la plus représentée chez les vertébrés. Cependant, il est l'unique stérol présent dans la membrane plasmique des cellules de mammifères, il est également présent chez de nombreux eucaryotes. Le cholestérol ne présente pas une distribution homogène au sein des cellules des mammifères et se retrouve extrêmement concentré au sein de la membrane plasmique (Liscum et Underwood, 1995) alors qu'il est très peu présent dans les membranes internes (Lange, 1999). La structure de base du cholestérol est un squelette hydrocarboné de quatre cycles rigides et plans, présentant un groupement hydroxyle en position 3 du premier cycle qui constitue la seule partie polaire de la molécule et lui confère un caractère amphiphile (Figure 5). Le noyau stérol se poursuit par une chaîne ramifiée à 8 carbones.

La tête polaire (l'hydroxyle) a une taille réduite par rapport au reste de la molécule, ce qui est néanmoins suffisant pour qu'il s'insère dans les membranes dans une direction perpendiculaire au plan moyen de la bicouche lipidique avec le groupe hydroxyle placé au niveau de la partie polaire des phospholipides et son corps hydrophobe plan au contact des chaînes d'acides gras (De Kruffyff, 1975; Yeagle, 1985)



**Figure 5: Structure de cholestérol (karp, 2010)**

La longueur de la chaîne du cholestérol, d'environ 17.5 Å, est plus courte que la longueur de chaîne des phospholipides qui est proche de 25 Å. La présence de cholestérol au sein de la membrane lipidique tend à la rigidifier tout en autorisant une certaine mobilité aux composants membranaires. Cette rigidification provient du fait que le cholestérol engendre un effet de condensation forte dans la membrane lipidique, faisant ainsi diminuer l'aire occupée par les molécules de lipides (Shechter, 1993). Grâce aux interactions ainsi mises en jeu avec les phospholipides avoisinants, le cholestérol modulera profondément les propriétés physiques, structurales et dynamiques des membranes qui le contiennent.

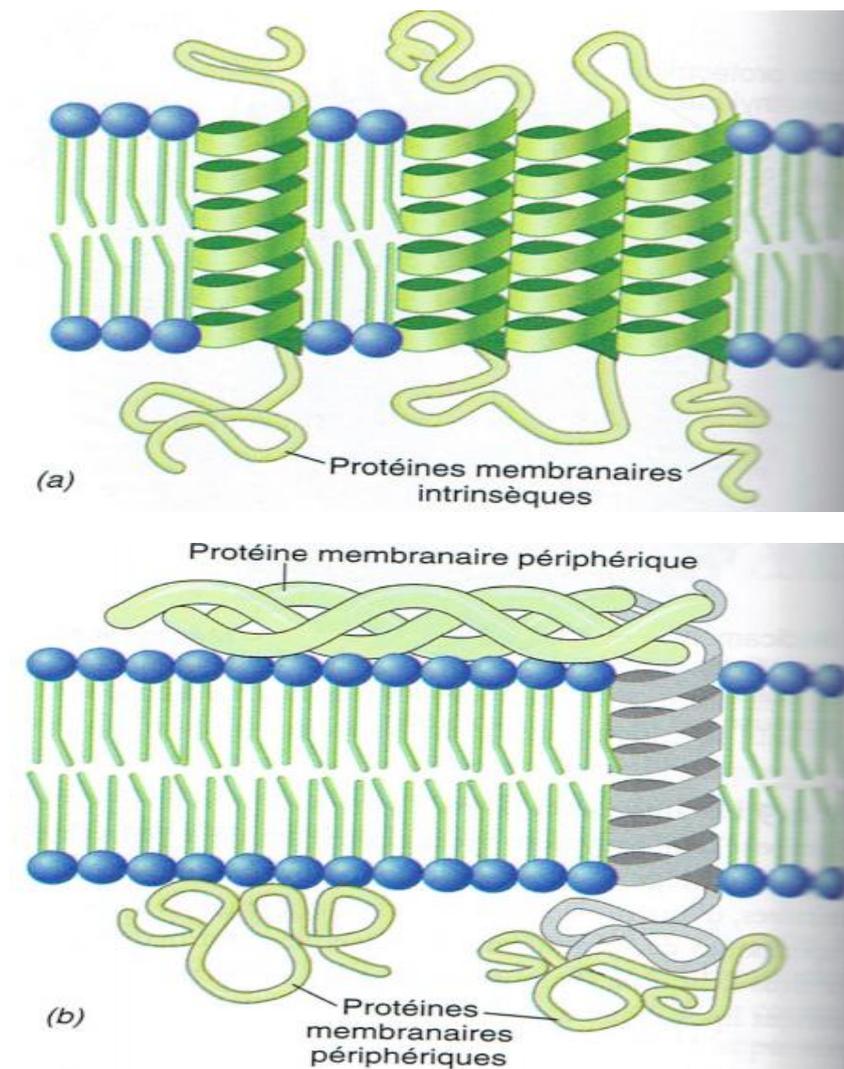
## I.2.2 Les protéines

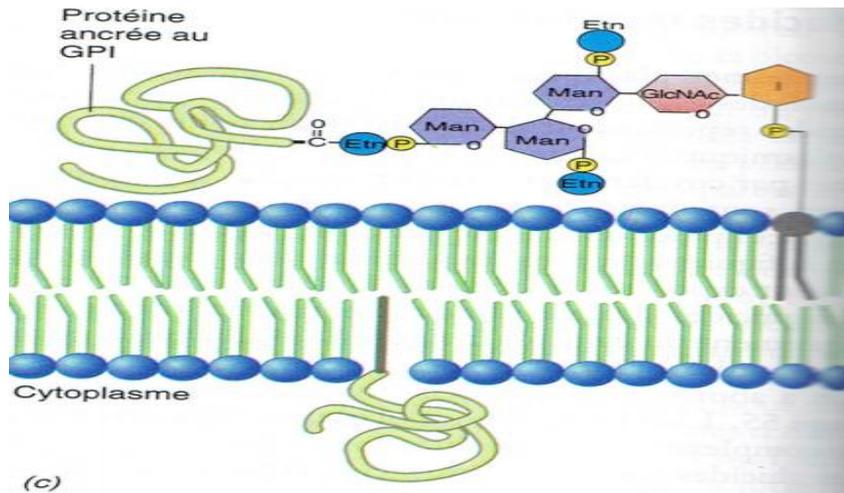
Bien que les lipides aient principalement un rôle dans la structure de la membrane plasmique, cependant ce sont les protéines qui assurent la quasi-totalité des fonctions biologiques spécifiques de la membrane (structurelles et/ou fonctionnelles). Suivant leur origine, les membranes renferment de 40 à 70 % de protéines réparties dans la bicouche lipidique. La nature des protéines exprimées à la membrane dépend essentiellement du tissu auquel appartient la cellule et la présence d'une protéine donnée en grande quantité contribue à la spécialisation de la membrane. Le rôle des protéines membranaires est très large : elles vont transmettre vers l'intérieur de la cellule des informations sur le milieu extérieur (protéines réceptrices, canaux...) ; elles vont participer à la courbure ou à la stabilité de la membrane; elles vont servir de point d'ancrage à des structures extracellulaires ou intracellulaires, tout cela contribuant à la dynamique fonctionnelle des membranes. Les protéines membranaires peuvent être classées en deux catégories sur la base de la nature de leurs interactions avec la membrane: les protéines intrinsèques (intégrales) et les protéines extrinsèques (périphériques). La plupart des membranes renferment les deux types de protéines. **Les protéines membranaires extrinsèques** ne pénètrent pas dans la membrane plasmique et peuvent être associées aux lipides de l'un des deux feuillet par des liaisons faibles (force électrostatique, liaison hydrogène). Elles sont extractibles par des solutions tamponnées acide ou basique si la force ionique est suffisamment élevée. **Les protéines membranaires intrinsèques**, présentent au moins une partie incluse dans la membrane. Elles sont insolubles dans les solvants aqueux et ne peuvent être extraites que si la membrane est suffisamment déstabilisée avec des détergents. Certaines protéines intrinsèques possèdent un ou plusieurs segments protéiques de nature hydrophobe localisés à l'intérieur de la bicouche phospholipidique. La plupart d'entre elles s'étendent sur toute l'épaisseur de la bicouche (Figure 6). **D'autres sont ancrées** à l'un ou l'autre feuillet de la bicouche par des chaînes hydrocarbonées, auxquelles elles sont reliées de façon covalente. Dans ces protéines, la chaîne polypeptidique ne pénètre pas dans la membrane. Un exemple de ce type est les protéines à ancre GPI (Figure 6(c)): ces protéines sont liées à leur extrémité C-terminale à un glycérophospholipide (ayant un PI comme tête polaire) par un enchaînement de quatre sucres, d'un phosphate et de l'éthanolamine. Les protéines membranaires peuvent être très abondantes au niveau de certaines membranes. On peut citer l'exemple de la membrane interne mitochondriale où on détecte 76% de protéines (Lodish et al., 2000). Ceci démontre l'importance de cette famille de protéines dans un grand nombre de fonctions biologiques telles que la signalisation, la bioénergétique, l'adhésion, la reconnaissance, le transport de soluté. Cependant, alors que plusieurs milliers de structures de protéines solubles ont été déterminées, seules les structures de quelques dizaines de protéines membranaires ont été résolues à l'heure actuelle. Ce manque de connaissance sur la structure des protéines membranaires s'explique par la grande difficulté à isoler et à cristalliser ce type de protéines.

### I.2.2.1 Structure des protéines

Dans les protéines, les acides aminés sont reliés entre eux par une liaison amide entre le groupe carbonyle (C=O) de l'un et le groupe aminé (N-H) du suivant. Cette liaison est appelée "liaison peptidique". Le squelette polypeptidique peut ensuite s'organiser selon

différentes structures secondaires (Figure 7): hélice  $\alpha$ , feuillet  $\beta$ , coude  $\beta$ , pelote statistique, qui influent directement sur les interactions avec la membrane (Alberts et al., 1994 ; Koolman et Röhm, 1995). Dans la structure "hélice  $\alpha$ " (Pauling et al., 1951), la chaîne peptidique est enroulée suivant une hélice droite, d'un pas de 0,54 nm, chaque tour d'hélice contenant en moyenne 3,6 résidus (Figure 7). L'hélice est stabilisée par des liaisons hydrogène intramoléculaires s'établissant entre les groupements (CO) et (NH) de résidus espacés d'un tour d'hélice. Contrairement à la conformation en hélice  $\alpha$  "droite", les hélices "gauche" ne sont que peu répandues.

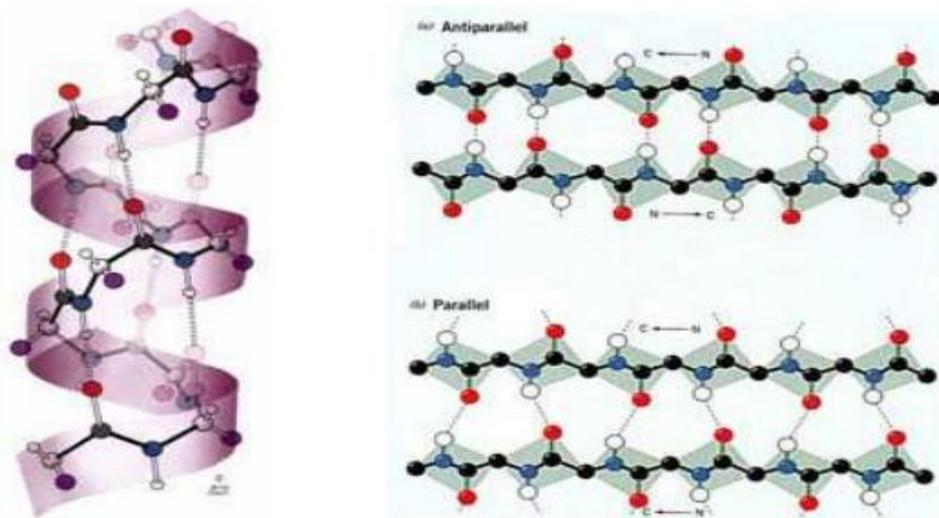




**Figure 6 : Trois classes de protéines membranaires.** a) les protéines intrinsèques possèdent habituellement une ou plusieurs hélices transmembranaires. b) Les protéines périphériques sont unies par des liaisons non covalentes aux groupements de tête polaires de la bicouche lipidique et/ou à une protéine membranaire intrinsèque. c) les protéines ancrées aux lipides sont unies par covalence à un groupement lipidique logé dans la membrane.

Dans la conformation en feuillet  $\beta$ , aussi désignée sous le terme de "feuillet plissé" (Pauling et Corey, 1951), les liaisons peptidiques sont arrangées comme sur une feuille de papier pliée en accordéon (Figure 7, à droite). Cette structure est également stabilisée par des liaisons hydrogène qui se forment entre chaînes voisines. On parle de feuillet plissé parallèle lorsque les chaînes adjacentes présentent des séquences peptidiques se parcourant dans le même sens, par exemple, de l'extrémité amine vers l'extrémité carbonyle, pour toutes les chaînes. Le terme feuillet plissé antiparallèle est utilisé, lorsque les liaisons peptidiques de chacune des chaînes se font en sens inverse: à l'extrémité amine d'une chaîne correspond alors l'extrémité carbonyle de ses voisines (Delaunay, 2000)

Les coudes représentent les changements d'orientation de la chaîne peptidique. On parlera plus spécifiquement de coude  $\beta$  lorsque 4 résidus sont impliqués pour induire une rotation de  $180^\circ$  dans la structure des polypeptides. Cette configuration est stabilisée par une liaison hydrogène entre les résidus de tête et de fin de structure.

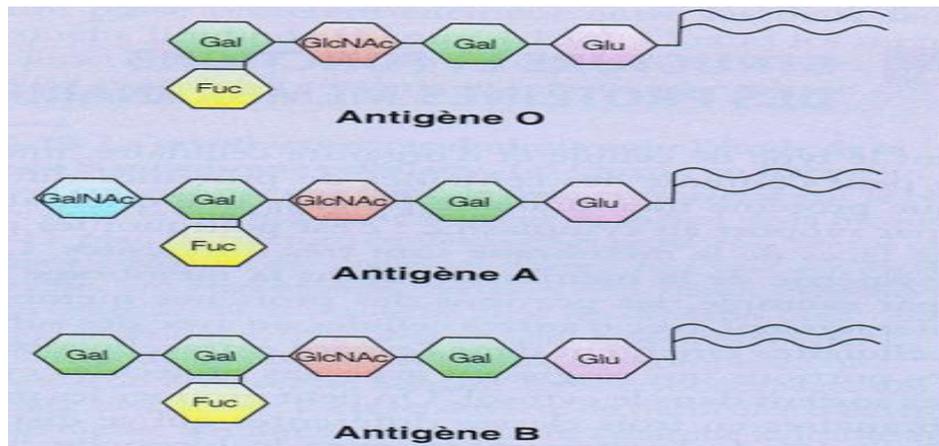


**Figure 7 : Principales structures secondaires des protéines: l'hélice- $\alpha$  (à gauche) et les feuillets- $\beta$  parallèle et antiparallèle (à droite) d'après Irving Geis.**

### I.2.3 Les glucides membranaires

Les membranes plasmiques de cellules animales contiennent aussi des glucides. Suivant l'espèce et le type de cellule, les glucides représentent de 2 à 10% du poids de la membrane plasmique. Plus de 90% des glucides sont unis à des protéines par covalence et forment ainsi des glycoprotéines ; les autres sont unis par covalence à des lipides pour donner les glycolipides. D'après Nikolson (1972), tous les glucides de la membrane plasmique sont exposés à l'extérieur, dans l'espace extracellulaire. Les glucides des membranes cellulaires internes s'écartent également du cytosol.

L'addition d'un glucide, ou glycosylation, est la plus complexe de ces modifications. Dans les glycoprotéines, les glucides sont des oligosaccharides hydrophiles avec habituellement 15 sucres environ par chaîne. Comparés aux glucides de plus haut poids moléculaires (comme le glycogène ou la cellulose), qui sont des polymères formés d'un seul sucre, les oligosaccharides attachés aux protéines et aux lipides membranaires peuvent avoir une composition et une structure très diverses. Les oligosaccharides peuvent être fixés à plusieurs acides aminés différents par deux types principaux de liaisons. Ces glucides en saillie peuvent jouer un rôle dans les interactions entre la cellule et son environnement et dans l'expédition ciblée des protéines membranaires vers les différents compartiments cellulaires. Les glucides des glycolipides des membranaires plasmiques d'érythrocytes définissent le groupe sanguin A, B, AB ou O des individus (Figure 8). Un individu du groupe A possède une enzyme qui ajoute une N-acétylgalactosamine à l'extrémité de la chaîne alors que, chez un individu du groupe B, une enzyme ajoute le galactose au bout de la chaîne. Ces deux enzymes sont codées par des formes du même gène, mais reconnaissent des substrats différents. Les individus AB ont les deux enzymes alors ceux du groupe O n'ont pas d'enzyme capable de fixer l'un ou l'autre sucre terminal (Karp, 2010).



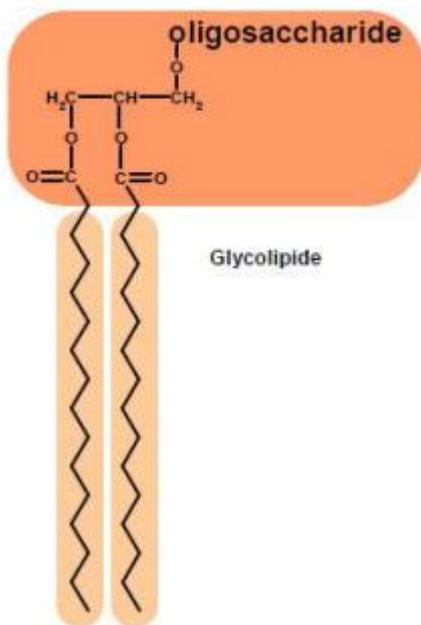
**Figure 8: Les antigènes des groupes sanguins.**

Le groupe sanguin A, B, AB ou O d'un individu est déterminé par une courte chaîne de sucres attachée par covalence aux lipides et protéines de la membrane de l'érythrocyte. Sont ici représentés les oligosaccharides attachés aux lipides membranaires (avec lesquels ils forment un ganglioside) qui sont à l'origine des groupes sanguins A, B et O (Karp, 2010).

On les trouve exclusivement dans le feuillet externe des membranes, avec leur résidu glucidique exposé à la surface des cellules. Ceux sont des constituants relativement mineurs, représentant seulement environ 2% des lipides dans la plupart des membranes plasmiques. Ils jouent par contre un rôle fondamental dans les processus de reconnaissance biologique.

### **I2.3.1 Glycolipides**

Les glycolipides (Figure 9) représentent une autre classe de composés fortement amphiphiles dérivant du glycérol, estérifié en position 1 et 2 par un acide gras et connecté, par une liaison osidique en position 3, à un oligosaccharide au lieu d'un phosphate. Les glycolipides sont toujours associés au feuillet membranaire externe et appartiennent à un ensemble nommé le glycocalyx. Le glycocalyx est la zone périphérique cellulaire riche en glucides.



**Figure 9 : Représentation schématique d'un glycolipide (Le Guyader, 2002)** *Les résidus glucidiques liés aux protéines sont souvent impliqués dans les interactions de la cellule avec son environnement. Il est donc probable que les glycolipides jouent un rôle analogue au rôle joué par les protéines.*

### I.2.3.2 Glycoprotéines

C'est seulement à partir de la moitié du vingtième siècle que les glucides ont été reconnus comme des molécules biologiques extrêmement importantes. Il a longtemps été admis que toute l'information biologique était portée par les deux grandes classes de molécules que sont les protéines et les acides nucléiques. Durant les années 1900, on s'intéressait surtout aux polysaccharides des plantes car ils étaient largement utilisés dans de nombreuses applications industrielles. Les connaissances dans la biologie des glucides étaient donc limitées aux rôles structuraux (cellulose, chitine, etc....) et à l'accumulation et au transport d'énergie (amidon, glucose). La prise de conscience que les glycannes, libres ou sous la forme de glycoconjugués, pouvaient jouer des rôles extrêmement divers et de première importance fut la motivation principale qui a donné naissance à la Glycobiologie moderne.

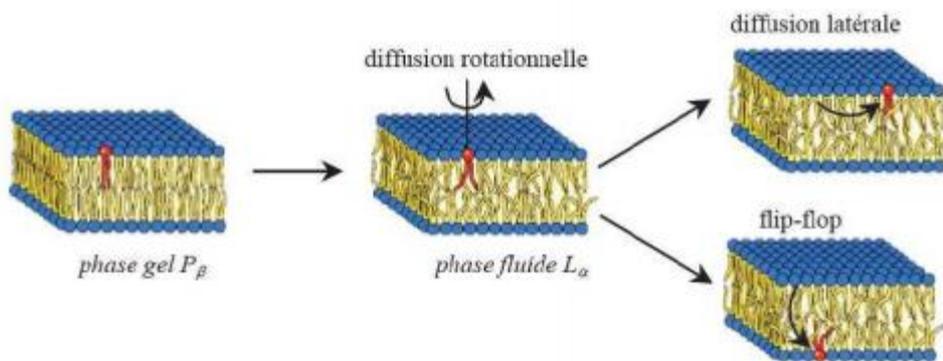
Il a été observé que la défucosilation des lymphocytes empêche leur migration dans les tissus. En 1968, Ashwell et Morell identifièrent la première lectine animale, une protéine impliquée dans la clairance des glycoprotéines circulant dans le sang (Ashwell et Morell, 1974). Cette découverte fût à l'origine des nombreuses recherches qui ont depuis été consacrées au rôle joué par les glucides dans les processus de communication et de reconnaissance moléculaire (Cioci, 2006).

### **I.1.3 Dynamique des lipides dans les membranes et fluidité**

#### **I.1.3.1 Le modèle de «mosaïque fluide»**

Le modèle de «mosaïque fluide» a été proposé par Singer et Nicolson en 1972 pour décrire l'assemblage et la dynamique des lipides dans membrane (Lee, 2004). Ce modèle envisage la membrane lipidique comme un fluide bidimensionnel homogène dans lequel baignent des protéines mobiles et repose sur la dynamique de la membrane. Les lipides sont perpétuellement en mouvement : ils peuvent se déplacer par diffusion latérale dans le feuillet dont ils font partie par mouvement brownien (Lipowsky et Sackmann, 1995), par rotation libre autour de leur axe, et oscillation sur leur axe «wobble». Dans ces mouvements, les chaînes d'acides gras demeurent dans l'intérieur hydrophobe des membranes. Beaucoup plus rarement, les lipides se déplacent par diffusion transversale en changeant de feuillet (flip-flop) (Figure 10); c'est un processus extrêmement défavorable énergétiquement au sein des bicouches pures de phospholipides car les têtes polaires des lipides doivent dans ce cas passer à travers l'intérieur de la zone hydrophobe de la membrane constituée par les queues des autres molécules de lipide. Le temps associé à ce processus est généralement admis comme étant de l'ordre de l'heure voire du jour suivant la nature du phospholipide (les phospholipides ayant au moins une chaîne insaturée ont un temps de flip-flop plus rapide) (Zachowski, 1993). Dans les membranes biologiques, le passage d'un feuillet à l'autre a effectivement lieu et est en général associé à des protéines membranaires telles que les flipases qui sont capables d'accélérer fortement ce mouvement (Devaux, 1991; Lodish et al., 2000). L'amplitude de ces mouvements dépend à la fois de la température et de la concentration lipidique elle-même. La fluidité est facilitée par une augmentation de la température et par la présence d'insaturation dans les queues hydrophobes des phospholipides; elle est ralentie par la présence de chaînes saturées ainsi qu'une forte proportion de cholestérol. En effet la présence d'insaturation induit un encombrement stérique plus volumineux de la chaîne carbonée. Cette géométrie engendre un désordre plus important dans l'agencement des lipides dans la bicouche, ce qui se traduit finalement par une plus grande fluidité de celle-ci. Les mouvements dans le plan de la membrane concernent les protéines et les lipides. Ils sont rendus possibles par l'agitation moléculaire, et, surtout, par le fait que les interactions entre molécules de la membrane sont des interactions faibles. Tous les facteurs modifiant les interactions faibles entre constituants de la membrane pourront influencer sa fluidité.

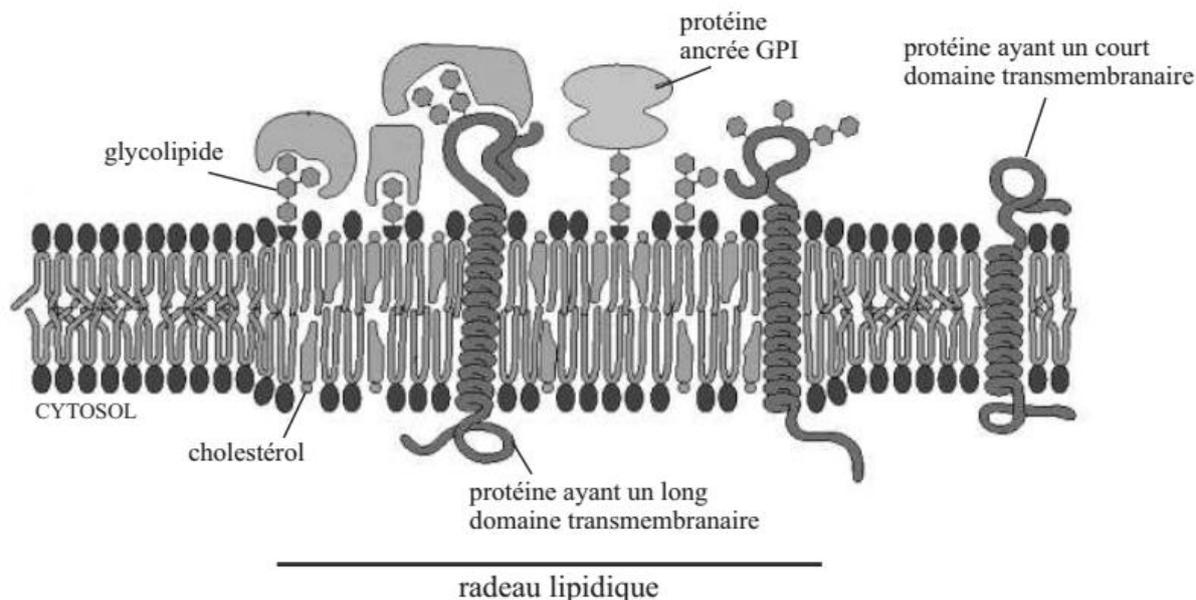
La mobilité des phospholipides est donc un facteur important qui conditionne de nombreuses fonctions biologiques.



**Figure 10 : Représentation schématique de la cinétique des lipides au sein des membranes.** Les lipides dans la bicouche lipidique sont animés de mouvements : la diffusion latérale, rotationnelle et l'échange transversal (ou «flip-flop»). Adapté de Lipowsky et Sackmann (1995).

### I.3.2 Les radeaux lipidiques

A l'inverse du modèle considérant les membranes plasmiques comme une « mosaïque fluide », de nombreuses études réalisées ces dernières années ont amené les biologistes à introduire l'idée d'existence d'hétérogénéités latérales, de microdomaines lipidiques dans le modèle de structure et de dynamique de la membrane lipidique (Glaser, 1993 ; Vaz et Almeida, 1993). Ces études ont conduit à cette nouvelle vision actuellement admise de la structure des membranes cellulaires. Ils ont introduit ce qu'on appelle radeaux lipidiques ou «rafts» (Simons et Ikonen,1997; Pike, 2004). Ces assemblages latéraux sont des « domaines » enrichis en glycosphingolipides, cholestérol et sphingomyéline (Hooper, 1999) et d'autres protéines de signal telles que la tyrosine-kinase et les protéines à ancras GPI (Figure 11) (Alberts, 2002). Ils forment une phase dense de plusieurs dizaines de nanomètres de diamètre flottant dans la membrane plutôt fluide (Varma et Mayor, 1998). Ils sont résistants à l'attaque de détergents non ioniques tels le Triton X-100 et les lipides à l'intérieur des radeaux sont supposés exister dans la phase liquide ordonnée L0 intermédiaire entre les phases fluides et solides (gel). Comme dans la phase gel L $\alpha$ , la compacité et l'alignement des molécules sont grands, mais les molécules ont une mobilité latérale importante comme dans la phase fluide (Ahmed et al., 1997; Almeida et al., 1992). Selon cette hypothèse, ces radeaux membranaires sont impliqués dans de nombreux processus cellulaires, allant du trafic membranaire et morphogénèse cellulaire à la transduction de signaux. La grande variété de lipides et de protéines au sein d'une même cellule en a fait un système complexe fortement inhomogène. Les membranes sont ainsi caractérisées par des hétérogénéités de distribution et d'état de phase.



**Figure 11 : Modèle de radeau lipidique selon Simons et Ikonen (d'après Alberts, 2002).**  
*Dans ce modèle, les chaînes carbonées des sphingolipides sont majoritairement saturées et occupent moins d'espace latéral que leurs têtes hydrophiles ; les interstices sont comblés par des molécules de cholestérol. Ces agrégats serrés de sphingolipides et cholestérol forment des plateformes mobiles au sein de phases plus fluides composées de phospholipides insaturés.*

D'autre part, les preuves s'accumulent à propos de l'association préférentielle du cholestérol et de la sphingomyéline au niveau de la membrane plasmique, comme cela a été démontré en milieu modèle (Rietveld et Simons, 1998). De plus, Scheek et al. (1997) ont rapporté un fort couplage de ces deux lipides dans des cellules CHO en « déplétant » les membranes plasmiques en sphingomyéline grâce à une enzyme spécifique : la sphingomyélinase. Ils ont alors mis en évidence une inhibition du clivage de SREPB-2, une protéine liée à la membrane du REG impliquée dans la régulation de la biosynthèse et de l'endocytose du cholestérol (Scheek et al., 1997). D'autre part, le traitement de fibroblastes humains par la sphingomyélinase cause une diminution de plus de 15 % de la quantité de cholestérol présent dans la membrane plasmique (Porn et Slotte 1995). Les données collectées grâce à toutes ces techniques ces dix dernières années laissent à penser qu'il existe vraisemblablement des domaines membranaires de tailles nanométriques enrichis en protéines à ancre GPI, gangliosides saturés, sphingomyéline, cholestérol et en RCPGs (Sharma et al., 2004). La convergence de ces résultats avec d'une part les études biochimiques sur les DRMs et d'autre part les propriétés physico-chimiques très particulières des milieux modèles contenant des mélanges cholestérol/sphingomyéline et cholestérol/phospholipides saturés (Silvius, 2003) a abouti au concept de microdomaines membranaires fonctionnels appelés « rafts ». Durant la dernière décade, on recense plus de 2200 publications scientifiques contenant le terme « raft » dans leur titre ou leur résumé (source : [www.pubmed.gov](http://www.pubmed.gov)), montrant l'intérêt que suscite l'idée de l'existence de nanodomaines fonctionnels membranaires. Cette quantité et diversité de résultats ont abouti à un consensus sur les caractéristiques principales des domaines rafts de la membrane plasmique: les rafts correspondraient à des domaines de 10 à 200 nm de diamètre, hétérogènes, hautement

dynamiques, enrichis en cholestérol et en sphingomyéline qui compartimenteraient la membrane (Pike, 2006). Les rafts correspondraient aussi à des membranes en phase  $l_0$ , plus épaisses que les zones membranaires nonrafts (Gandhavadi et al., 2002). Les cavéoles, qui sont également enrichies en cholestérol et en Cavéoline et qui peuvent se retrouver dans les fractions DRMs/rafts, sont considérées comme un sousensemble membranaire des rafts (Hooper, 1999). Étant donné de la composition lipidique particulière des rafts, on peut se demander si les détergent ne ségrégent pas uniquement les lipides du feuillet externe de la membrane plasmique dans les DRMs (Pike, 2004). Ce feuillet serait alors essentiellement de type raft (Munro 2003; Swamy et al., 2006). Cependant des expériences menées sur des lymphocytes T ont mis en évidence un couplage entre des constituants « raft » du feuillet interne et d'autres du feuillet externe (Gri et al., 2004). Au niveau fonctionnel, il semblerait que certains récepteurs de type RCPG aient besoin d'un environnement lipidique de type raft pour réaliser leur fonction biologique, alors que d'autres suivraient le chemin inverse (Simons et Toomre, 2000; Pike, 2003). Ainsi les rafts agiraient comme des plateformes de signalisation, permettant le recrutement des partenaires de part et d'autre de la membrane.

### **I.3.3 Principe de formation des radeaux lipidiques**

Le principe longtemps admis gouvernant la formation des radeaux lipidiques reposait essentiellement sur des interactions lipides-lipides. Ce fondement s'il reste d'actualité, n'est plus le seul admis aujourd'hui pour expliquer la formation des radeaux biologiques. Les interactions lipides-lipides sont largement dépendantes des différences de propriétés physico-chimiques et de la structure des lipides membranaires. Considérons tout d'abord les propriétés physico-chimiques. Chez les sphingolipides, les fonctions amide et hydroxyle du squelette sphingosine peuvent agir à la fois comme donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène. Les glycérophospholipides en revanche, avec deux groupes carbonyle dans cette région, ne possèdent que des caractéristiques d'accepteurs de liaisons hydrogène. Ces différences offrent la capacité aux seuls sphingolipides de créer à la fois des liaisons intramoléculaires et intermoléculaires (Ramstedt et Slotte, 2002). Des études de RMN (Résonance magnétique nucléaire) ont ainsi révélé que les SMs étaient capables de former des liaisons hydrogène intramoléculaires relativement fortes entre l'hydroxyle de la sphingosine et l'oxygène de l'ester phosphate de la tête polaire, pour des états à la fois monomériques et agrégés (Talbot et al., 2000). Par ailleurs, un autre avantage que possèdent les sphingolipides est leur capacité à établir également des liaisons hydrogène entre les carbohydrates des têtes polaires. Finalement, comme les phospholipides ils possèdent aussi la capacité de créer des interactions de van der Waals (Ramstedt et Slotte, 2002). Tout ceci résulte en des forces d'interactions plus importantes entre les chaînes de sphingolipides qu'entre celles des glycérophospholipides et donne lieu à une cohésion latérale et une tendance à se regrouper plus grandes pour les sphingolipides.

Si l'on se place du point de vue de la structure des lipides, la seconde raison de la ségrégation des sphingolipides dans les membranes est la différence en longueur et en saturation des chaînes acyles des lipides. La longueur de l'acide gras greffé sur la fonction amide se situe entre 16 et 24 atomes de carbone pour la SM (Barenholz, 1984), alors que les chaînes acyles des glycérophospholipides sont généralement plus courtes (16 à 20 atomes de

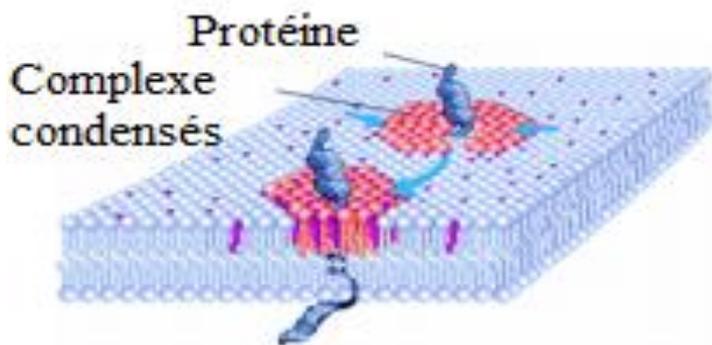
carbone pour la PC). Les différences en saturation sont encore plus drastiques. En moyenne les SMs contiennent 0.1-0.35 double liaison *cis*-insaturée par opposition à la PC qui présente 1.1-1.5 double liaison *cis*-insaturée par molécule. Cette double liaison donne naissance à une structure coudée dans la chaîne acyle (Ramstedt et Slotte, 2002). La position et le nombre de telles doubles liaisons affectent grandement les interactions avec les autres composants membranaires, comme les stérols ou les protéines. Lorsque rarement une double liaison se présente dans la structure des SMs naturelles, elle est généralement éloignée de la région à l'interface (exemple de l'acide nervonique 24:1 *cis*Δ15), et n'a pas d'incidence majeure sur les interactions avec les lipides avoisinants. Ainsi la longueur et la saturation des sphingolipides les conduisent à se regrouper préférentiellement.

La formation des radeaux lipidiques fait intervenir un autre composant membranaire important : le Chol. Les interactions avec le Chol sont dictées en grande partie par la capacité des chaînes acyles des lipides à s'apparier avec le squelette rigide cyclique du Chol. Elles sont très sensibles à la longueur et au degré d'insaturation des chaînes acyles des lipides. De ce fait les interactions avec les sphingolipides à longues chaînes saturées sont favorisées au détriment des phospholipides à chaînes insaturées plus courtes (Smaby et al., 1996). De plus des liaisons hydrogène peuvent se mettre en place entre le groupe hydroxyle du Chol et la céramide des sphingolipides (Ramstedt et Slotte, 2002). L'ensemble de ces interactions conduit à une préférence d'association moléculaire du Chol pour les sphingolipides. Cette étroite association participe à la ségrégation des glycosphingolipides et du Chol en domaines lipidiques.

Du point de vue de l'emplacement du Chol dans la bicouche lipidique, il est postulé que le Chol vient remplir l'espace libre qui tend à se former au-dessous des têtes polaires et entre les chaînes hydrocarbonées saturées des sphingolipides, dans une direction perpendiculaire à la bicouche (Yeagle, 1985). Son effet est d'augmenter le degré d'ordre des chaînes acyles et de diminuer l'aire par molécule. De cette façon, il contribue à rigidifier les chaînes acyles flexibles tout en ne perturbant pas la diffusion latérale des composants membranaires. Finalement grâce à cet ensemble d'interactions, les radeaux lipidiques présentent une structure particulière avec une rigidité et une densité moléculaire importante par rapport au reste de la membrane. Il faut noter toutefois que des phospholipides peuvent éventuellement participer à la formation de tels domaines s'ils possèdent des chaînes hydrocarbonées saturées.

Le principe de formation des radeaux basé sur les interactions lipides-lipides supposait que les protéines s'associant aux radeaux s'inséraient dans un environnement lipidique particulier préexistant. Ce modèle a quelque peu évolué pour tenir compte des interactions lipides-protéines et protéines-protéines dans la formation des radeaux membranaires (Anderson et Jacobson, 2002). Les protéines adressées aux microdomaines membranaires s'associeraient avec un petit nombre de lipides spécifiques formant alors une couche de lipides autour des domaines de la protéine ancrée dans la membrane, appelée « lipid shell » (Figure 12). Ces protéines entourées d'une « carapace de lipides » pourraient ensuite se regrouper et former de cette façon des domaines de plus grande taille qui correspondraient à des radeaux. Des protéines de faible affinité pour les radeaux pourraient également, par des

interactions protéines-protéines, être sélectionnées dans ces domaines (Helms et Zurzolo, 2004).



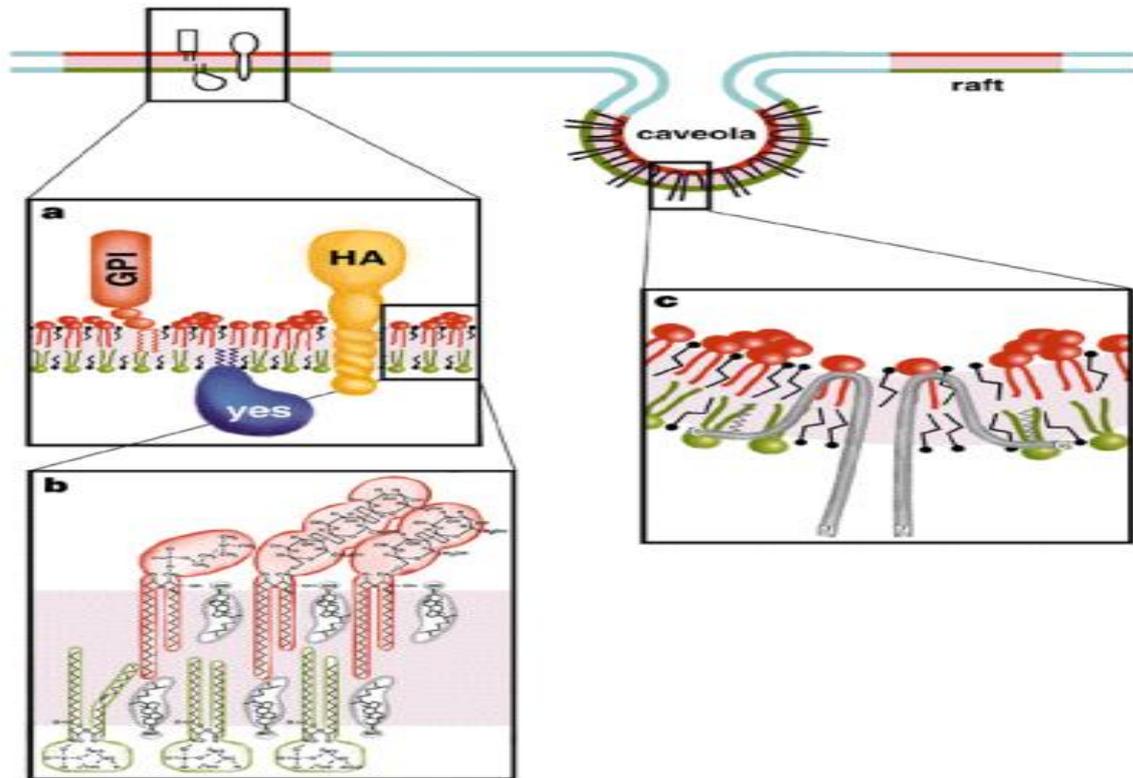
**Figure 12 : Mécanisme de formation du “lipid shell”.** Le Chol (en violet) et les sphingolipides (en rouge) s’auto-assemblent pour former des complexes enrichis en Chol. Le modèle propose que chaque protéine interagisse de façon dynamique avec au moins deux complexes (flèches bleues), devenant ainsi entourée d’une « carapace de lipides ». D’après (Anderson et Jacobson, 2002).

L’existence de radeaux lipidiques au sein des membranes intracellulaires est actuellement discutée (Pike, 2006). S’il paraît clair que les membranes « affiliées » à la membrane plasmique (membrane du compartiment trans-golgien, membrane endosomale) sont susceptibles de renfermer des domaines lipidiques, la question peut se poser pour les membranes d’autres compartiments (mitochondries, réticulum endoplasmique...) compte tenu des proportions faibles des lipides entrant dans la composition des radeaux. Cependant, si nous considérons la capacité des céramides à s’associer et à stabiliser les radeaux membranaires (Wang et Silvius, 2003), il est permis de penser que des domaines puissent exister aussi au niveau du réticulum endoplasmique où les céramides sont synthétisés. De plus d’après Pike (2006), il est très vraisemblable que des domaines « raft-like » soient présents au niveau des mitochondries et du réticulum endoplasmique. Ceci suggérerait que la membrane plasmique ne possède pas le monopole des domaines membranaires.

#### **I.3.4 Protéines associées aux radeaux lipidiques**

Bien qu’une grande fraction des protéines membranaires soit retrouvée dans la phase fluide environnant les radeaux, de nombreuses protéines se répartissent préférentiellement dans les domaines radeaux lipidiques. Les premières protéines dont la localisation a été assignée aux radeaux ont été les protéines à ancre GPI, déjà citées, et le déterminant responsable de leur répartition a été désigné comme étant la partie glycolipidique par laquelle elles sont reliées au feuillet exoplasmique (Brown et Rose, 1992; Chatterjee et Mayor, 2001). Des exemples typiques d’autres protéines localisées dans les radeaux sont les protéines palmitoylées et myristoylées comme les flotillines (Rajendran et al., 2003), les protéines kinases de la famille Src (par exemple Yes, Lyn, Fyn), doublement acylées et ancrées dans le feuillet cytoplasmique (Simons et Toomre, 2000), ou encore les protéines liant le Chol telles que les cavéolines (la cavéoline-1 en particulier). Celles-ci sont les protéines structurales

majeures à l'origine de la formation des cavéoles (Figure 13). Les cavéoles sont définies comme des invaginations de la membrane plasmique de taille comprise entre 25 et 150 nm (Thorn et al., 2003), présentes dans un grand nombre de cellules. Elles ont été identifiées dans les années 50 dans des cellules endothéliales sur la base de leur morphologie (Palade, 1953; Yamada, 1955) et sont impliquées notamment dans les mécanismes d'endocytose et transcytose. La cavéoline-1 se lie fortement au Chol. Cette propriété, ainsi que la palmitoylation multiple au niveau de la région carboxy-terminale, est mise en avant pour expliquer la localisation des cavéoles au niveau des radeaux lipidiques (Kurzchalia et Parton, 1999). Les cavéoles constituent les domaines « rafts-like » d'origine, et restent à ce jour le seul type de radeaux morphologiquement identifiable. A l'origine, les cavéoles ont été isolées grâce à l'extraction des cellules par un détergent non ionique : le Triton X-100. Une variété de protéines (cavéoline, protéines à ancre GPI, protéines impliquées dans la transduction des signaux) a été retrouvée associée à ces structures isolées après l'action du détergent. L'identification de protéines de signal dans ces préparations a conduit à l'hypothèse selon laquelle ces domaines étaient intimement liés au processus de transduction de signal (Simons et Toomre, 2000; Smart et al., 1999). En utilisant une méthode pour la préparation des cavéoles, Schnitzer et collaborateurs (1995) ont montré que ces dernières pouvaient être séparées des structures isolées par les détergents et contenant les protéines à ancre GPI. Ceci a permis d'établir que les structures obtenues après action du détergent comprenaient en fait au moins deux types de domaines : ceux contenant la cavéoline (les cavéoles); et ceux n'en contenant pas, nommés radeaux lipidiques. Les cavéoles représentent finalement une sous-classe de radeaux lipidiques. Des motifs au niveau des protéines peuvent être nécessaires à l'association de protéines avec les radeaux. Ainsi, l'association de la protéine hémagglutinine (HA) du virus de la grippe aux radeaux semble une propriété intrinsèque de son domaine transmembranaire (Figure 13). Le remplacement de celui-ci ou la modification d'acides aminés le composant par mutation entraîne la perte de cette propriété (Scheiffele et al., 1997). Enfin, la taille du domaine transmembranaire pourrait également influencer la répartition des protéines dans les domaines membranaires de type radeaux ou « nonradeaux ». La bicouche lipidique au niveau des radeaux est en effet plus épaisse. Cette caractéristique est due à l'enrichissement en SM et plus généralement en sphingolipides dont les chaînes grasses sont majoritairement longues et saturées. L'association de protéines avec des microdomaines membranaires pourrait donc être favorisée par un domaine transmembranaire plus long (Munro, 1995).

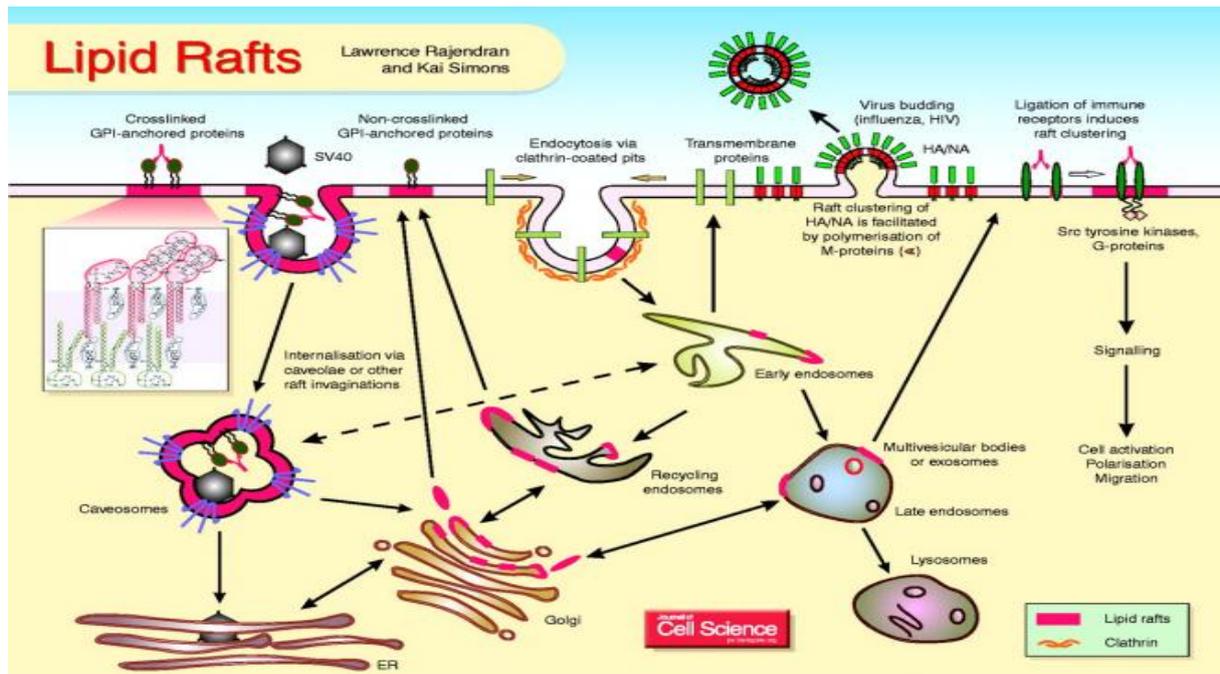


**Figure 13 : Modèle d'organisation des radeaux lipidiques et cavéoles dans la membrane plasmique.**

Les radeaux (en rouge) ségrègent à partir des autres régions (en bleu) de la bicouche. (a) Des protéines sont localisées dans les radeaux. Elles y sont rattachées grâce à des ancres GPI, des chaînes acylées (exemple ici de la protéine Yes de la famille des kinases Src), ou grâce à un domaine transmembranaire spécifique (protéine hémagglutinine HA du virus de la grippe). (b) La bicouche lipidique au niveau des radeaux est asymétrique avec un enrichissement en SM et glycosphingolipides (en rouge) dans le feuillet exoplasmique, et un enrichissement en glycérophospholipides (en vert) dans le feuillet cytoplasmique. Le Chol (en gris) est présent dans les deux feuillets. (c) Les cavéoles sont formées par l'autoassemblage des molécules de cavéoline. La localisation des cavéoles au niveau des radeaux lipidiques est le résultat d'interactions avec le Chol, et l'acylation des cavéolines en C-terminal. D'après (Simons et Ikonen, 1997).

### **I.3.5 Importance biologique des radeaux membranaires**

Les radeaux membranaires ont été décrits comme étant impliqués dans une grande variété de processus cellulaires, tels que le trafic membranaire, la transduction des signaux. Ils interviennent également dans l'infection par certains pathogènes ainsi que dans les mécanismes conduisant à certaines maladies neurodégénératives. Des exemples illustrant le rôle important des radeaux membranaires dans ces processus biologiques sont exposés ci dessous et résumés dans la figure 14.



**Figure 14 : Schéma général montrant les différents niveaux possibles d'implication des radeaux lipidiques dans les mécanismes cellulaires.**

Ils interviennent notamment dans les processus d'internalisation par endocytose, dépendante ou non des cavéoles; dans les mécanismes d'adressage dans les cellules polarisées; dans les phénomènes de transduction du signal au niveau des récepteurs immunologiques; dans les étapes de l'infection par des pathogènes. D'après (Rajendran et Simons, 2005).

#### **I.4 Les membranes modèles**

Les modèles membranaires sont généralement constitués d'un nombre restreint de lipides (le plus souvent un ou deux), auxquels des composants membranaires (protéines, peptides...) ou autres composants (toxines, antibiotiques...) sont ajoutés si nécessaire. Ces modèles ont pour objectifs d'être à la fois suffisamment simples pour pouvoir être étudiés à l'aide des différentes techniques physicochimiques et suffisamment représentatifs pour expliquer au mieux les mécanismes membranaires naturels.

Les micelles et les micelles mixtes sont des modèles que l'on retrouve souvent dans l'étude des protéines membranaires. Cependant, ces objets isotropes ne sont pas constitués de bicouches lipidiques et ne sont donc pas vraiment représentatifs des membranes biologiques (Sanders et Oxenoid, 2000; Fernández et al., 2001; Lau et al., 2008). Les vésicules multilamellaires (MLVs) ou unilamellaires (SUVs, LUVs ou GUVs) sont les modèles les plus couramment utilisés de part leur facilité de préparation. De plus, ces objets sont préparés à base de phospholipides formant une ou plusieurs bicouches, structure à la base des membranes biologiques (Sanders et Oxenoid, 2000; Léonard et al., 2001; Villar et al., 2001;

Aussenac et al., 2003). Par conséquent, ces vésicules constituent un bon modèle pour les membranes biologiques. A partir de ces MLV, il est possible de former par extrusion ou par sonication, des vésicules unilamellaires (plus proches des membranes naturelles) de tailles variables allant de quelques dizaines de nm pour des SUVs (« Small Unilamellar Vesicles ») à quelques microns pour GUVs (« Giant Unilamellar Vesicles »), en passant par les LUVs (« Large Unilamellar Vesicles ») qui ont un diamètre de quelques centaines de nm. Nous pouvons également citer les bicelles qui sont des objets discoïdaux constitués d'une bicouche de phospholipides planes et qui ont la faculté de s'orienter spontanément dans un champ magnétique (Sanders et Oxenoid, 2000; Lau et al., 2008; Park et al., 2008; Diller et al., 2009). Ces systèmes s'avèrent très intéressants dans l'étude structurale des protéines membranaires. Récemment, des préparations à base d'extraits naturels de membranes ont été développées afin de se rapprocher le plus possible du contexte physiologique. Cependant, ces modèles sont aussi les plus complexes à analyser (Etzkorn et al., 2007).

## **Chapitre 2 : Principe de la thermodynamique**

### **II.1 La thermodynamique**

Membranes hors d'équilibre :

Les cellules biologiques sont le siège de nombreuses réactions chimiques irréversibles nécessitant ou produisant de l'énergie et qui ont pour effet de mettre les cellules hors équilibre. En particulier, une grande majorité de ces phénomènes hors équilibre est localisée au niveau des membranes biologiques qui sont impliquées dans le transport membranaire actif et passif, la motilité cellulaire, les processus d'endocytose et d'exocytose. Une description plus complète et plus réaliste des membranes, c'est-à-dire plus proches des situations rencontrées dans le vivant, doit donc inclure ces aspects hors-équilibre. Et pourtant, cela ne fait que depuis quelques années que cet aspect a été pris en compte notamment grâce aux travaux sur les membranes actives (Prost and Bruinsma, 1996, Prost et al., 1998, Ramaswamy et al., 2000) et aux processus actifs de fusion-fission rencontrés dans le trafic intracellulaire (Ramaswamy et Rao, 2001). La physique d'un système hors équilibre se traite différemment de celle d'un système à l'équilibre. En effet, alors que nous disposons, pour décrire les systèmes à l'équilibre, d'une approche systématique et unifiée basée sur le formalisme des distributions de Boltzmann-Gibbs, les méthodes utilisées pour rendre compte à l'échelle microscopique de la dynamique des processus hors-équilibre sont assez variées. Cependant, à l'échelle macroscopique, il existe quelques grandes idées directrices qui aident à analyser ces processus et qui les rattachent à la physique microscopique sous-jacente. C'est dans la perspective de considérer les effets hors équilibre des membranes que nous nous sommes intéressés à deux problèmes, différents par les processus qu'ils mettent en jeu : les membranes avec des centres de forces actives (par exemple, des pompes ou des canaux ioniques), et le cas du trafic membranaire avec des membranes qui échangent du matériel biologique (par exemple des phospholipides, des enzymes, ou des protéines) avec le milieu environnant. La présence de centres actifs dans les membranes a déjà été considérée dans des travaux antérieurs (Manneville, 1999). En ce qui concerne les échanges, ils viennent récemment d'être pris en compte dans les modèles de membranes mais de manière phénoménologique et dans le cas où ils sont induits par des processus actifs (Rao et Sarasij, 2001).

### **II.2 Propriétés mécanistiques**

#### **II.2.1 Mécanique quantique**

L'entropie quantique est bien entendu postérieure au développement de la mécanique quantique dans les années 1920 et elle est due à John von Neumann (1955). Son

argumentation comporte deux étapes et s'appuie sur une expérience de pensée semblable, de l'avis de son auteur, au « démon de Maxwell », où un système est composé d'une enceinte contenant les molécules d'un gaz parfait et des membranes semi-perméables permettant d'effectuer des tests quantiques, soit de séparer les molécules selon leur état quantique. L'argumentation de von Neumann est particulière en ceci qu'elle fait intervenir autant la mécanique quantique que la thermodynamique au sein de la même expérience de pensée. Comme aucune de ces théories n'est déductible l'une de l'autre, il ne peut offrir une déduction formelle. Il s'appuie plutôt sur une expérience de pensée soutenant elle-même une hypothèse. Cette hypothèse est alors appliquée dans un argument arithmétique où une certaine quantité, soumise au formalisme quantique, se comporte de manière analogue à l'entropie thermodynamique lors d'un processus illustré par cette expérience de pensée. L'argumentation présuppose la validité des deux principes fondamentaux de la « thermodynamique phénoménologique », soit l'« impossibilité du mouvement perpétuel de premier et second type » (von Neumann, 1955). Dans la première étape de l'argumentation, il soutient que les mesures quantiques augmentent l'entropie thermodynamique du système mesuré. Selon l'intuition fournie par la thermodynamique, cela peut signifier que le système mesuré reçoit une quantité de chaleur, peut-être en raison d'un investissement d'une quantité de travail dans l'appareil de mesure. Dans la seconde étape, il cherche un équivalent mécanique quantique qui se comporte comme l'entropie. Dans une étape du processus cyclique décrit par l'expérience de pensée, le gaz est comprimé isothermiquement, ce qui demande, d'après un calcul standard de la thermodynamique appliqué à un gaz parfait, une quantité de travail égale à  $NkT \ln 2$ , compensée par une quantité de chaleur équivalente, et donc l'entropie du gaz diminuerait de  $(NkT \ln 2)/T = Nk \ln 2$ . Comme cette diminution d'entropie doit être compensée, von Neumann en conclut que l'entropie doit avoir augmenté quelque part. Il fait alors intervenir son hypothèse et soutient que l'augmentation se produit lors de la mesure dans l'une des étapes du cycle. Enfin, von Neumann identifie une quantité présentant le comportement recherché et il avance qu'il s'agit du « corrélat mécanique-quantique de l'entropie thermodynamique ».

Historiquement, mais aussi conceptuellement, la récupération du concept d'entropie en biologie se présente sous deux aspects : (i) selon une approche substantielle, en ce sens que l'entropie thermodynamique est simplement appliquée à une classe de phénomènes particuliers, les êtres vivants, considérés comme des systèmes thermodynamiques (généralement) ouverts ; et (ii) selon une approche analogique, où une fonction d'un espace des phases (généralement) génotypique trouve des similitudes avec l'entropie statistique et

s'insère conséquemment dans le formalisme de la mécanique statistique. La relation entre la mécanique statistique et la biologie de l'évolution a une longue histoire (Provine, 1971; Morrison, 1997 et 2007; Jodoin, 2014). L'utilisation des méthodes statistiques dans la caractérisation du comportement des grands ensembles idéalisés constitue la base de l'analogie entre les deux disciplines. Par exemple, l'un des objectifs de Ronald A. Fisher (1890-1962) était de combler les lacunes explicatives du modèle mendélien qui pouvait prédire la descendance d'un individu mais pas d'une population. Il a ainsi été le premier à fournir une véritable description des opérations de la sélection comme « un processus de remplacement des gènes dans une population mendélienne » (Morrison, 2007). L'énoncé de ce que Fisher (1930) appelle le théorème fondamental de la sélection naturelle (TFSN) est le suivant : « le taux d'accroissement de la fitness de tout organisme à n'importe quel moment est égal à sa variance génétique en fitness à ce moment-là ». Formellement,  $dM/dt = W$ , où  $M$  est la fitness moyenne de la population et  $W$  est ce que Fisher appelle la « variance génétique en fitness » (« genetic variance in fitness »). Puisque la variance  $W$  est une quantité non négative, il s'ensuit que la fitness populationnelle moyenne  $M$  est une quantité non décroissante. Selon Fisher, le TFSN suggère ainsi que les changements évolutifs attribuables à la sélection naturelle sont intrinsèquement directionnels, en ce sens qu'ils évolueraient vers des états finaux caractéristiques. Ce théorème présentait selon lui une « ressemblance remarquable avec la seconde loi de la thermodynamique » (Fisher, 1930). Dans les deux cas, il s'agit de propriétés de populations qui demeurent « vraies » peu importe la nature des éléments qui les composent et dans les deux cas il s'agit de « lois statistiques » requérant un accroissement continu d'une quantité « mesurable », en l'occurrence l'entropie ou la fitness. À l'instar de la seconde loi qui stipule qu'un système isolé évolue toujours d'un état à un autre d'entropie plus élevée, le TFSN semble indiquer qu'une population évolue toujours, sous l'action de la sélection naturelle, d'un état possédant une fitness relativement basse à un état de fitness plus élevée. Ainsi, la sélection naturelle serait un processus de changement dirigé. (Pour un examen critique de cette récupération conceptuelle, voir Jodoin 2013 et 2014). Outre cette récupération conceptuelle par analogie formelle, le concept d'entropie est aussi utilisé en biologie selon une approche substantielle, c'est-à-dire par une application de la physique aux systèmes biologiques. Thomson (1852, in 1882) tirait des conclusions du second principe à l'effet que la terre deviendra tôt ou tard « inhabitable pour l'homme ». Le caractère apparemment inéluctable de l'augmentation de l'entropie a aussi donné l'impression qu'il était incompatible avec le phénomène de la vie. Mais une compréhension élémentaire du principe entropique est suffisante pour balayer cette

impression. En effet, si l'entropie d'un être vivant peut diminuer, ce qui équivaut, par abus de langage, à ce qu'on a appelé un apport de « néguentropie », alors nécessairement celle de son environnement augmente, ce qui n'est pas fondamentalement différent, du point de vue physique du moins, du fonctionnement d'un réfrigérateur, un système ouvert et un processus « forcé » selon la distinction de Clausius.

### **II.3 États et processus en thermodynamique**

Un état thermodynamique est un état caractérisé par des variables macroscopiques et une situation d'équilibre. Ces variables peuvent être intensives, c'est-à-dire indépendantes de la taille ou de la masse du système, ou extensives, c'est-à-dire qu'elles dépendent de la taille du système. Un état est à l'équilibre si ses propriétés sont suffisamment stables dans le temps, où chaque variable intensive est définie et a la même valeur en tout point du système, de sorte que l'état soit indépendant du temps et donc de l'histoire du système. Et un état est dit macroscopique si ses propriétés peuvent être mesurées et décrites par un petit nombre de quantités macroscopiques, comme la pression  $P$ , la température  $T$  et le volume  $V$ , sans égard aux fluctuations possibles. La caractérisation des états thermodynamiques par rapport à l'équilibre et à la macroscopicité constitue le principal critère distinguant les variables thermodynamiques de celles qui ne le sont pas (Landsberg, 1956). En effet, la thermodynamique considère la spécification de l'état dynamique de l'ensemble des constituants microscopiques comme « superflue » (Fermi, 1936)

Il est utile et même nécessaire de caractériser les systèmes thermodynamiques d'après les échanges d'énergie (chaleur et travail) et de matière à travers leurs frontières : (i) les systèmes isolés n'échangent ni énergie ni matière ; (ii) les systèmes fermés échangent de l'énergie mais sans matière; on peut aussi distinguer les systèmes fermés adiabatiques qui échangent de l'énergie sous forme de travail mais pas sous forme de chaleur ; (iii) les systèmes ouverts échangent matière et énergie avec l'extérieur. Les processus thermodynamiques se présentent principalement selon quatre types : (i) les processus adiabatiques où il n'y a pas d'échange d'énergie sous forme de chaleur entre le système et son environnement (ces processus concernent donc les systèmes isolés et les systèmes fermés adiabatiques) ; (ii) les processus quasi-statiques qui sont constitués d'une séquence lente d'états d'équilibre ; (iii) les processus réversibles où il est possible de renverser la séquence des états de ce processus, et un processus réversible est quasi-statique, et vice-versa) ; (iv) les processus irréversibles où il n'est pas possible de renverser la séquence des états de ce processus, et un processus irréversible n'est pas quasi-statique, donc il n'est pas à l'équilibre, et vice-versa.

## II.4 Principes fondamentaux de la thermodynamique

La thermodynamique moderne est conçue autour de quatre principes fondamentaux :

1. Le principe zéro de la thermodynamique exprime la transitivité de l'équilibre et s'énonce comme suit : si deux systèmes sont à l'équilibre thermique avec un tiers système, alors ils sont tous à l'équilibre thermique. Ce principe ne peut être déduit d'autres et précède les premier et second principes de la thermodynamique. Il suppose d'une part l'existence de systèmes thermodynamiques approchant un état d'équilibre lorsqu'ils sont isolés, qu'on appelle réservoirs thermiques, et d'autre part l'existence de cloisons diathermiques permettant un transfert de chaleur et des changements éventuels à l'intérieur de ces cloisons. Toutefois, la chaleur n'a pas besoin pour l'instant d'être définie : si aucun changement ne survient alors que deux systèmes sont mis en contact l'un avec l'autre, alors ces deux systèmes sont considérés à l'équilibre thermodynamique. À l'instar de la pression qui est l'indicateur universel de l'équilibre mécanique, la température est l'indicateur universel de l'équilibre thermique. C'est-à-dire, si deux systèmes sont à l'équilibre thermique, alors ils ont une propriété en commun, celle d'avoir la même température. Ce principe exprime donc la transitivité des réservoirs thermiques et circonscrit l'existence des thermomètres permettant de mesurer la température, par un changement observable, comme l'expansion d'un volume de mercure par exemple.

2. Le premier principe de la thermodynamique introduit le concept d'énergie. Ce concept fondamental est défini à partir du principe de conservation de l'énergie qui stipule que l'énergie de tout système isolé de son environnement demeure constante. Lorsqu'un système interagit avec son environnement et passe d'un état A à un état B, son énergie ( $U$ ) peut changer d'une certaine quantité  $dU = U_B - U_A$ . Il y a bien évidemment plusieurs façons d'intervenir sur un système, comme il y a plusieurs façons de faire passer un système d'un état A à un état B. Les deux types généraux d'intervention permettant de modifier un système et de changer son énergie sont la chaleur ( $Q$ ) et le travail ( $W$ ). La chaleur peut se définir comme la forme d'énergie qui est transférée entre deux systèmes (ou un système et son environnement) en présence d'une différence de température, tandis que le travail peut se définir comme la forme d'énergie qui est transférée par l'action d'une force sur une distance. Si ce n'est pas de la chaleur, alors il s'agit du travail, et vice-versa. Le premier principe ne fait que définir la variation de l'énergie en équivalence avec des quantités de chaleur et de travail. Il s'exprime comme suit :  $dU = \delta Q + \delta W$ . Ainsi, selon ce principe, lors d'un processus cyclique où le système revient à son état initial et donc à un même niveau d'énergie, la variation d'énergie est nulle ( $dU = 0$ ) et par conséquent la quantité de travail fournie par le

système est égale à la chaleur fournie au système ( $-W = Q$ ). Puisque la quantité de travail ou de chaleur extraite d'un système dépend du processus utilisé, ni  $Q$  ni  $W$  ne peuvent caractériser entièrement un changement d'état et ne peuvent donc pas être qualifiés de variables d'état (et ne peuvent donc pas être représentés par une différentielle exacte, d'où le terme  $W$ ). Il est alors plus juste de dire que la chaleur et le travail ne sont pas à proprement parler des formes d'énergie, mais plutôt des façons ou des méthodes particulières d'échanger ou de transférer de l'énergie. Autrement dit, chaleur et travail sont de l'énergie en transition, deux types d'interactions énergétiques entre un système et son environnement, qui exigent, pour une description complète, que soient spécifiées leur magnitude et leur direction (on parle alors de « quantités directionnelles »).

3. Brièvement, le second principe de la thermodynamique suppose aussi la définition et donc la distinction des concepts de chaleur et de travail. Il stipule en substance qu'une quantité de chaleur donnée ne peut être entièrement convertie en travail, bien que l'inverse soit possible. Il peut aussi faire être formulé en fonction du concept d'entropie, ce qu'on appelle le principe entropique.

4. Le troisième principe de la thermodynamique stipule que l'entropie tend vers zéro lorsque la température tend vers le zéro absolu. À l'instar du premier et du second principe s'appuyant sur des constatations empiriques à l'effet que certains processus étaient impossibles à obtenir, la version phénoménologique du troisième principe stipule qu'il n'y a aucune séquence finie de processus cycliques permettant de refroidir un corps au zéro absolu. Sa version microscopique stipule que l'entropie d'une structure « parfaitement cristalline » est nulle au zéro absolu. Mais ce principe n'introduit pas de nouvelle fonction et en ce sens il est différent des trois autres principes de la thermodynamique.

5. Lorsqu'un système isolé est dans un état d'équilibre, en raison des trois premiers principes, on peut remplacer  $Q$  par  $TdS$  et  $W$  par  $PdV$ , de sorte que  $dU = TdS - PdV$ , ou  $TdS = dU + PdV$  (Bejan, 2006; Çengel et Boles, 2006). Il s'agit de l'équation fondamentale de la thermodynamique dont les conséquences par rapport à des applications à une grande variété de systèmes et de situations constituent le « point focal » de la thermodynamique (Dugdale, 1996)

Le concept d'entropie est donc rempli de promesses mais reste à mains égard ambigu. D'où l'intérêt d'un examen critique. Il est en outre associé à des concepts d'intérêts philosophiques, comme l'irréversibilité, la causalité, la probabilité et l'accessibilité. Mais il intervient aussi au sein d'explications scientifiques particulières comme celles décrivant un

processus vers un état d'équilibre, ou celles définissant la probabilité d'un état microscopique à partir d'un état macroscopique

## **II.5 Mécanique statistique**

La mécanique statistique est née, tel qu'indiqué précédemment, d'une tension entre la mécanique et la thermodynamique. Son objectif principal est de dériver des lois macroscopiques à partir de lois microscopiques sous-jacentes. Elle est fondée sur l'utilisation des probabilités en raison de l'énormité du nombre de molécules (de l'ordre de la constante d'Avogadro, soit environ  $6, 10^{23}$ ) associé à la quantité de systèmes microscopiques. Elle a cette particularité de fournir des méthodes considérées comme rationnelles pour traiter des comportements de systèmes mécaniques où les connaissances de leur état sont moindres que celles qui seraient théoriquement possibles d'obtenir. Il s'agit donc de dresser un portrait du comportement global des éléments d'un tout. Selon Penrose (1970), le point de départ de la mécanique statistique est le fait que l'on ne peut déterminer l'état dynamique (microscopique) d'un système physique macroscopique. Bref, il faut faire beaucoup avec peu.

Il y a essentiellement deux approches à la mécanique statistique et donc deux formalismes, quoique semblables, et donc au moins deux types de définitions de l'entropie statistique. Il s'agit de l'approche de Boltzmann et celle de Gibbs, et des définitions qui s'y rattachent. Outre la définition de l'entropie thermodynamique, la taxonomie de l'entropie statistique comporte quatre définitions de l'entropie.

L'entropie de Boltzmann se présente principalement sous trois variétés qui découlent toutes du théorème H, lequel s'appuie sur la validité de l'équation de transport de Boltzmann et sur celle de l'hypothèse du Stosszahlansatz. Malheureusement, ce théorème fait face à de nombreux problèmes, dont le principal est sans doute celui de justifier un comportement irréversible à partir de lois réversibles. Au surplus, les autres hypothèses sur lesquelles s'appuient les différentes versions de l'entropie de Boltzmann sont aussi très problématiques. L'idée de base des entropies de Boltzmann, qui semble évidente mais qui ne l'est pas au regard de l'approche de Gibbs, est que celles-ci doivent refléter le comportement de l'entropie thermodynamique comme propriété d'un système individuel et elles doivent augmenter dans le temps avant d'atteindre un maximum à l'équilibre.

### **II.5.1 Entropie de Boltzmann**

#### **II.5.1.1 Entropie continue de Boltzmann**

Le premier type d'entropie statistique selon Boltzmann est l'entropie continue de Boltzmann, ou à grenage fin, qui est une conséquence directe du théorème H. Elle est définie telle que

$$S_{B,f} \equiv -kNH[f_t]$$

où  $k$  est une constante et  $f_t$  est une distribution ou densité définie sur  $\Gamma\mu$  (Boltzmann 1872, in Brush 2003; Wherl, 1991; Frigg et Werndl, 2011). Tel que présenté précédemment, Boltzmann est en mesure de prouver qu'une quantité  $H[f_t]$  décroît de manière monotone dans le temps. Or, pour une distribution stationnaire  $f^*$  d'un gaz idéal monoatomique, comme la distribution de type maxwellien, il obtient  $H[f^*]$ , une quantité correspondant à l'entropie thermodynamique si l'on a défini l'entropie telle que  $S_{B,f}$ . Il va donc de soi que la validité de  $S_{B,f}$  dépend de celle du théorème H: si  $S_{B,f}$  est associée ou identifiée correctement à  $S_T$  alors le théorème H pourrait fournir une « interprétation microscopique » (Boltzmann 1872, in Brush 2003) ou une « justification » (Frigg et Werndl, 2011) du second principe de la thermodynamique. Mais il est loin d'être clair s'il s'agit d'une preuve que l'entropie doit augmenter ou d'une simple interprétation du second principe, bref le statut épistémologique de ces résultats demeure largement ambigu. La raison principale de l'identification du concept d'entropie thermodynamique à celui d'entropie statistique est que la fonction associée à cette dernière est définie avec des variables dynamiques et qu'elle se comporte comme la fonction d'état de la thermodynamique. Il s'agit donc d'un raisonnement par analogie formelle. De plus, avec ce théorème Boltzmann prouve à la fois plus et moins que nécessaire : plus, en ce sens que le second principe ne parle ni d'entropie pour les états de non-équilibre, ni d'accroissement monotone ; et moins, car Boltzmann ne considère pas l'accroissement de l'entropie pour des processus généraux adiabatiques, puisqu'il traite plutôt de gaz isolés de leur environnement, une condition plus forte.

### II.5.1.2 Entropie combinatoire de Boltzmann

Le second type d'entropie statistique selon Boltzmann est l'entropie combinatoire de Boltzmann, ou principe de Boltzmann selon l'expression d'Einstein (1905), et il est notoirement exprimé par

$$S_{B,c} \equiv k \ln \Omega$$

où  $k$  est une constante et  $D$  (parfois  $W$  pour *Wahrscheinlichkeit*) est le nombre de complexions ou d'arrangements (Wherl, 1991; Müller, 2007; Frigg et Werndl, 2011). Mais d'où vient-il ? En fait, dans la littérature, ce principe est rarement dérivé ou justifié mais est plutôt seulement défini ou stipulé. Il y a donc des lacunes à combler : un besoin d'une preuve, d'une justification de ce principe.

Si l'on suppose que le théorème H est bien valide, ce qui ne va pas de soi, il est possible d'obtenir l'entropie combinatoire de Boltzmann via l'argument combinatoire (Cercignani,

1998 ; Müller et Weiss, 2005; Müller, 2007; Uffink, 2007; Frigg, 2008). L'argument repose sur la discrétisation ou la partition de ce qui est appelé l'espace- $\mu$ ,  $\mu$  : soit l'espace des phases à six dimensions d'une particule ou molécule particulière. La partition de l'espace- $\mu$  en  $m$  cellules disjointes  $\%i$  est une procédure de grenage grossier (« coarse graining ») :  $\mu = \omega_1 \cup \dots \cup \omega_m$ , où le micro-état à grenage grossier (aussi appelé un « arrangement », ou « Komplexion » par Boltzmann) d'un tout comme un gaz est une collection de  $N$  points dans  $:\mu$ , un point pour chaque particule. Une fonction de distribution discrète est alors une collection d'entiers positifs  $n_i$  et correspond au nombre de particules dont l'état est dans la cellule  $\%i$ , ce qui définit un macro-état (« distribution d'état », « Zustandsverteilung ») :  $Z := (n_1, \dots, n_m)$ . Ainsi, si les molécules ne sont pas interchangeables, donc discernables, la quantité  $\Omega(Z)$  est définie comme

$$\Omega(Z) \equiv N! / n_1! \dots n_m!$$

et donne le nombre d'arrangements compatibles avec une distribution  $Z$  donnée, un macro-état donné. La relation entre micro- et macro-état n'est donc pas unique car des micro-états différents sont obtenus par la permutation des molécules: il y a plusieurs micro-états compatibles avec un macro-état donné. C'est pourquoi on considère qu'un arrangement, un micro-état, contient « plus d'information » (Albert, 2000; Frigg et Werndl, 2011) qu'une distribution, qu'un macro-état.

L'entropie combinatoire est souvent décrite comme exprimant une « compatibilité » entre le nombre d'arrangements et une distribution donnée, entre une quantité de micro-états pour un macro-état donné. De manière plus ou moins équivalente, mais qui mérite un examen réservé pour plus tard, on admet que  $S_{B,c}$  décrit l'« accessibilité » (Capek et Sheehan, 2005; Frigg et Werndl, 2011) des micro-états pour un macro-état, ou encore une relation entre « l'information spécifiant un micro-état et la complexité du système » (Gruenewald et al., 2010).

Étant donné la relation un-plusieurs entre un macro-état et ses micro-états associés, où le nombre de micro-états est calculé à partir de contraintes macroscopiques telles l'énergie du système, son volume et le nombre de molécules, une description possible est celle de la réalisabilité multiple.

Le système évolue vers une distribution présentant plus d'arrangements compatibles et, éventuellement, toute chose étant égale par ailleurs, vers la distribution présentant le plus d'arrangements compatibles. L'idée générale semble donc que le système évolue d'un état improbable à un état plus probable.

### II.5.2.3 Entropie macroscopique de Boltzmann

Le troisième type d'entropie statistique selon Boltzmann est l'entropie macroscopique de Boltzmann qui se définit sur l'espace- $\gamma$  ( $\Gamma_\gamma$ ) comme

$$S_{B,m}(M) \equiv k \ln \mu(\Gamma_M)$$

où  $\Gamma_M$  est un sous-ensemble de l'espace des phases d'énergie constante ( $\Gamma_M \subset \Gamma \cong \Omega E$ ) représentant un état macroscopique  $M$  constitué de points en phase représentatifs qui sont macroscopiquement similaires à l'état microscopique  $x$ , et  $\mu$  réfère au volume, donné par la projection invariante par rapport au temps de la mesure de Liouville (Lebesgue) sur la surface d'énergie (Lebowitz, 1993 et 1999; Goldstein, 2001; Frigg et Werndl, 2011). Ainsi, chaque micro-état  $x$  de ce volume correspond à  $M$ , mais à un macro-état donné correspondent plusieurs micro-états. En ce sens,  $S_{B,m}$  mesure la portion de l'espace- $\gamma$  du système qui est occupée par les micro-états correspondant à l'état macroscopique  $M$ .

## II.6 Probabilité

L'interprétation probabiliste découle directement du projet même de la mécanique statistique. Il a été vu que ce qui permet de caractériser un système macroscopique, son macro-état, l'« information » disponible sur ce dernier, est compatible avec une multitude de scénarios caractérisant ce même système, mais dans un autre « langage », avec d'autres « informations », celui de la mécanique. Puisque le système est considéré avoir un seul état peu importe le « langage » utilisé pour le décrire, que ce soit ici la thermodynamique ou la mécanique, il s'ensuit que cette multitude est décrite comme une gamme des possibles où le système se trouve dans l'un ou l'autre des scénarios possibles, dans l'un ou l'autre des micro-états possibles, parce que compatibles avec les données, les informations disponibles. Ces données ou ces informations, bref ce qui détermine les valeurs des paramètres thermodynamiques et macroscopiques, déterminent aussi le cadre formel dans lequel s'inscrit cette gamme des possibles, au demeurant inobservables et microscopiques. Un état macroscopique peut donc être dans l'un ou l'autre de ces micro-états, ou encore il peut être dans telle ou telle région de l'espace des phases. Il semble donc naturel de définir ce rapport entre ce qui détermine l'état macroscopique et ce qui détermine la gamme des possibles microscopiques comme la probabilité de cet état macroscopique. De plus, compte tenu du fait que les systèmes thermodynamiques tendent à évoluer vers un état d'équilibre et qu'un tel état est typiquement décrit comme un état compatible avec la plus grande gamme de possibles, le plus grand nombre de micro-états possibles ou la plus grande région de l'espace des phases, et

de loin, alors il semble aussi naturel d'expliquer cette tendance fortement corroborée comme un processus d'un état improbable à un état plus probable.

La quantité  $\Omega$  est associée à une équiprobabilité, où chaque micro-état a le même « poids » par rapport à la quantité totale de micro-états possibles,  $\mu(\Gamma M)$  mesure le volume en phase d'une région de l'espace des phases, donc définit une gamme de possibles, tandis que % est une distribution de probabilité. Il n'est donc pas surprenant, encore une fois, qu'on ait interprété l'entropie comme une mesure de probabilité. Mais ce qu'il faut ici est une justification de cette connexion, de cette interprétation de l'entropie en termes probabilistes. Il est à noter que l'attribution d'une valeur de probabilité à un système ou un phénomène n'était pas encadrée par des règles formelles comme peut l'être le calcul des probabilités. Malgré la possibilités d'établir une gamme des possibles par des mesures empiriques ou par un traitement nomologique, une mesure de probabilité, établissant une valeur de probabilité dans un cas particulier, n'est pas pour autant définie.

Il serait possible de le faire, par exemple, s'il était justifié de procéder à l'identification de cette valeur pour un phénomène donné avec sa fréquence relative. Ou encore si le principe d'indifférence était complètement justifié. Bien entendu, ces deux procédures sont couramment utilisées et il ne fait aucun doute que leur emploi soit parfois justifié. Mais ce n'est pas toujours le cas et la définition de leur contexte de justification est (encore) lacunaire. Ainsi, il est possible de connaître, par une mesure par exemple, l'état macroscopique d'un système sans que l'on soit pour autant justifié d'établir une valeur de probabilité à son micro-état.

Davey (2008), affirme ainsi que tout principe de la forme « si l'on connaît l'état macroscopique d'un système alors on est justifié de décrire son micro-état avec telle mesure de probabilité » est nécessairement faux.

## **II.7 Désordre**

L'interprétation de l'entropie comme étant une « mesure du désordre » compte plusieurs adeptes (Carnap, 1977; Wherl, 1978 et 1991; Müller et Weiss, 2008; Sethna, 2011). Elle trouve son origine dans les travaux de Boltzmann, qui, on l'a vu, interprète l'entropie statistique comme une probabilité à partir du nombre d'arrangements compatibles avec une distribution donnée. Mais celui-ci identifie aussi les états ordonnés à des états improbables et les états désordonnés à des états probables. D'aucuns parlent aussi de « mélangé » (« mixed-upness »), d'un « caractère aléatoire » (« randomness ») ou d'une « quantité de chaos » (« amount of chaos »). Cette interprétation n'est toutefois pas entièrement étrangère à l'entropie thermodynamique. En effet, considérant l'interprétation inspirée du

second principe de la thermodynamique à l'effet que l'entropie soit une mesure de la capacité d'un système à effectuer un travail, et compte tenu de l'interprétation anthropomorphique d'un travail comme ce qui permet l'« instauration d'un ordre », il n'est pas absurde d'établir une correspondance entre une entropie élevée et le désordre. Cette interprétation d'« instauration d'un ordre » a deux sources. L'une d'elle est empirique, en ceci que l'intuition nous dit qu'une quantité de travail est nécessaire pour construire, bâtir, organiser. La seconde est plus théorique, car elle découle de la définition microscopique d'un travail comme un transfert d'énergie « de manière cohérente » (Gould et Tobochnik, 2010) ou impliquant « peu de degrés de liberté observables » (Penrose, 1970). La quantité  $\Omega$  dans l'entropie combinatoire de Boltzmann (SB,c) peut être interprétée comme une mesure de l'« ordre » d'un système composé de plusieurs éléments de manière analogue aux lettres de l'alphabet pouvant être arrangées de multiples façons différentes, et indifférentes, dans le « désordre », mais seulement d'une façon selon l'ordre habituel. Le même raisonnement vaut donc aussi pour l'entropie macroscopique de Boltzmann (SB,m) puisqu'elle est égale, on l'a vu, à l'entropie combinatoire à une constante près si la mesure du volume des cellules en phase est invariante. Si l'ensemble des molécules présentait une très grande symétrie, si elles étaient toutes à la même vitesse, se déplaçant parallèlement, et dans un petit volume, alors l'entropie serait extrêmement faible. L'association entre une configuration en phases et le concept d'ordre est donc invitante. Il importe alors de souligner le fait que la notion de désordre doit s'appliquer ici à l'espace des phases et non à l'espace tout court.

## **II.8 Travail**

L'interprétation du concept d'entropie comme celle de la capacité à effectuer un travail provient du second principe de la thermodynamique stipulant l'impossibilité pour un système donné d'une conversion complète de la chaleur en travail. Elle s'appuie donc sur les bases solides du principe de l'impossibilité du mouvement perpétuel de second type et elle a une histoire aussi longue que la thermodynamique. L'idée générale est bien résumée par Brunhes (1909) : Quand on a laissé l'équilibre thermique s'établir dans un système matériel, il a perdu quelque chose, mais il est une chose qu'il a conservée. Il n'a plus la même capacité à produire un travail. Mais il a gardé la même énergie. Si elle n'est plus à notre portée, elle existe toujours. Seulement il n'est plus possible de la récupérer sans dépense. Ce que le système a perdu serait non pas une quantité d'énergie mais une qualité d'énergie.

En caractérisant l'entropie par une fonction d'état, cette interprétation était vouée à des difficultés sans doute insurmontables puisque le travail n'est pas une fonction d'état. Ainsi,

l'entropie, dans sa version thermodynamique mais aussi statistique, est une fonction d'état définie par certains paramètres. Si, par exemple, on double le nombre de molécules d'un système, doublant sa masse, alors son entropie statistique double, mais il est loin d'être évident que sa capacité à effectuer un travail double également (Leff, 2007). En outre, plusieurs phénomènes chimiques, dont le traitement théorique a su assimiler le concept d'entropie, comme la diffusion de deux gaz parfaits, sont typiquement décrits comme « irréversibles », impliquant une augmentation d'entropie sans toutefois indiquer une perte de travail (Planck, 1908).

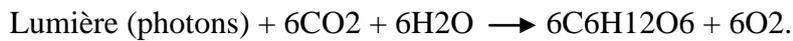
## **II.9 Physiologie**

La physiologie étudie le rôle, le fonctionnement et l'organisation physique et biochimique des organismes vivants et de leurs composants. La physiologie étudie donc les interactions entre un organisme vivant comme système et son environnement. Elle se prête donc bien à la mise en application de la « stratégie généralisée » du principe entropique selon laquelle, en termes simples, un système ouvert développe une configuration particulière en consommant de l'énergie et en se débarrassant de son entropie. Et comme dans cette étude de systèmes et de sous-systèmes variés, comme la cellule ou le cœur, elle définit schématiquement des niveaux d'organisation, elle paraît ainsi propice à l'analyse du concept d'émergence pouvant y être mobilisé.

Si la physiologie étudie les interactions entre les organismes et leur environnement, elle ne doit pas se limiter à l'influence de l'environnement sur les organismes mais doit aussi s'intéresser à l'influence des organismes sur leur environnement. Turner (2000), propose de se tourner vers la thermodynamique pour une telle analyse car la physiologie à l'intérieur d'un organisme est « fondamentalement un problème de thermodynamique ». Après tout, la thermodynamique décrit les échanges d'énergie sous forme de chaleur et de travail, et les organismes opèrent de telles transformations. Ils le font toutefois en créant ce que Turner appelle de l'« ordonnancement ». On retrouve ici la stratégie généralisée du principe entropique. Mais il faut ici aussi préciser ce que signifie cet « ordonnancement », qui renvoie à l'un des paramètres de cette stratégie avec les notions de configuration, de structure, de motif, de design, d'ordre, etc. Afin de voir si la thermodynamique et la stratégie généralisée du principe entropique peuvent éclairer et même expliquer l'apparition de structures ordonnées, ou leur émergence, tournons-nous vers le processus de la photosynthèse.

Ce processus physiologique consiste en la production de glucose ( $C_6H_{12}O_6$ ) et d'oxygène ( $O_2$ ) à partir du dioxyde carbonique ( $CO_2$ ) de l'air et de l'eau ( $H_2O$ ) du sol dans

un environnement baigné de radiations solaires (lumière). La réaction chimique à l'œuvre dans ce processus peut se résumer ainsi :



L'énergie sous forme de radiations solaires est alors convertie en énergie potentielle emmagasinée dans les liens chimiques de la molécule de glucose que l'organisme peut utiliser plus tard. L'inverse de cette réaction est effectivement ce qui est appelé la respiration, où l'énergie du glucose est consommée par l'organisme pour effectuer un travail physiologique, comme la digestion, et où du gaz carbonique, de l'eau et de la chaleur sont libérés. Mais ce travail ne peut être effectué que si le glucose est couplé à un processus, appelé cycle ATP (pour adénosine triphosphate), durant lequel l'ATP est d'abord formée à partir de l'adénine diphosphate (ADP) et ensuite, en présence de glucose et d'oxygène, elle libère de l'énergie.

Afin de voir si la stratégie généralisée est respectée, il faut interpréter cette description d'un processus physiologique fondamental et analyser les paramètres de la stratégie en conséquence.

L'apport d'énergie ici est sous forme de radiations solaires (lumière) et la dissipation de l'entropie se situe au niveau du rejet d'oxygène ( $6\text{O}_2$ ). Comme le bilan énergétique entre les deux ne balance pas, en l'absence d'un autre échange de chaleur ou de l'augmentation de la température interne, il faut qu'il y ait consommation d'une quantité de travail dans le système. Le principe entropique est donc respecté.

Concernant la question de la « structure ordonnée », selon l'interprétation du désordre héritée de la version statistique de l'entropie (sans la cautionner ici toutefois), on peut croire que l'augmentation du désordre dans l'environnement résultant de la dissipation de l'entropie entraîne d'une certaine façon une augmentation de l'ordre dans le système. À cette enseigne on joue sur le plan de la métaphore.

Turner (2000), soutient que l'ordre ou la « structure ordonnée » – il parle d'« ordonnancement » (« orderliness ») – est celle de la molécule de glucose. La raison de cette affirmation repose sur une définition algorithmique de l'ordre, car « moins d'information est requise pour décrire la partie droite de l'équation, et donc elle est plus ordonnée » (Turner, 2000).

Les trois premiers critères de la stratégie généralisée appliquée aux systèmes complexes émergents sont donc satisfaits, nonobstant quelques précisions à apporter. D'abord, les organismes vivants manifestant le phénomène de photosynthèse peuvent légitimement être considérés suffisamment complexes en regard de l'application du principe entropique. Le nombre de molécules et de degrés de liberté est suffisamment grand pour que

les concepts d'entropie, de chaleur, de travail et de température aient un sens, et on peut supposer que de tels systèmes opèrent bien au-delà de la transition classique-quantique. Ensuite, il n'est pas besoin de faire appel ici à des métaphores afin d'identifier une certaine quantité d'entropie puisque le rejet d'entropie est directement associé au rejet de chaleur. Enfin, la condition d'apparition d'une structure « nouvelle », ordonnée, est ici celle de la molécule de glucose, qui présente une forme hexagonale (comme les cellules de Bénard). L'analogie ici avec les exemples typiques de la thermodynamique est assez naturelle, car le glucose est assimilable par les cellules vivantes pour lesquelles il est un carburant essentiel. De sorte que la consommation d'énergie impliquant une dissipation d'entropie sert à former une structure ordonnée de manière à produire une capacité de travail, à l'instar d'une transformation énergétique produisant une différence de température (gradient) et donc une capacité à effectuer un travail.

La réelle difficulté réside ici dans la caractérisation de cette « nouvelle » structure présentant un certain niveau d'ordre (c'est-à-dire, parmi l'ensemble des propriétés du système, quel sous-ensemble permet de définir cette structure ?). Il y a plusieurs façons d'y arriver. (i) D'abord, le critère de nouveauté est généralement caractérisé en fonction d'un ensemble de lois et de concepts propres à une sous-structure (sous-systèmes ou parties d'un tout) à partir duquel cette structure est jusqu'à un certain point imprédictible, ou à tout le moins il y aurait une certaine hétérogénéité (un terme vague, mais qui a le mérite d'embrasser une diversité de cas) entre cet ensemble et la description de cette structure. Il s'agit d'un obstacle au réductionnisme qui, sans être insurmontable, paraît pour plusieurs auteurs suffisant pour inférer qu'il s'agisse là d'un cas d'émergence. En somme, la structure ne serait nouvelle qu'en raison d'une description dont les termes échappent au langage théorique utilisé pour rendre compte de la sous-structure. (ii) Mais ce caractère de nouveauté peut simplement faire référence à la formation diachronique de cette structure. Dit simplement, il y a quelque chose qui n'y était pas. C'est en ce sens que certains (Bunge, 2003) définissent l'émergence selon un critère d'une « propriété qualitativement nouvelle ». (iii) Cette nouveauté ou la structure elle-même peut aussi être caractérisée par le processus duquel elle provient, dont elle en est le résultat. En définissant un tel processus, il est alors possible de définir un lien de causalité entre le processus et cette structure, qui peut être ainsi expliquée selon une théorie causale de l'explication (nonobstant les difficultés que rencontre le concept de causalité). On peut par exemple imaginer un mécanisme de formation d'une telle structure, en l'occurrence la molécule de glucose. Il est aussi possible de restreindre la classe de phénomènes potentiellement émergents par l'apparition d'une propriété structurale. (iv) La structure peut

aussi identifiée non par le processus duquel elle suit, mais plutôt des conséquences à la formation de ladite structure, c'est-à-dire qu'une fois la structure en place, le système présente un comportement différent. Par exemple, pour Schneider et Kay (1994), « l'émergence de la structure ordonnée résulte en une production d'entropie accrue »; ou encore, la remarquable capacité des organismes d'harnacher l'énergie de la lumière et de l'utiliser pour la synthèse de composés organiques émergeraient de l'organisation structurale dans la cellule (Reece et al., 2005). Ici, tel que mentionné, la capacité d'effectuer un travail conséquemment à la formation de la molécule de glucose servirait de paramètre à cette structure ordonnée.

## Chapitre3 : La genèse des membranes biologiques

### III.1 La polarité cellulaire

### III.2 La polarité et l'intégrité épithéliale

Dans le tissu épithélial les cellules sont étroitement associées les unes aux autres par des jonctions intercellulaires spécialisées. A l'échelle cellulaire, la polarité du tissu épithélial est définie par la formation de membranes plasmiques apicales et baso-latérales de compositions protéiques et lipidiques distinctes (Müller et Bossinger, 2003). L'hyperplasie est la première étape du processus cancérigène. Cette rupture de l'homéostasie tissulaire, observée à l'échelle macroscopique, est la conséquence de la perturbation de la polarité cellulaire. Afin de comprendre la rupture d'intégrité de l'épithélium dans les tumeurs, il est essentiel de connaître les principaux acteurs qui contrôlent la polarité cellulaire et guident l'organisation du tissu épithélial.

#### III.2.1 Les structures associées à la polarité apico-basale

L'intégrité des épithélia est assurée par la présence de molécules d'adhérences et de jonction cellulaires, qui médient l'interaction du cytosquelette avec le milieu extérieur (cellules ou matrice) et forment une barrière sélective permettant à la cellule de définir des zones membranaires spécialisées.

##### II.2.1.1 Les adhésions cellule-cellule

Les jonctions cellulaires sont de trois types: jonctions serrées, jonctions adhérentes et desmosomes (Figure 15).

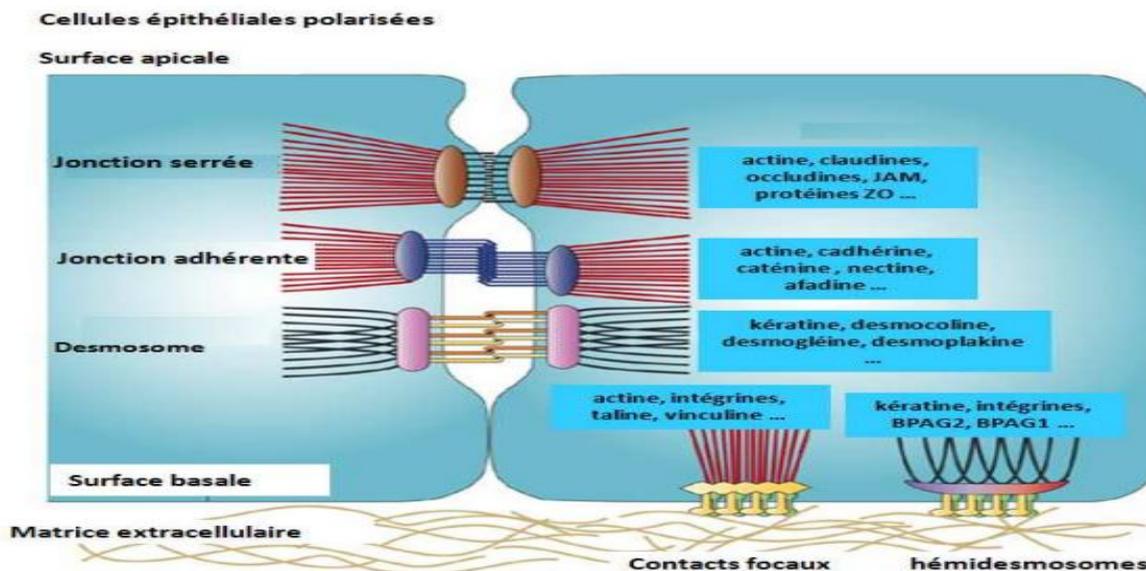


Figure 15 : Représentation schématique des jonctions et adhésions épithéliales. Adapté de Jefferson et al., 2004.

*Les jonctions se composent de protéines transmembranaires spécifiques. Tandis que leurs domaines extracellulaires interagissent entre elle, pour lier les cellules les une aux autres ou avec la matrice; leurs domaine cytoplasmique se lient au cytosquelette via diverses protéines adaptatrices. On compte cinq types de jonctions, leurs principaux composants sont représentés.*

### **III.2.1.1.1 Les jonctions intercellulaires**

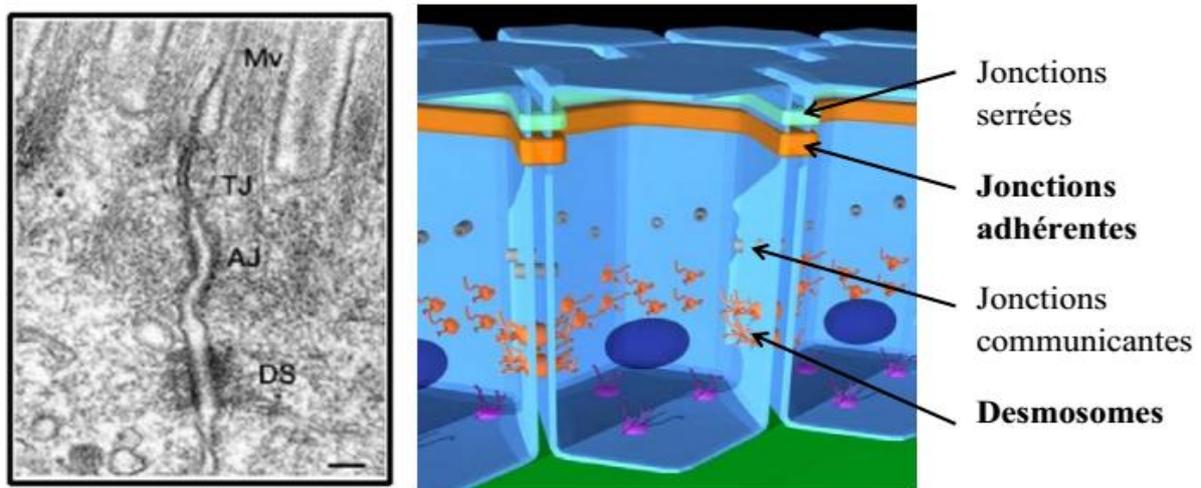
Au sein d'un organisme multicellulaire, les contacts intercellulaires jouent des rôles essentiels dans de nombreux processus cellulaires dont la morphogénèse, la différenciation, la prolifération et la migration. Lorsque l'on évoque l'adhérence cellulaire et en particulier l'adhérence intercellulaire, il est utile de préciser quels sont les éléments subcellulaires qui la structurent.

L'arrivée de la microscopie électronique à transmission, dans les années 1960, a permis d'identifier et de décrire morphologiquement une succession de structures jonctionnelles (complexe jonctionnel  $\leq 1\mu\text{m}$ ) qui n'étaient pas détectables par microscopie photonique.

Il existe quatre types de jonctions intercellulaires: les jonctions serrées, les jonctions adhérentes, les desmosomes et les jonctions communicantes. Ces jonctions sont particulièrement bien organisées dans les structures tissulaires de type épithélial, mais sont aussi présentes dans d'autres tissus (muscle cardiaque, tissu nerveux...) (Figure 16).

#### **III.2.1.1.1.1 Les jonctions serrées (zonulae occludentes)**

Les jonctions serrées constituent une barrière de perméabilité sélective au niveau des feuilletts cellulaires épithéliaux et une barrière de diffusion des lipides et des protéines membranaires délimitant les domaines apicaux et basolatéraux de la membrane plasmique. Ces jonctions sont présentes principalement dans les cellules épithéliales et endothéliales. Les jonctions serrées se situent au niveau de la portion apicale de la membrane latérale des cellules et apparaissent comme une succession de points de contact discrets, récemment appelés « kissing points », où les membranes semblent fusionnées (espace intercellulaire indétectable), formant une ceinture perméable autour de la cellule. Au sein d'une cellule, il existe plusieurs chaînes de « kissing points ». Ces chaînes sont formées par l'association de protéines transmembranaires spécifiques au niveau de deux membranes plasmiques adjacentes. L'occludine, première protéine transmembranaire des jonctions serrées, a été identifiée il y a plusieurs années (Furuse et al., 1993).



**Figure 16 : Morphologie des jonctions intercellulaires (Tsukita et al., 2001).**

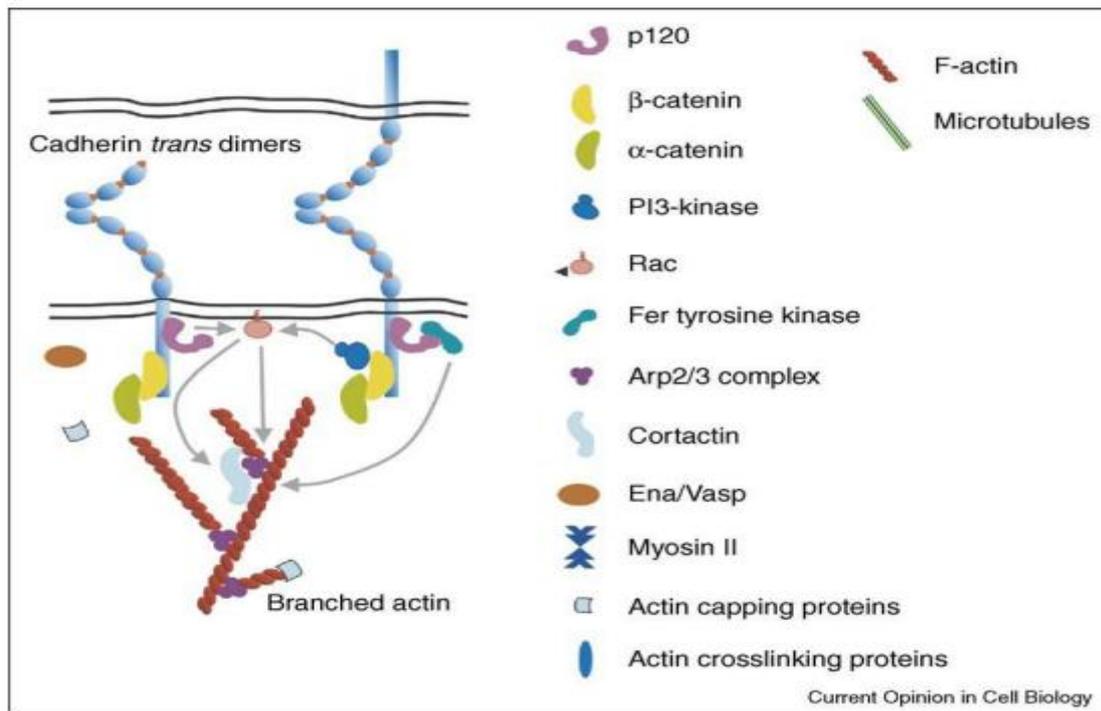
(a) Cliché de microscopie électronique à transmission représentant 3 des jonctions intercellulaires. (b) Schéma de cellules épithéliales polarisées avec positionnement des différentes jonctions.

#### **III.2.1.1.1.2 Les jonctions adhérentes (zonulae adherentes)**

Ces jonctions, situées en position basale des jonctions serrées, forment des connexions entre cellules voisines et présentent un espace intercellulaire d'environ 20 nm, observable par microscopie électronique (Farquhar et Palade, 1963). Les ponts transmembranaires sont constitués dans ces structures par les cadhérines. Ces molécules ont une spécificité tissulaire, par exemple la E-cadhérine est exprimée dans les cellules épithéliales, la N-cadhérine dans les cellules nerveuses et le muscle cardiaque, la P-cadhérine dans le placenta.

Les jonctions intercellulaires assurent la cohésion de tissus tels que les épithéliums ou le tissu cardiaque. Cette homéostasie peut subir des dérèglements au cours de la progression tumorale et les cadhérines, éléments structuraux de ces jonctions, sont souvent impliquées. Dans les tumeurs humaines, la perte de l'adhésion via les cadhérines est corrélée à l'acquisition du pouvoir métastatique des carcinomes. Parmi les phénomènes responsables de cette perte d'adhésion, on peut trouver des mutations du gène de la E-cadhérine, une diminution ou une inhibition totale d'expression de la E-cadhérine. En effet, la E-cadhérine est classée parmi les gènes supresseurs de tumeurs; ceci a été mis en évidence de façon expérimentale mais aussi dans de multiples études cliniques de cancers chez l'homme (Birchmeier et al., 1996; Christofori et Semb, 1999). Par exemple, le caractère invasif de cellules de carcinomes mammaires dédifférenciées peut être bloqué par transfection avec l'ADNc de la E-cadhérine. De plus, l'expression de N-cadhérine a aussi été corrélée à une

augmentation de la motilité et du caractère invasif de cellules cancéreuses mammaires (Hazan et al., 2000; Nieman et al., 1999). Cet effet de la N-cadhérine s'exprime malgré la présence de E-cadhérine, normalement suppresseur de motilité. Enfin, une expression réduite de la E-cadhérine est observée dans des carcinomes squameux de la peau et dans la maladie de Paget. D'autres maladies comme le *bullous pemphigoid* ou le *psoriasis* sont caractérisées par une forte quantité de E-cadhérine soluble dans le sérum des patients (Furukawa et al., 1994).



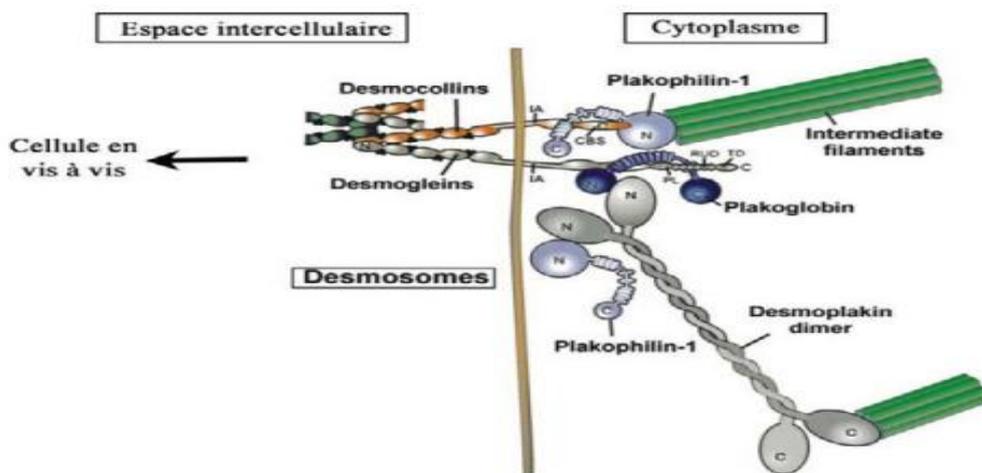
**Figure 17 : Représentation schématique de l'échafaudage moléculaire des jonctions adhérentes (Mege et al., 2006).**

### III.2.1.1.1.3 Les desmosomes (maculae adherentes)

Les desmosomes sont observés principalement dans les tissus soumis à des contraintes mécaniques (épithéliums et muscle cardiaque). Ils sont distribués le long de la membrane latérale sans localisation spécifique, souvent en alternance avec les jonctions adhérentes (Vasioukhin et al., 2000). L'espace intercellulaire est de 30 nm environ (Farquhar et Palade, 1963). Ces jonctions sont également constituées de membres de la superfamille des cadhérines, les desmocollines et desmoglénines (Figure 18). La plaque intracytoplasmique, composée de plakoglobines et desmoplakines, réalise un support d'ancrage pour les filaments intermédiaires de cytokératine. La plakoglobine s'associe au segment cytoplasmique des

desmocollines et desmogléines. Elle est homologue à la  $\beta$ - caténine et est d'ailleurs parfois retrouvée associée aux cadhérines au niveau des jonctions adhérentes (Gumbiner, 1996).

Deux maladies auto-immunes de la peau et des muqueuses, *pemphigus foliaceus* et *pemphigus vulgaris*, ont pour cause la production d'anticorps dirigés respectivement contre les desmogléines Dsg1 et Dsg3 (Lin et al., 1997). D'autres *pemphigus* à IgA ont pour cible la desmocolline Dsc1 (Hashimoto et al., 1997). Ces divers pemphigus sont caractérisés par une perturbation des desmosomes au niveau des cellules épithéliales, à l'origine d'un détachement cellulaire provoquant l'apparition de cloques au sein des différentes couches de l'épiderme (Lin et al., 1997). Des souris transgéniques synthétisant la Dsg3 tronquée de son domaine amino-terminal présentent des symptômes proches de ceux du *pemphigus vulgaris* (Allen et al., 1996). Les desmogléines sont également impliquées dans une variante de la keratodermie palmoplantaire striée, correspondant à une hyperkératination des mains et des pieds. Cette pathologie proviendrait d'une mutation ponctuelle conduisant à un épissage aberrant de l'ARNm ayant pour conséquence la perte du domaine EC1 et du début de EC2 de la desmogléine Dsg1 (Rickman et al., 1999).



**Figure 18 : Modèle d'interaction des complexes protéiques au niveau des desmosomes. (D'après Nollet et al., 2000).**

*Des hétérodimères cis de desmocolline-desmogléine s'associent par leur domaine extracellulaire. Le domaine intracellulaire s'associe à un complexe multiprotéique: plakoglobine, plakofiline-1 et desmoplakine. Ces protéines font le lien avec les filaments intermédiaires.*

#### **III.2.1.1.4 Les jonctions communicantes (gap junctions)**

Les jonctions communicantes correspondent à la concentration de canaux intercellulaires au niveau des contacts entre deux cellules. L'unité de base de ces canaux est une protéine transmembranaire, la connexine. Six connexines s'assemblent pour former un connexon et l'association de deux connexons de deux cellules voisines forme un canal intercellulaire. Ce canal permet à des ions et à d'autres molécules hydrosolubles (oses, acides aminés, nucléotides et vitamines) d'une taille  $\sim \leq 1$  kDa de passer directement d'une cellule à l'autre. L'espace intercellulaire est d'environ 3 nm. En résumé, les cellules sont capables, pour rester cohésives, d'organiser des assemblages relativement complexes: les jonctions intercellulaires. La complexité morphologique de ces structures se retrouve au niveau moléculaire. Ces jonctions sont constituées de protéines d'adhésion et de protéines intracellulaires spécifiques qui peuvent aussi servir de liens entre différents types de jonctions et intervenir dans la plasticité des contacts. L'ensemble de ces protéines constitue un échafaudage supramoléculaire très régulé qui participe à la transmission du signal entre le milieu extra- et intra-cellulaire et réciproquement, et, également d'une cellule à l'autre au sein d'une structure tissulaire. Les jonctions adhérentes et les desmosomes sont structurés au niveau transmembranaire par les membres de la superfamille des cadhérines. Ces molécules ont des structures très voisines et semblent remplir des fonctions différentes, dans des processus normaux et pathologiques. La E-cadhérine, constituant principal des jonctions adhérentes dans les cellules épithéliales, semble intervenir dans les premières étapes de l'assemblage du complexe jonctionnel apical et ainsi être un élément essentiel dans leur organisation. C'est la raison pour laquelle notre intérêt s'est particulièrement porté sur les cadhérines.

#### **III.2.1.2 Les adhésions cellule-matrice**

L'adhésion de la cellule à la matrice extracellulaire est un processus important dans plusieurs processus biologiques, tels que l'établissement de la différenciation et le nichage des cellules souches. Les protéines de la matrice se fixent aux récepteurs d'adhésion comme les intégrines, qui interviennent dans l'adhérence mais aussi dans la signalisation (Hynes, 2009). Les intégrines sont des récepteurs hétérodimériques. L'hétérodimère se compose d'une sous-unité  $\alpha$  et d'une sous-unité  $\beta$  associées de façon non covalente. Les intégrines sont toujours associées à des protéines adaptatrices, car leur compartiment cytoplasmique est petit et dépourvu d'activité enzymatique (Hynes, 2002).

### **III.2.1.2.1 Les contacts focaux**

Avant tout contact avec la matrice, les intégrines sont dans une conformation inactive. La liaison au ligand entraîne une extension du domaine extracellulaire et la séparation des queues cytoplasmiques autorisent ainsi l'interaction avec le cytosquelette. L'interaction intégrine-taline par les deux domaines FERM est l'événement initial de la formation d'un contact focal. Cette interaction va augmenter l'affinité des intégrines pour leurs ligands intracellulaires (Calderwood, 2004). D'autre part, la taline lie aussi la vinculine, induisant ainsi la polymérisation de l'actine via le recrutement d'Arp2/3 (Nayal et al., 2004). Le regroupement des intégrines au niveau des sites de contact va activer plusieurs voies de signalisations, par exemple celle impliquant l'activation de la tyrosine kinase FAK (Focal Adhesion Kinase) présente au niveau des contacts focaux. Celle-ci va à son tour activer d'autres kinases dont Akt (AK Thymoma) et Src (Sarcoma) (Brakebusch et Fässler, 2003), et va aussi jouer un rôle dans les remaniements des contacts focaux lors de la migration cellulaire dont, les intégrines se regroupent dans des zones spécifiques de la cellule, et s'organisent en différentes structures : les adhésions naissantes, les complexes focaux et les adhésions focales.

### **III.2.1.2.2 Les hémidesmosomes**

Les hémidesmosomes contribuent à l'attachement de la cellule épithéliale à la membrane basale sous-jacente dans les tissus épithéliaux stratifiés. Ces complexes multi protéiques pourvoient la cellule des signaux critiques pour sa polarisation et sont impliqués dans la morphogenèse et la cicatrisation. Les hémidesmosomes sont formés d'intégrines  $\alpha 6\beta 4$  et de protéines BPAG2 (Bullous Pemphigoid Antigen-2) qui interagissent avec les composants de la matrice extracellulaire et sont liées aux filaments intermédiaires de la kératine par les plakines plectine et BPAG1 (Bullous Pemphigoid Antigen-1) (Jefferson et al., 2004).

### **III.2.3. Influence des adhésions sur la polarité cellulaire**

L'engagement des intégrines avec la matrice extracellulaire joue un rôle clé dans le contrôle du positionnement du noyau et du centrosome dans les cellules immobiles et migrantes (Etienne-Manneville et Hall, 2001; Théry et al., 2005; Peng et al., 2008). Ce positionnement étant un des indices les plus fiables dans l'estimation de la polarité cellulaire. Les jonctions serrées sont, comme nous l'avons vu, la clé de la polarité baso-apicale des cellules épithéliales, et sont susceptibles d'être impliquées dans le positionnement apical du centrosome (Müsch, 2004; Shin et al., 2006).

### **III.2.4. La signalisation associée à la polarité apico-basale**

Dans les cellules épithéliales, trois principaux complexes impliqués dans le maintien de la polarité cellulaire apico-basale ont été décrits : le complexe Crumbs : Crumbs-Pals1-Patj/Lin-7, et le complexe PAR : PAR3-PAR6-aPKC tous les deux apicaux, et le complexe Scribble : Lgl-Scribble-Dlg localisé au niveau des membranes basolatérales (Médina et al., 2002; Humbert et al., 2008; Lee et Vasioukhin, 2008).

Parmi ces trois complexes, nous allons détailler le complexe PAR, le mieux étudié dans le contexte de la polarité. Classiquement, les protéines considérées comme le noyau du complexe PAR incluent les deux protéines à domaine PDZ PAR3 et PAR6, en plus de la protéine kinase C atypique (aPKC). Le complexe PAR a été montré comme nécessaire à la mise en place et au maintien de la polarité apico-basale via son rôle dans la formation des jonctions (Hirose et al., 2002; Hutterer et al., 2004; Horikoshi et al., 2009). La trans-interaction des nectines, au niveau des contacts cellule-cellule, recrute c-Src au site d'interaction, et induit l'activation de Cdc42 et sa liaison au complexe PAR6/Apkc/Lgl. Celui-ci active aPKC, qui à son tour phosphoryle et désassocie Lgl. Le complexe GTP-Cdc42/PAR6/aPKC peut alors lier et phosphoryler PAR3, et en conséquence, il va s'associer aux nectines via PAR3. Ensuite, le complexe PAR3/PAR6/aPKC est transloqué des nectines aux JAM sur le domaine apical des jonctions, où il joue un rôle important dans la maturation des jonctions serrées (Miyoshi et Takai, 2005). La frontière entre le domaine apical et le domaine basolatéral dans les cellules épithéliales est mise en place par un mécanisme d'exclusion (Nagai-Tamai et al., 2002). Lgl subit une phosphorylation inactivatrice par aPKC, au niveau du domaine apical (Plant et al., 2003). Actif au niveau du domaine basolatéral uniquement, Lgl rentre alors en compétition avec PAR3 pour PAR6/aPKC (Yamanaka et al., 2006; Hutterer et al., 2004). De ce fait, le complexe PAR actif sera restreint au domaine apical et le complexe Scribble actif au domaine basolatéral (Plant et al., 2003). Par conséquent, ces domaines membranaires vont acquérir une identité unique qui est à la base de l'établissement de la polarité apico-basale dans les cellules épithéliales.

### **III.2.5 La division cellulaire asymétrique et l'intégrité épithéliale**

La division cellulaire asymétrique est essentielle pour le maintien de l'homéostasie du tissu épithélial. Quand une cellule souche se divise de manière asymétrique, elle génère deux cellules filles: une identique à elle-même et une autre avec un destin différent. La division cellulaire asymétrique repose d'une part sur l'asymétrie de distribution des déterminants du destin cellulaire et sur l'asymétrie de distribution des protéines de polarité, et d'autre part sur l'asymétrie d'orientation des centrioles et du fuseau mitotique (Knoblich, 2010). Des éléments

protagonistes émergents, issus en particulier de l'étude des neuroblastes chez la drosophile, indiquent que la division asymétrique fonctionnerait comme un mécanisme de suppression tumorale (Januschke and Gonzalez 2008). Lorsque les gènes de polarité sont délétés ou mutés, les neuroblastes se divisent d'une manière symétrique, ce qui conduit à des excroissances de tissus et à des tumeurs, qui ont des propriétés similaires aux cancers chez les mammifères (Januschke et Gonzalez, 2008). Chez les mammifères, probablement en raison de leur redondance, le rôle des protéines de polarité dans la régulation de la division cellulaire asymétrique a été plus difficile à élucider. Toutefois, les souris *knock-out* pour Lgl1 présentent des défauts dans la division asymétrique des cellules progénitrices neurales, ce qui entraîne une surprolifération et un défaut de différenciation (Klezovitch et al., 2004). Il y a quelques années, il a été démontré *in vivo* chez la souris, que PAR3 régule la division asymétrique des cellules progénitrices neurales, par le biais du contrôle de la voie de signalisation Notch (Bultje et al., 2009). Cette dernière étude a également montré que PAR3 est distribué de façon asymétrique dans les cellules filles, ce qui suggère que sa distribution subcellulaire régule le mode de division de la cellule progénitrice et la spécificité des cellules filles.

## Chapitre 4 : Aspects dynamiques du transport membranaire

### IV.1 Transport membranaire

La cellule est un système thermodynamique ouvert qui opère dans des conditions hors d'équilibre, c'est-à-dire qu'elle échange continuellement avec le milieu extérieur de la matière et du combustible. Mais la composition interne de la cellule ne peut varier que dans d'étroites limites sous peine de se mettre en danger; aussi, pour maintenir l'équilibre intracellulaire, la membrane cellulaire joue le rôle de barrière hautement sélective en imposant à chacune des substances qui la traversent un bilan positif ou négatif (Alberts et al., 2002). Ces échanges permettent à la cellule de maintenir des concentrations de solutés dans le cytoplasme différentes de celles du milieu extracellulaire

#### IV.1.1 Transport passif

Les bicouches lipidiques permettent à l'eau et aux petites molécules non polaires (oxygène, gaz carbonique) de pénétrer spontanément par diffusion simple. Elles sont également perméables à diverses molécules polaires, comme les ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ), les substances liposolubles et de nombreux métabolites cellulaires, qui ne traversent pas directement la membrane. Le transport passif est alors assuré soit par des canaux protéiques soit par des transporteurs mobiles, spécifiques, qui les font passer rapidement d'une face à l'autre de la membrane: ce procédé porte le nom de diffusion facilitée.

##### IV.1.1.1 Le transport par diffusion simple

La diffusion simple est définie comme la diffusion spontanée, non médiée, à travers la bicouche lipidique. Le sens de la diffusion résultante, au travers de cette bicouche, dépend des concentrations à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. La différence des concentrations d'une substance d'un côté à l'autre de la bicouche est le gradient de concentration.

La diffusion spontanée a lieu du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré, jusqu'à ce que la concentration soit à peu près la même de part et d'autre de la membrane: c'est l'équilibre (Sherwood, 2000).

La diffusion passive est régit par la première loi de Fick. La première loi de Fick est l'expression mathématique du transfert d'une substance visant à établir l'homogénéité de concentration entre deux milieux inégalement chargés en cette substance (vitesse de diffusion).

$$\text{FLUX} = J = -D \frac{dC}{dx} = \frac{dQ}{Sdt} = (D \Delta C)/h$$

$$\text{FLUX} = J = \frac{KDCs}{l}$$

avec :

$J$ , flux de principe actif par unité de surface et de temps (en mole/cm<sup>2</sup>/s ou en g/cm<sup>2</sup>/s)

$D$ , coefficient de diffusion du principe actif au sein du milieu.  $D$  représente la capacité de la substance à diffuser dans le milieu, ainsi que la résistance du milieu environnant (en cm<sup>2</sup>/s)

$C$ , concentration en principe actif (en mole/ml ou g/ml)

$X$ , distance de diffusion (en cm)

$Q$ , la quantité diffusante (en g)

$dC/dx$  correspond au gradient de concentration

$l$ , épaisseur de la membrane (en cm)

$\Delta C$ , différence de concentration à travers la membrane

$K$ , coefficient de partage.

Le signe négatif indique que le flux  $J$  s'exerce en sens opposé par rapport au gradient de concentration.

Cette diffusion des molécules au travers de la bicouche est définie par un coefficient de perméabilité  $P$ . Le flux d'une substance  $S$  à travers une bicouche lipidique est égal au produit du coefficient de perméabilité par le gradient de concentration :

$$\text{FLUX} = P \Delta C = P ([S]_{\text{ext}} - [S]_{\text{int}})$$

$P=KD/h$  est le coefficient de perméabilité de la substance au niveau de la membrane exprimé en cm/s.

La vitesse initiale ( $V$ ) à laquelle un soluté ( $S$ ) diffuse à travers une bicouche lipidique est directement proportionnelle au gradient de concentration d'un côté à l'autre de la membrane et inversement proportionnelle à l'épaisseur ( $l$ ) de celle-ci (Rawn, 1990; Bauer, 1993).

$$V = \frac{D([S]_{\text{ext}} - [S]_{\text{int}})}{l}$$

Le transfert des ions lors de cette diffusion passive se fait à travers des canaux. Les canaux ioniques sont des protéines transmembranaires capables de transporter plus d'un million d'ions par seconde. Cette vitesse de transport ionique élevée est essentielle pour les événements de signalisation rapide, tel que la production de potentiels d'action responsables de la transmission des signaux dans le système nerveux. Les canaux peuvent exister dans différents états conformationnels, certains « ouverts » et capables de transporter des ions, d'autres « fermés » ou « inactivés » qui en sont incapables (Sherwood, 2000; Borel et al., 1997).

La vitesse initiale de diffusion est une fonction linéaire du gradient de concentration dont la pente est le rapport du coefficient de diffusion (D) sur l'épaisseur. La plupart des petites molécules peuvent s'équilibrer par diffusion de chaque côté des bicouches lipidiques. Les molécules hydrophobes traversent assez rapidement, les petites molécules polaires sans charge, comme l'eau, l'éthanol diffusent aussi assez vite. Les molécules neutres de plus grande taille tel que le glucose diffusent assez lentement si bien que la cellule nécessite d'autres moyens que la diffusion passive pour se fournir en glucose.

Les ions comme le potassium ou le sodium diffusent très lentement à travers la bicouche phospholipidique et c'est par leur charge électrique que leur diffusion se produit. La cellule a un potentiel de membrane caractérisé par un léger excès de charges positives à l'extérieur et un léger excès de charges négatives à l'intérieur. Les ions principalement responsables du potentiel de membrane sont le sodium, le potassium, et les anions organiques (protéines) (Gougoux, 1998; Rawn, 1990).

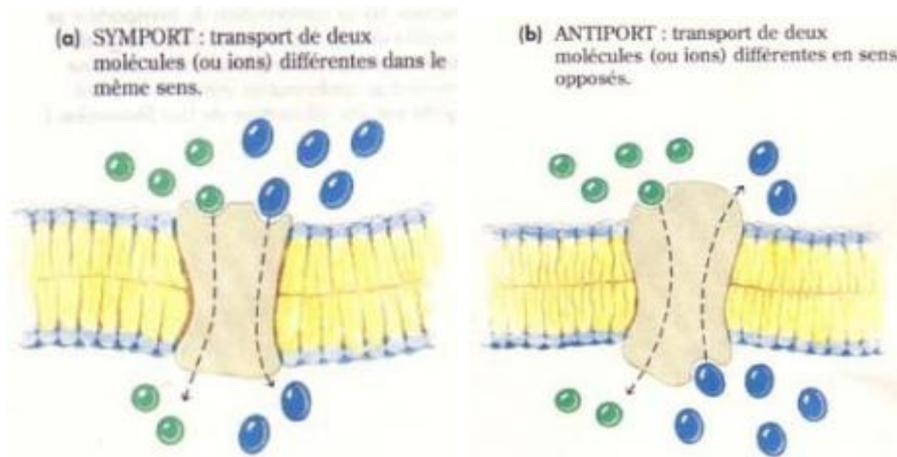
Elle se produit à travers la double couche lipidique des membranes; elle ne concerne donc pas les espèces chargées qui sont très lipophobes. La diffusion simple obéit à la loi de Fick. Les espèces vont donc des compartiments de plus forte concentration aux compartiments de plus faible concentration.

#### **IV.1.1.2 Le transport par diffusion facilitée**

Cette catégorie regroupe les transporteurs de types canaux et permet la diffusion facilitée d'un soluté au travers de la membrane sans nécessiter d'énergie. Son fonctionnement est très proche de celui de la diffusion passive et n'est différent que par la nature enzymatique de son mécanisme. Il existe cinq types de canaux entrant dans cette catégorie classés selon leur structure, fonction, site d'action et taille (Saier, 2000b; Busch et Saier, 2002). Une molécule peut ainsi pénétrer dans la cellule suivant son gradient de concentration. Ce système de transport est utilisé pour l'entrée des polyols à chaîne linéaire tels que le glycérol, le ribitol ou l'arabitol.

La diffusion facilitée, ou diffusion médiée par des transporteurs, est un autre moyen par lequel des molécules sont transportées à travers la membrane. La diffusion facilitée d'un électrolyte est entraînée, comme la diffusion passive, par le gradient électrochimique. La diffusion facilitée est médiée par des protéines membranaires intrinsèques qui véhiculent les molécules d'une face à l'autre de la bicouche phospholipidique. Chacun des transporteurs est spécifique d'une substance ou d'une famille de composés. Certains transporteurs chargent des molécules de deux types différents. Ils sont soit véhiculés dans le même sens c'est un co-

transport ou symport (a), ou ils sont véhiculés dans un sens contraire, il s'agit alors d'un contre-transport ou antiport (b) (Rawn, 1990).



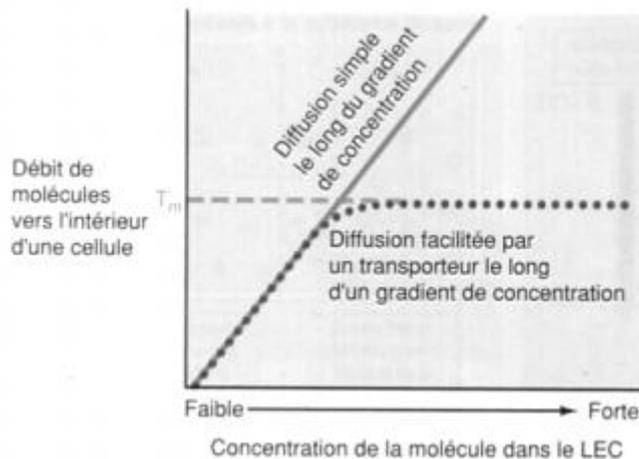
**Figure 19: Transport par symport (a) et par antiport (b) (Rawn, 1990)**

Le transporteur protéique oscille vraisemblablement entre deux conformations, l'une d'elles expose le site de fixation à la face externe de la membrane et l'autre se présente à la face interne. La liaison de l'électrolyte à un site exposé enclenche une modification structurale du transporteur protéique telle que l'électrolyte accède à l'autre face de la membrane. La libération du site par l'électrolyte rétablit le transporteur dans sa conformation initiale. Ce va-et-vient est réversible et le sens statistique du transfert est fixé par le gradient.

Le co-transporteur de sodium, potassium et de chlorure est présent dans la membrane plasmique de nombreuses cellules. Il représente un moyen d'entrée pour le potassium dont les cellules ont besoin. L'échangeur bidirectionnel ou antiport de sodium et d'ion hydrogène, présent dans toutes les cellules fait sortir un ion hydrogène et entrer un ion sodium. Les ions sodium sont accompagnés par des molécules d'eau, de telle sorte que cet antiport joue un rôle critique sur le contrôle du volume de la cellule. Il provoque aussi l'alcalinisation du cytoplasme. Divers facteurs de croissance et l'insuline provoquent l'entrée en fonction de l'antiport, en prélude aux divisions cellulaires. La cinétique de cette diffusion facilitée est différente de la diffusion passive.

Comme on peut le voir sur la figure 20 la diffusion passive augmente proportionnellement avec la concentration de l'ion dans le LEC (liquide extracellulaire), alors que la quantité de substance qui peut être transportée par diffusion facilitée est limitée. Il y a un nombre limité de sites accepteurs sur une membrane ce qui détermine un transport maximal et donc une saturation. De plus, il peut y avoir un phénomène de compétition entre

plusieurs substances voisines chimiquement (Rawn, 1990; Sherwood, 2000; Borel et al., 1997).



**Figure 20: Différence entre diffusion facilitée et diffusion simple (Sherwood, 2000)**

#### IV.1.2 Le transport actif

Le transport d'un soluté contre son gradient électrochimique n'est pas spontané. Dans la diffusion active, une source d'énergie servira à forcer un soluté d'un compartiment de faible concentration à passer dans un compartiment de forte concentration. Ce transport contre le gradient met aussi à contribution des transporteurs protéiques intégrés à la membrane (Rawn, 1990; Sherwood, 2000; Borel et al., 1997).

##### IV.1.2.1 Le transport actif primaire

Le transport actif primaire dépend de sources d'énergie primaire, comme l'hydrolyse de l'ATP (adénosine triphosphate), le transfert d'électrons ou la lumière.

L'un des cas le plus frappant de transport actif dans la cellule animale est l'antiport d'ions sodium et de potassium effectué par la pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase .

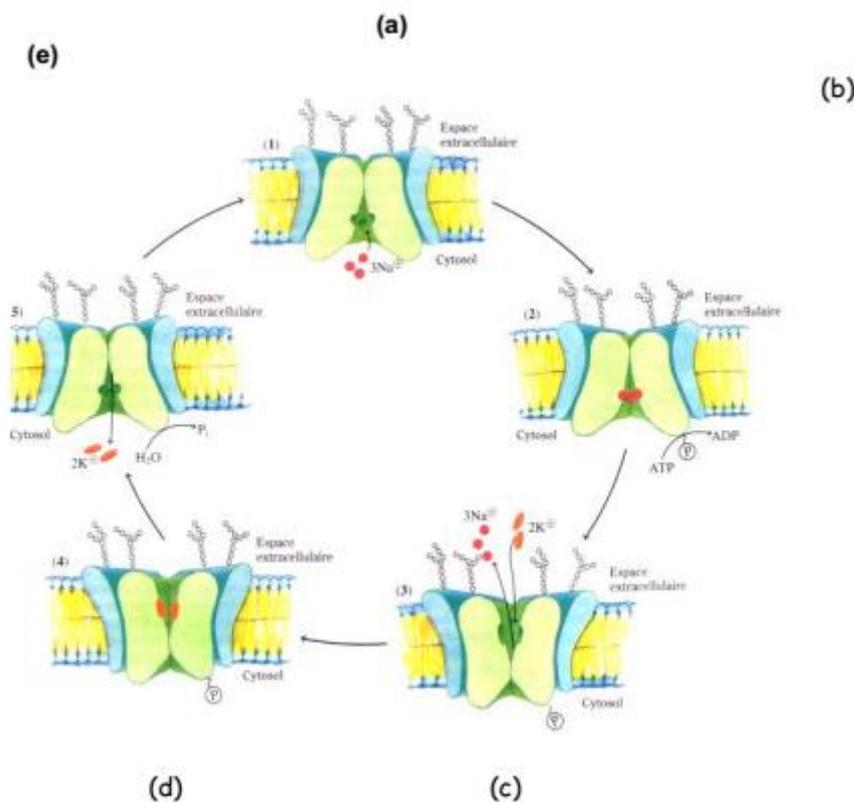
##### (a) La pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase

La pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase est une protéine membranaire intrinsèque représentant un tétramère constitué de deux sous-unités de tailles inégales, la sous-unité  $\alpha$  de masse moléculaire 112 kDa et la sous-unité  $\beta$  de masse moléculaire 50 kDa, chacune présente en deux exemplaires  $\alpha 2\beta 2$ . Ce sont deux glycoprotéines traversant intégralement la membrane.

La sous-unité appartient au groupe des glycoprotéines intégrales traversant la membrane par sept hélices  $\alpha$  hydrophobes tandis que la sous-unité comporte une seule hélice transmembranaire. Leurs substituants glucidiques, comme de toutes les glycoprotéines, sont situés à la face externe de la membrane plasmatique.

Le cycle catalytique et l'opération de pompage ionique de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase mettent en jeu un transfert de groupe phosphoryle et des changements de conformation de la protéine.

Le transport exige des ions sodium et de l'ATP dans le cytosol et des ions potassium dans le milieu extracellulaire. Comme on peut le voir sur la figure 21(a) trois ions sodium se fixent à la région  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase située du côté cytosolique alors qu'un transfert de groupe phosphoryle de l'ATP sur un résidu aspartate du flanc cytosolique débute. Les ions potassium ont tendance à retarder la fixation des ions sodium. Puis l'ADP est libérée et la pompe change de conformation, il y a changement d'une conformation caractérisée par une forte affinité pour le sodium et l'ATP en une autre forme dans laquelle le domaine de fixation des ions sodium passe à l'extérieur de la cellule tandis que l'affinité de la protéine à leur égard diminue (Figure 21b, 5c). Ces ions sont donc libérés hors de la cellule tandis que les ions potassium extracellulaires sont fixés sur un site qui est à cette phase à l'extérieur de la membrane et présente une forte affinité pour eux (Figure 21d). Le phosphate fixé à la protéine est alors hydrolysé, ce qui ramène le canal à sa position primitive, en remplaçant le site des ions potassium à l'intérieur de la membrane.



**Figure 21: Représentation de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase (Sherwood, 2000)**

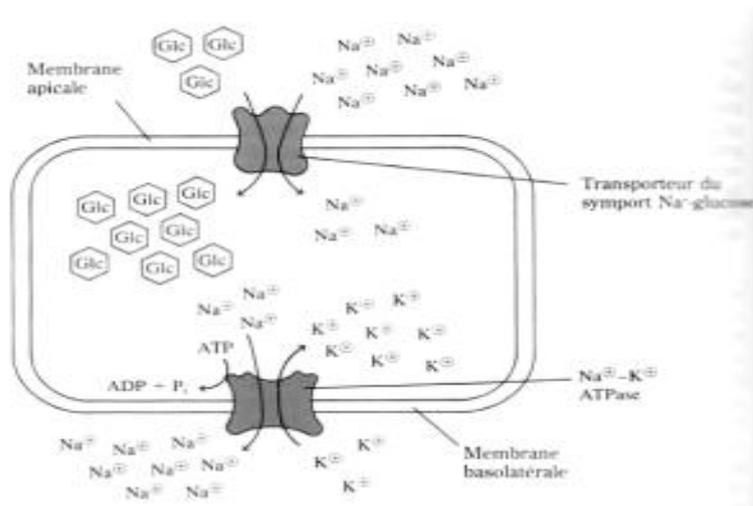
Ce site libère les ions potassium dans le cytoplasme car le retour à l'état initial a fait réapparaître l'affinité forte pour le sodium et faible pour le potassium (Figure 21 e). La fonction de cette enzyme est capitale si on en juge par le fait qu'elle dépense à elle seule le tiers de l'énergie mise en jeu par une cellule. Les différences de concentration des ions sodium et potassium entre le milieu intracellulaire et extracellulaire créent un gradient électrique, ce déséquilibre est en partie dû à la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase qui ramène deux ions potassium dans la cellule et expulse trois ions sodium. Chaque  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase hydrolyse environ 100 molécules d'ATP par seconde. Dans les cellules nerveuses comme nous l'avons vu précédemment le potentiel d'action après son passage, laisse un état ionique sensiblement changé, la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase restaure progressivement ces gradients altérés. Il faut beaucoup plus de temps pour que les ions sodiums et potassium reviennent à leur situation initiale sous l'effet de la pompe, qu'il n'en faut pour leurs déplacements passifs pendant le potentiel d'action. En réalité, les variations spectaculaires du potentiel transmembranaire pendant le potentiel d'action sont dues au déplacement d'un relativement faible nombre d'ions. L'ion potassium reste prédominant dans la cellule et le sodium reste essentiellement un ion extracellulaire. Les gradients de concentration de sodium et de potassium persistent donc de sorte que la répétition de potentiel d'action est possible sans que la pompe doive les restaurer en temps réel. Bien entendu, sans la pompe, la répétition de ces petits flux d'ions finirait par épuiser les gradients rendant impossibles la répétition de nouveaux potentiels d'action. A long terme la pompe est donc essentielle au maintien des gradients cellulaires. La pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase joue un rôle aussi important dans l'ajustement du volume cellulaire. Tout déséquilibre ionique d'un côté à l'autre de la membrane cellulaire entraîne une variation de la pression osmotique qui s'exprime par un gonflement ou une contraction de la cellule. Des molécules du cytosol, chargées et associées à des ions contribuent aussi à la pression osmotique. Cette pression interne est contre balancée par les ions extracellulaires, surtout le sodium et les chlorures. La diffusion des ions sodium et chlorures selon leur gradient, vers la cellule, augmente la pression osmotique dans la cellule et par là, son volume. Mais cet effet est équilibré par l'action de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase qui expulse les ions sodium de la cellule et comme cela tend à rendre le milieu intracellulaire plus négatif cela inhibe aussi l'entrée des chlorures. Tout ceci contribue à la régulation de l'osmolarité de la cellule. La pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase est aussi présente dans la paroi baso-latérale des cellules du tubule rénal, elle fait passer le sodium provenant de l'urine primitive vers les vaisseaux (réabsorption). Une réabsorption du sodium fait augmenter la pression artérielle. Enfin un stéroïde d'origine végétale, l'ouabaïne, inhibe la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase ce qui peut avoir

comme conséquence une augmentation du flux entrant des ions sodium et chlorures qui provoquent une augmentation de la pression osmotique jusqu'à l'éclatement des cellules (Stayer, 1992; Rawn, 1990; Sherwood, 2000; Borel et al., 1997).

#### **IV.1.2.2 Transport actif secondaire**

Le transport actif secondaire utilise l'énergie chimio-osmotique fournie par un gradient électrochimique d'ions ou de solutés créé par une différence de concentration de la molécule en question de chaque côté de la membrane. Généralement cette énergie est produite par la force protomotrice ou par un gradient d'ions sodium allant de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule. D'autres ions tels que le lithium et le potassium sont également capables de fournir un gradient électrochimique suffisant pour permettre ce type de transport. Le transport secondaire consomme généralement moins d'énergie qu'un transport actif primaire (Konings, 2006).

Le transport actif secondaire est entraîné par des gradients ioniques. Les gradients électrochimiques sont la source d'énergie libre utilisée pour le transport actif secondaire. Dans celui-ci, les molécules sont introduites dans la cellule contre leur gradient de concentration par couplage avec un flux intracellulaire d'ions qui suivent leur gradient de concentration. Ainsi, l'absorption de glucose par les cellules intestinales et rénales est elle-même couplée à la rentrée d'ions sodium dans la cellule. Ce transporteur est appelé transporteur de glucose entraîné par le sodium, car la force qui entraîne le glucose à remonter son gradient de concentration est le flux d'ions sodium qui passe du milieu où les ions sodium sont en plus forte concentration vers le milieu où ils sont le moins concentrés (Figure 22). Les ions sodium qui atteignent le cytoplasme par ce système de symport sont réexportées par la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase. Ce transporteur, appelé aussi SGLT1, permet donc l'entrée du glucose dans les cellules contre son gradient de concentration et fournit ainsi à la cellule un apport nécessaire à son bon fonctionnement ce qui ne serait pas le cas si le glucose pénétrait uniquement par simple diffusion (Stayer, 1992; Rawn, 1990; Sherwood, 2000; Borel et al., 1997).



**Figure 22 : Transport actif Glucose/Sodium (Rawn, 1990)**

### IV.1.3 Le transport vésiculaire

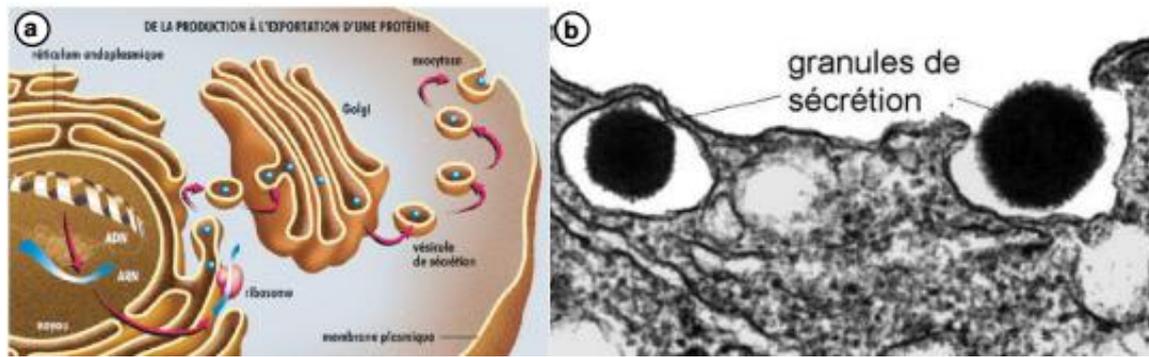
Le trafic cellulaire où les cellules ont également mis au point des méthodes pour transporter du matériel tel que des protéines ou des phospholipides qui sont trop volumineux pour traverser la membrane par des canaux ou des pompes. Ces transports peuvent se faire, soit entre le milieu extérieur et la cellule, soit entre différents organites d'une même cellule. Même si les principaux mécanismes du trafic intracellulaire sont dans l'ensemble connus et ont pu être mis en évidence expérimentalement (Kirchhausen, 2000), il reste encore beaucoup de zones d'ombre à éclaircir, notamment les différents acteurs nécessaires à chacune des étapes et leur mode d'action.

#### IV.1.3.1 Exocytose

L'exocytose est un mécanisme qui permet le passage de certaines substances de l'intérieur de la cellule vers le milieu extracellulaire. Avant d'être expulsées, ces substances sont enfermées dans un sac constitué d'une membrane qu'on appelle vésicule. L'étape suivante est la migration de cette vésicule en direction de la membrane plasmique puis sa fusion avec celle-ci. Pour terminer, le contenu de la vésicule se déverse alors dans le milieu extracellulaire (Figure 23).

#### IV.1.3.2 Endocytose

Inversement, les cellules internalisent diverses substances présentes dans le milieu environnant suivant trois voies: la pinocytose, l'endocytose via des récepteurs interposés et la phagocytose. Ces mécanismes d'endocytoses sont toujours compensés par un flux d'exocytose.



**Figure 23 : (a) Représentation schématique des principales voies du trafic intracellulaire.**

*Les voies de sécrétion et d'exocytose mettent en jeu le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. (b) Exocytose de vacuoles sécrétrices observée en microscopie électronique (d'après Alberts et al., 2002).*

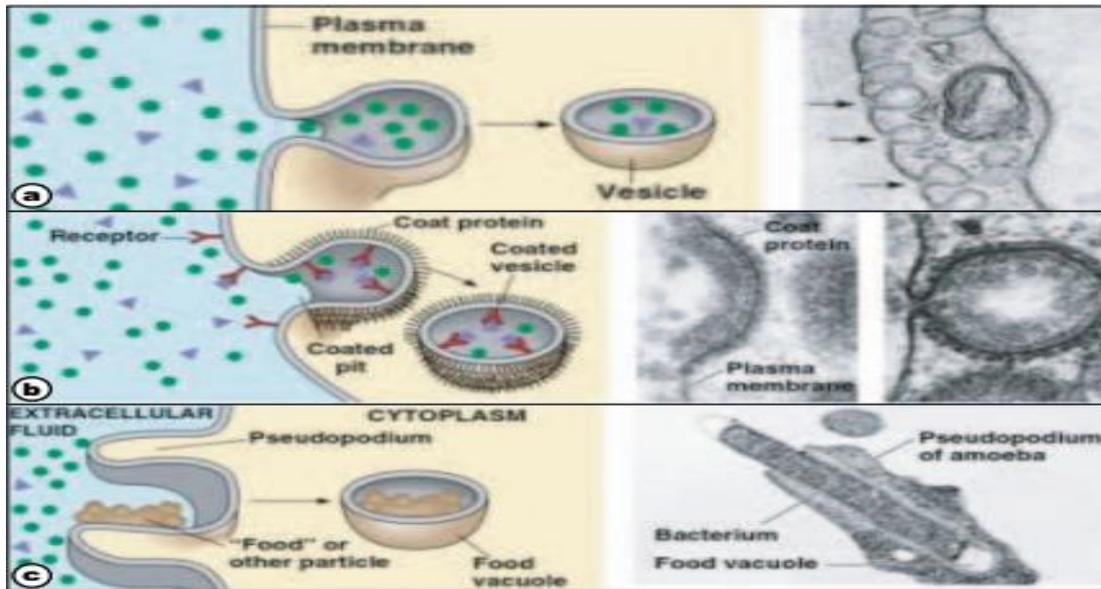
#### **IV.1.3.3 Pinocytose**

Dans la pinocytose, on met en place un petit repli de membrane, appelé caveolae (Pelkmans et Helenius, 2002), qui vient envelopper une gouttelette de liquide extracellulaire dans laquelle se trouvent des molécules dissoutes. Comme tous les solutés dissous dans les gouttelettes sont englobés sans discrimination, ce processus ne constitue pas une forme de transport spécifique (Figure 24 (a)). L'autre voie, l'endocytose par récepteurs interposés, nécessite la présence de récepteurs très spécifiques intégrés dans la membrane qui recrutent certaines substances, appelées ligands, en créant une invagination à cet endroit de la membrane. Prenons l'exemple de l'endocytose par voie clathrine. Ces molécules, qui sont liées à des récepteurs transmembranaires spécifiques au ligand à internaliser, peuvent polymériser spontanément en formant un petit panier qui enserre le puits d'endocytose avec une organisation polygonale (Sever et al., 2000). L'individualisation en vésicule se fait par le resserrement complet du col de ce puits. C'est un processus probablement très coûteux en énergie dans lequel intervient la dynamine. Celle-ci va former des sortes de spirales resserrant le col et va entraîner, par changement de conformation, le rapprochement des deux membranes et leur fusion. Au fur et à mesure que cette vésicule tapissée de clathrines se déplace dans le cytoplasme (avec l'aide du cytosquelette), il va y avoir déstructuration du manteau de clathrine donnant ainsi naissance à un endosome (Figure 24 (b)).

Cependant, au vue des connaissances actuelles, cette description reste encore hypothétique. Les détails du mécanisme de bourgeonnement-fission ne sont, en effet, pas encore bien compris. Parallèlement à l'observation de vésicules mantelées de clathrines, des études ont aussi montré que même des vésicules ne comportant aucun manteau protéique peuvent induire une endocytose dite de « phase fluide », indépendante de l'endocytose par voie clathrine. Certains travaux ont, en effet, mis en évidence que l'activité flippase pompant spécifiquement des phospholipides du feuillet externe vers le feuillet internes de la membrane plasmique génère une asymétrie en nombre de phospholipides qui est à l'origine de la vésicularisation initiant ce type d'endocytose (Farge et al., 1999; Rauch et Farge, 2000).

La cellule procède à la phagocytose en lançant ses pseudopodes autour d'une particule et en l'enveloppant dans un sac membraneux portant le nom de phagosome, autrement dit corps à manger (Figure 24 (c)). Le plus souvent, le phagosome va fusionner avec un lysosome contenant des enzymes digestives qui vont permettre d'hydrolyser le contenu de la vésicule. Nous pouvons citer comme exemple les macrophages (une variété de globules blancs) qui éliminent les bactéries et d'autres substances étrangères

La pinocytose existe dans tous les types cellulaires selon au moins quatre mécanismes de base (Benmerah et Lamaze, 2002) : (1) La macro-pinocytose, non spécifique et formant de larges vésicules d'environ 1µm de diamètre. (2) et (3) L'endocytose médiée par la clathrine et l'endocytose médiée par les cavéoles, pour toutes deux les vésicules sont formées au niveau de régions déterminées de la membrane où sont regroupés les récepteurs membranaires spécifiques et les vésicules formées sont de diamètre inférieur à 0,1 µm. (4) L'endocytose indépendante de la clathrine et des cavéoles induit également la formation de petites vésicules et se produit en continu dans la cellule.



**Figure 24 :** Les différentes voies de l'endocytose (les images de droite correspondent à des micrographies électroniques) : (a) Pinocytose de liquide et de solutés dans de petites vésicules. (b) Endocytose de vésicules médiée par des protéines dites de « manteaux » (comme les clathrines) qui sont liées à des récepteurs membranaires. (c) Une bactérie est en train de se faire absorber par un granulocyte. Adapté de <http://scidiv.bcc.ctc.edu/rkr/Biology201/lectures/Membranes/Membranes201.html>

## Chapitre 5 : Implication des membranes biologiques dans certains processus pathophysiologiques

### V.1 Pathologie liée au cadhérines

Les mécanismes adhésifs jouent un rôle crucial en biologie. Les cadhérines classiques constituent une des principales familles de molécules d'adhésion cellulaire dépendante du calcium. Ces glycoprotéines transmembranaires sont impliquées dans des interactions principalement homophiles. Ces interactions régulent des voies de signalisation impliquées dans de nombreux phénomènes biologiques.

Très peu de publications dans la littérature rapportent l'intérêt d'un dosage de VE-cadhérine sérique dans des pathologies où il y a modification des cellules endothéliales (angiogenèse tumorale, inflammation). Une étude réalisée en 2004, montre que le taux de VE-cadhérine plasmatique est corrélé avec l'athérosclérose liée aux affections cardiovasculaires (Soeki, 2004). Une étude réalisée en 2008 par l'équipe de Villasante montre que la VE-cadhérine sérique est augmentée chez des patientes présentant un syndrome d'hyperovulation sévère. Cette pathologie est observée suite à une stimulation ovarienne utilisée par exemple au cours de la Fécondation In Vitro (FIV). Les cas sévères incluent un développement de conditions critiques associées à des ascites, une augmentation des ovaires, des effusions pleurales et péricardiques, de l'hypovolémie et de l'hypotension avec oligurie (Schenker, 1978; Balasch, 1998; Villasante, 2008). De part l'exclusivité de son expression dans l'endothélium, la VE-cadhérine modifiée dans la voie VEGF peut représenter *in vivo* la signature d'un endothélium activé.

Plusieurs travaux scientifiques ont montré par différents dosages ELISA que la E-cadhérine sérique était quantitativement plus élevée que dans le sérum des patients sains et ce, dans le cas de carcinomes gastriques (Katayama, 1994; Gofuku, 1998; Chan, 2001 (a et b)), de mélanomes (Billion, 2006), de tumeurs pulmonaires (Charalabopoulos, 2006). De plus, cette quantité était plus importante pour les patients avec récurrence et présentant des métastases extra-hépatiques ou pulmonaires (Charalabopoulos, 2006). Très récemment, elle a été impliquée comme marqueur précoce de la sévérité dans la pancréatite aiguë (Sewpaul, 2009) ou encore de la néphropathie diabétique, cette fois analysée dans les urines des patients par western-blot et ensuite par un test ELISA sur 40 patients (Jiang, 2009).

La N-cadhérine, quant à elle, a été également retrouvée dans le sérum de patients atteints de divers cancer et une corrélation a pu être démontrée entre le taux de N-cadhérine

soluble et le taux de PSA (Prostate Specific Antigen) dans les sera de ces patients (Derycke, 2006).

## **V.2 Pathologie liée aux intégrines**

En tant que récepteurs membranaires impliqués dans les interactions cellule/matrice extracellulaire et cellule/cellule, les intégrines jouent un rôle dans l'adhérence, la migration et l'établissement de la néoangiogénèse tumorale. L'état d'adhérence optimale est régulée par une signalisation de type "inside-out" mais les intégrines sont aussi capables de générer des signaux en direction de la machinerie cellulaire "outside-in" aboutissant à l'expression de gènes et la régulation de nombreuses fonctions. Des expériences réalisées avec des anticorps dirigés contre les intégrines  $\alpha v \beta 3$  et  $\alpha v \beta 5$  ont montré leur participation à la néovascularisation et à l'angiogénèse tumorale (Hood et Cheresh, 2002; Hynes, 2002).

### **V.2.1 Rôle des intégrines dans la progression de la tumeur**

#### **- Expression des intégrines sur la tumeur 'in situ'.**

L'expression anormale des intégrines consiste initialement à un changement aussi bien qualitatif dans la structure d'un gène que quantitatif dans l'expression des produits de ce gène. Une altération d'un gène codant pour une intégrine ou un gène voisin peut expliquer l'apparition d'une tumeur. En d'autres termes, les gènes codant pour les intégrines peuvent agir soit comme des oncogènes et donc promouvoir la naissance des cellules cancéreuses, soit des antioncogènes, freinant la naissance et la croissance cancéreuse. A titre d'exemple, le défaut d'expression de  $\alpha 5 \beta 1$ , récepteur du fibronectine est incriminé dans l'apparition d'un phénotype malin (Plantefaber et Hynes, 1989; Giancotti et Ruoslahti, 1990). Dans la deuxième étude (Giancotti et Ruoslahti, 1990), le niveau d'expression de  $\alpha 3 \beta 1$  est pourtant normal. La transformation des gènes codant pour les récepteurs déficients rétablit le phénotype normal, et il est à penser que ces gènes jouent un rôle suppresseur. D'autres tumeurs sont par contre caractérisées par une surexpression des récepteurs, par exemple  $\alpha 5 \beta 1$  du fibronectine (Mortarini, 1992) et des intégrines à  $\alpha 6$  (Ching-Shwon et al., 1993). Très souvent, l'administration des anticorps monoclonaux contre ces intégrines surexprimées arrête l'évolution de la tumeur. La surexpression de tout gène caractérisant la genèse d'un cancer peut affecter secondairement l'expression des intégrines. En prenant l'exemple des carcinomes, les modifications dans l'expression des intégrines peuvent entraîner l'attachement des cellules à la membrane basale, notamment par une baisse de l'interaction cellule-cellule. Également pour les sarcomes, une expression exagérée des récepteurs du laminine et collagène de type IV est observée, facilitant l'adhérence des cellules à la

membrane basale (Dedhar et Saulnier, 1990). Cette adhérence entraîne un déclenchement du signal émis par les intégrines qui par différentes voies interconnectées entraîne le renforcement de plusieurs fonctions de la cellule associant les modifications morphologiques, le renforcement de l'adhésion à la membrane basale et contact avec la matrice extracellulaire, l'activation des gènes codant pour les protéinases, production par les cellules néoplasiques des enzymes protéolytiques dégradant la matrice extracellulaire et migration de ces cellules avec initiation de la néoangiogenèse. Les  $\beta 1$  intégrines sont reconnus comme médiant l'attachement aux constituants de la membrane basale, en particulier les collagènes type IV.

Les enzymes protéolytiques seraient favorisées par l'interaction cellule – matrice extracellulaire. Dans le travail de Werts et al., 1989, les auteurs montrent par blocage de l'adhésion des fibroblastes synoviaux au fibronectin à l'aide des anticorps contre les récepteurs au fibronectine, une induction en moins de 2 heures de l'expression des gènes codant pour les protéinases notamment les collagénases et stromyelinase. La synthèse et la régulation de ces protéinases paraissent spécifiques au tissu, faisant intervenir des enzymes endogènes comme le tissu inhibitory metalloproteinase (TIMP) (Aznavoorian , 1993).

D'autres études montrent une corrélation positive entre la libération des protéinases et l'agressivité tumorale (Wang et al., 1980; Akiyama et al., 1989). La reconnaissance des sites spécifiques des intégrines permet d'arrêter la progression tumorale par l'utilisation des peptides contenant des séquences d'acides aminés bloquant des sites. Des études montrent dans ces conditions que l'utilisation des anticorps monoclonaux contre certaines sous unités des intégrines en l'occurrence  $\beta 1$  intégrines et  $\alpha 6$  intégrines, bloquent la migration cellulaire (Dedhar et Saulnier, 1990; Springer, 1990).

La présence des cellules tumorales favorise le recrutement des cellules immunocompétentes (lymphocytes, macrophages). L'élimination ou la transformation de la cellule cancéreuse en cellule normale nécessite certains  $\beta 2$  intégrines présents à la surface des lymphocytes cytotoxiques et l'ICAM-1, une molécule d'adhésion présente à la surface des cellules néoplasiques (Springer, 1990). Dans le même ordre d'idées les lymphomes déficient en une  $\beta 2$  intégrine LFA-1 ne s'inséminent pas à distance. Il est établi que la perte des molécules ICAM-1 en rapport avec une surexpression de certaines intégrines sur les cellules tumorales leur permet de contourner la barrière immunologique.

Il existe deux formes de la maladie héréditaire associées à l'expression de l'intégrine  $\beta 2$  (une forme sévère et une forme modérée) (Anderson et al., 1985) et une forme liée à son activité (Hogg et al., 1999). Les leucocytes de personnes atteintes de LAD-1 sévère n'expriment pas de CD18. Puisque ces derniers ne peuvent migrer dans les tissus, ils

demeurent séquestrés dans le sang. Par conséquent, ces personnes, énormément sujettes aux infections microbiennes (surtout bactériennes), meurent souvent dans les deux premières années de leur vie si elles ne subissent pas de transplantation de la moelle osseuse. Chez les patients atteints de la forme modérée de la maladie, le CD18 est exprimé en faible quantité (entre 5 et 10% du niveau normal) (Anderson et al., 1985) et ils sont, eux aussi, la cible de plusieurs infections récurrentes. D'autres patients LAD-1 expriment de 40 à 60% du niveau normal de CD18, mais leurs intégrines  $\beta_2$  ne sont pas fonctionnelles. Elles sont incapables d'adopter une conformation de haute affinité et donc de lier leurs ligands. Cette incapacité découle de la présence d'une mutation dans la région MIDAS du CD18 (mutation S138P), alors que la mutation G273R empêche l'expression de la protéine (Hogg et al., 1999). Un autre déficit LAD, associé à l'activité des intégrines  $\beta_1$  et  $\beta_2$ , a été identifié dernièrement (Alon et al., 2003). Cette anomalie, nommée LAD-3, est causée par une mutation dans le gène codant pour la GTPase Rap-1, une protéine essentielle à la signalisation *inside-out* (Kinashi et al., 2004). Ces leucocytes expriment les intégrines, répondent à un gradient de chimiokines, ralentissent et roulent sur l'endothélium par l'intermédiaire des L-sélectines, mais sont incapables de s'attacher fermement aux cellules endothéliales et transmigrer dans les tissus périphériques. La mutation dans le gène de Rap-1 n'affecte pas l'expression de la protéine, mais altère sa capacité à charger le GTP.

### **V.2.2 Les maladies inflammatoires et auto-immunitaires**

Les maladies inflammatoires et/ou auto-immunitaires se caractérisent par l'apport important de cellules immunitaires dans les tissus périphériques normaux. Ce phénomène résulte de la reconnaissance des cellules du soi comme étant étrangères ou encore par l'identification par le système immunitaire de particules inoffensives comme étant dangereuses. L'hyperactivation du système immunitaire entraîne l'augmentation de l'expression des molécules d'adhésion et des intégrines, dont le LFA-1. L'asthme, l'ischémie et l'arthrite rhumatoïde sont des exemples de maladies où l'inhibition de l'interaction entre l'ICAM-1 et le LFA-1 procure des effets bénéfiques (Wan et al., 2003; Gauvreau et al., 2003). Le lupus érythémateux, une maladie auto-immunitaire où l'ADN est hypométhylé, entraîne une hyperactivation du système immunitaire. Chez ces patients, l'intégrine LFA-1 est surexprimée et constitutivement active. Cet effet résulte de l'hypométhylation du gène ITGAL, codant pour le CD11a, et contribue certainement à la progression de la maladie (Lu et al., 2002).

### **V.3 Pathologies liées aux Connexines**

Les surdités d'origine génétique représentent 50% des surdités pré-linguales, dont les  $\frac{3}{4}$  sont non syndromiques, en partie dues exclusivement à la transmission autosomique récessive du gène de la connexine 26.

#### **V.3.1 Connexines et pathologies humaines**

##### **V.3.1.1 Désordres génétiques associés aux connexines**

À ce jour, 9 gènes de Cxs ont été identifiés comme étant impliqués dans des maladies héréditaires humaines. Ces affections s'étendent de la surdité neurosensorielle non-syndromique relativement commune (Kelsell et al., 1997) à la dysplasie oculodentodigitale extrêmement rare (Paznekas et al., 2003).

La première pathologie identifiée associée à une perte de fonction des Cxs a été la maladie de Charcot-Marie-Tooth liée au chromosome X (Bergoffen et al., 1993). Ce syndrome héréditaire fait partie de la famille des neuropathies axonales ou démyélinisantes, caractérisées par une démyélinisation progressive des axones périphériques et une atrophie progressive des muscles des membres. La Cx32 n'assure plus sa fonction au niveau des cellules de Schwann, qui deviennent incapables de produire les gaines de myéline. La propagation de l'influx nerveux s'en trouve ainsi altérée. Plus de deux-cent soixante-dix mutations de la Cx32 ont été associées à cette pathologie, la plupart étant des mutations ponctuelles induisant des anomalies au niveau du trafic de la Cx32, de l'assemblage des JGs ou de la perméabilité des canaux (Krutovskikh et Yamasaki, 2000). Ces mutations (substitutions, non-sens, ou délétions) ne sont pas localisées sur des domaines particuliers du gène mais se situent principalement au niveau de la séquence codante.

Cinq Cxs ont été associées à des problèmes de surdité, les Cx26, Cx30, Cx31, Cx32 et Cx43. Les mutations de ces Cxs empêchent le bon fonctionnement de l'épithélium sensoriel tapissant le labyrinthe membraneux de l'oreille interne. Le flux des ions potassium entre les cellules ciliées externes et les cellules ciliées internes se trouve altéré, bloquant la dépolarisation des cellules internes et donc la perception du son. La Cx26 est impliquée dans plus de 50% des cas de surdité héréditaire non-syndromique. Plus de cents mutations ont été identifiées sur le gène de la Cx26. Certaines de ces mutations conduisent à la formation d'une Cx26 qui se rend à la surface cellulaire mais n'assure pas sa fonction, alors que d'autres induisent une localisation de la Cx26 dans des organelles intracellulaires. Dans tous les cas, il en résulte une absence de canaux fonctionnels pour l'échange des ions. Certaines mutations sont responsables d'une surdité neurosensorielle à transmission autosomique récessive

(DFNB1), d'autres induisent une surdité neurosensorielle beaucoup plus rare, de transmission autosomique dominante (DFNA3) (Gualandi et al., 2003).

De nombreuses mutations impliquées dans des cas de surdité sont également responsables de maladies dermatologiques (Thomas et al., 2003). Ainsi, des mutations de la Cx26 peuvent être associées au syndrome de Vohwinkel qui se caractérise par une surdité associée à une hyperkératose palmoplantaire (épaississement corné permanent de la paume des mains et des pieds). De même, certaines formes du syndrome KID, associant kératite, ichtyose et surdité sont dues à des mutations dominantes du gène de la Cx26 (Richard, 2003).

Le même type de pathologies peut être également associé à des mutations du gène de la Cx30. L'érythrokratodermie variabilis, caractérisée par la formation de plaques cutanées érythémateuses et une hyperkératose accompagnée de surdité légère, est associée à des mutations des Cx30.3 et Cx31 (Steel, 1998). Enfin, des mutations de la Cx30 sont associées au syndrome de Clouston, ou dysplasie ectodermique hydrotique, qui est caractérisé par une hyperkératose palmoplantaire, une dystrophie des ongles et une importante alopecie (Richard, 2003). Ces différents syndromes soulignent la complexité et l'importance des différentes Cxs et du couplage intercellulaire dans le fonctionnement normal du derme et de l'épiderme.

La transparence du cristallin est étroitement liée au couplage assuré par les jonctions communicantes (JG) entre l'épithélium de surface et les cellules filamenteuses sous-jacentes. Aussi, il n'est pas surprenant que des mutations de la Cx46 et de la Cx50 soient responsables chez l'homme de cataractes congénitales (Gerido et White, 2004). Des mutations du gène de la Cx43 sont responsables du syndrome de dysplasie oculodentodigitale, une maladie autosomique dominante caractérisée par de multiples atteintes dont la syndactylie (défaut de séparation des doigts), la dysmorphie craniofaciale, la surdité, et diverses anomalies ophtalmologiques et neurologiques, telles que des microphthalmies, des cataractes ou des microcéphalies. Ce syndrome s'accompagne souvent de problèmes cutanés dont la kératodermie palmoplantaire (Paznekas et al., 2003). Bien que la Cx43 soit la Cx la plus universelle du corps humain, les patients porteurs de mutations autosomales dominantes du gène de cette Cx ne présentent généralement que des anomalies physiques leur offrant une espérance de vie normale, relativement en bonne santé. Ceci suggère à nouveau le processus de compensation mis en place grâce à d'autres membres de la famille des Cxs. Ce processus ne semble pas avoir lieu chez la souris puisqu'une délétion du gène de la Cx43 est létale. Vingt-huit mutations de la Cx43 ont été identifiées dont une seule située sur l'extrémité C-terminale qui conduit à la perte de nombreux sites de phosphorylation et de domaines de liaison aux protéines (Pontillo et al., 2005).

Une mutation du gène de la Cx36 est responsable d'une forme particulière d'épilepsie héréditaire, dite myoclonique juvénile (Mas et al., 2004).

Certaines mutations de la Cx43 ou de la Cx40 peuvent conduire à des malformations cardiaques et à de l'arythmie (Britz-Cunningham et al., 1995).

#### **V.3.1.2 Connexines et cancers**

Les JGs sont fréquemment réduites ou absentes dans les cellules tumorales quel que soit le tissu d'origine, ce qui suggère une implication de la communication intercellulaire dans les processus de carcinogénèse (Mesnil et al., 2005). Loewenstein et Kanno (1966) rapportèrent la première évidence d'une relation entre les JGs et le cancer après avoir observé une perte de couplage électrique dans des hépatomes de rat. La perte de la capacité jonctionnelle peut être due à plusieurs phénomènes : la perte d'expression des Cxs, une localisation aberrante des Cxs, ou l'incapacité des cellules à former des canaux fonctionnels. La perte de la capacité jonctionnelle dans les cellules tumorales suggère fortement que pour progresser, les tumeurs en développement doivent s'isoler de l'influence directe du milieu environnant.

## Références bibliographiques

**Ahmed SN, Brown DA, London E. (1997).** On the origin of sphingolipid/ cholesterol-rich detergent-insoluble cell membranes: physiological concentrations of cholesterol and sphingolipid induce formation of a detergent-insoluble, liquid-ordered lipid phase in model membranes. *Biochemistry*, **36**, 10944-10953.

**Albert D Z. (2000).** Time and chance. Cambridge: Harvard University Press.

**Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. (1994).** "Biologie Moléculaire de la Cellule" Médecine-Sciences Flammarion, 3ème édition.

**Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. (2002).** Molecular biology of the cell. Garland Publishing Inc., New York, 4ème édition

**Almeida PF, Vaz WL, Thompso TE. (1992).** Lateral diffusion in the liquid phases of dimyristoylphosphatidylcholine/cholesterol lipid bilayers: a free volume analysis. *Biochemistry*, **31**: 6739-6747.

**Alon R, Aker M, Feigelson S, Sokolovsky-Eisenberg M, Staunton DE, Cinamon G, Grabovsky V, Shamri R and Etzioni A. (2003).** A novel genetic leukocyte adhesion deficiency in subsecond triggering of integrin avidity by endothelial chemokines results in impaired leukocyte arrest on vascular endothelium under shear flow. *Blood*, **101**(11): 4437-45.

**Anderson DC, Schmalsteig FC, Finegold MJ, Hughes BJ, Rothlein R, Miller LJ, Kohl S, Tosi MF, Jacobs RL, Waldrop TC. (1985).** The severe and moderate phenotypes of heritable Mac-1, LFA-1 deficiency: their quantitative definition and relation to leukocyte dysfunction and clinical features. *J Infect Dis*, **152**(4): p. 668-89.

**Anderson RG and Jacobson K. (2002).** A role for lipid shells in targeting proteins to caveolae, rafts, and other lipid domains. *Science*, **296**: 1821-1825.

**Ashwell G, Morell AG (1974).** the role of surface carbohydrates in the hepatic recognition and transport of circulating glycoproteins. *Adv. Enzymol.*, **41**: 99- 128.

**Aussenac F, Tavares M, Dufourc EJ. (2003).** "Cholesterol Dynamics in Membranes of Raft Composition: A Molecular Point of View from <sup>2</sup>H and <sup>31</sup>P Solid-State NMR." *Biochemistry*, **42**(6): 1383-1390.

**Balasz J, Fabregues F, Arroyo V. (1998).** Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a new insight into the pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod*, **13**: 2718-30.

**Barenholz Y. (1984).** Physiology of membrane fluidity. In Shinitzky, M. (ed.). CRC Press, Boca Raton, FL, Vol. 1, pp. 131-174.

**Bejan A. (2006).** Advanced engineering thermodynamics. Hoboken: John Wiley & Sons.

- Boltzmann L. (1872).** Further Studies on the Thermal Equilibrium of Gas Molecules. In S. G. Brush (Ed.), *The Kinetic Theory of Gases*. London: Imperial College Press.
- Borel M, Randoux LP, BELLON G, Monboisse G. (1997).** *Biochimie dynamique*. 2ème Ed. Paris : De Boeck Un., 275-291
- Brakebusch C, Fässler R. (2003).** “The Integrin-actin Connection, an Eternal Love Affair.” *The EMBO Journal*, **22** (10) : 2324–2333.
- Brown DA and Rose J.K. (1992).** Sorting of GPI-anchored proteins to glycolipid-enriched membrane subdomains during transport to the apical cell surface. *Cell*, **68**, 533-544.
- Brunhes B. (1909, 1991).** *La dégradation de l'énergie*. Paris: Champs - Flammarion.
- Bultje RS, Castaneda-Castellanos DR, Yeh Jan L, Jan Y-N, Kriegstein AR, Shi S-H (2009).** “Mammalian Par3 Regulates Progenitor Cell Asymmetric Division via Notch Signaling in the Developing Neocortex.” *Neuron*, **63** (2): 189–202.
- Bunge M. (2003).** *Emergence and convergence*. Toronto: Toronto University Press.
- Calderwood DA. (2004).** “Talin Controls Integrin Activation.” *Biochemical Society Transactions*, **32** (3): 434–437.
- Carnap R. (1977).** *Two Essays on Entropy*. Berkeley & Los Angeles: University of California Press.
- Çengel YA, Boles MA. (2006).** *Thermodynamics: An Engineering Approach* (5e ed.): McGraw-Hill.
- Cercignani C. (1998).** *Ludwig Boltzmann: The Man Who Trusted Atoms*. Oxford: Oxford University Press.
- Chan AO, Lam SK, Chu KM, Lam CM, Kwok E, Leung SY, Yuen ST, Law SY, Hui WM, Lai KC. et al. (2001).** Soluble E-cadherin is a valid prognostic marker in gastric carcinoma. *Gut*, **48**: 808-11.
- Chan JK, Wong CS. (2001).** Loss of E-cadherin is the fundamental defect in diffuse-type gastric carcinoma and infiltrating lobular carcinoma of the breast. *Adv Anat Pathol*, **8**: 165-72.
- Chatterjee S, Mayor S. (2001).** The GPI-anchor and protein sorting. *Cell Mol Life Sci*, **58**: 1969-1987.
- Cioci G. (2006).** thèse de doctorat. Université de Grenoble I – Joseph Fourier.
- Davey K. (2008).** "The Justification of Probability Measures in Statistical Mechanics". *Philosophy of Science*, **75**: 28-44.
- De Kruyff B. (1975).** Lipid-sterol interactions in liposomes and membranes. *Biochem. Soc. Trans.*, **3**: 618- 621.

**Delaunay J. (2001).** "Biochimie", Hermann ed. Paris

**Devaux PF. (1991).** Static and dynamic lipid asymmetry in cell-membranes. *Biochemistry*, **30**: 1163-1173.

**Diller A, Loudet C, Aussenac F, Raffard G, Fournier S, Laguerre M, Grélard A, Opella SJ, Marassi FM, Dufourc EJ. (2009).** "Bicelles: A natural 'molecular goniometer' for structural, dynamical and topological studies of molecules in membranes." *Biochimie*, **91**(6): 744- 51.

**Dugdale J S. (1996).** Entropy and its Physical Meaning. London: Taylor & Francis.

**Einstein A. (1905).** « Zur Elektrodynamik bewegter Körper », *Annalen der Physik*, **17**(10): 891–921.

**Etzkorn M, Swetlana M, Andronesi OC, Seidel K, Engelhard M Baldus M (2007).** "Secondary Structure, Dynamics, and Topology of a Seven-Helix Receptor in Native Membranes, Studied by Solid-State NMR Spectroscopy13." *Angewandte Chemie International Edition*, **46**(3): 459-462.

**Fermi E. (1936).** Thermodynamics. New York: Dover Publications.

**Fernandes F, Loura LMS, Fedorov A, Prieto M. (2006).** "Absence of clustering of phosphatidylinositol- (4,5)-bisphosphate in fluid phosphatidylcholine." *J Lipid Res*, **47**(7): 1521-5.

**Fisher RA. (1930).** The Genetical Theory of Natural Selection. Oxford: Clarendon Press.

**Frigg R, Werndl C. (2011).** Entropy - A Guide for the Perplexed. In C. Beisbart & S. Hartmann (Eds.), *Probability in Physics*. Oxford: Oxford University Press.

**Frigg R. (2008).** "Chance in Boltzmannian Statistical Mechanics". *Philosophy of Science*, **75**: 670-681.

**Gandhavadi M, Allende D, Vidal A, Simon S A, McIntosh TJ. (2002).** Structure, composition, and peptide binding properties of detergent soluble bilayers and detergent resistant rafts. *Biophys. J.*, **82**:1469–1482.

**Gauvreau GM, Becker AB, Boulet LP, Chakir J, Fick RB, Greene WL, Killian KJ, O'byrne PM, Reid JK, Cockcroft DW. (2003).** The effects of an anti-CD11a mAb, efalizumab, on allergen-induced airway responses and airway inflammation in subjects with atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol*, **112**(2): 331-8.

**Glaser M. (1993).** Lipid domains in biological membranes. *Current Opinion in Structural Biology*, **3**: 475-481.

**Goldstein S. (2001).** Boltzmann's Approach to Statistical Mechanics. In J. Bricmont, D. Dürr, M. C. Galavotti, G. Ghirardi, F. Petruccione & N. Zanghi (Eds.), *Chance in Physics. Foundations and Perspectives*. Berlin: Springer.

- Gougoux A. (1998).** La physiologie de rein et des liquides corporels. 1er Ed. Paris : Morin, 1-54
- Gould HH, Tobochnik J. (2010).** Thermal and Statistical Physics. Princeton: Princeton University Press.
- Greven A, Keller G, Warnecke G. (2010).** Entropy. In. Princeton: Princeton University Press.
- Gri G, Molon B, Manes S, Pozzan T, Viola A. (2004).** The inner side of T cell lipid rafts. *Immunol Lett*, **94**: 247–252.
- Helms JB, Zurzolo C. (2004).** Lipids as targeting signals: lipid rafts and intracellular trafficking. *Traffic*, **5**: 247-254.
- Hirose T, Izumi Y, Nagashima Y, Tamai-Nagai Y, Kurihara H, Sakai T, Suzuki Y. (2002).** “Involvement of ASIP/PAR-3 in the Promotion of Epithelial Tight Junction Formation.” *Journal of Cell Science*, **115** (12): 2485–2495.
- Hogg N, Stewart MP, Scarth SL, Newton R, Shaw JM, S.K. Law A, and El Klein N. (1999).** A novel leukocyte adhesion deficiency caused by expressed but nonfunctional beta2 integrins Mac-1 and LFA-1. *J Clin Invest*, **103**(1): 97-106.
- Hooper NM. (1999).** Detergent-insoluble glycosphingolipid/cholesterol-rich membrane domains, lipid rafts and caveolae. *Mol. Membr. Biol.*, **16**: 145-156.
- Horikoshi Y, Suzuki A, Yamanaka T, Sasaki K, Mizuno K, Sawada H, Yonemura S, Ohno S. (2009).** “Interaction Between PAR-3 and the aPKC-PAR-6 Complex Is Indispensable for Apical Domain Development of Epithelial Cells.” *Journal of Cell Science*, **122** (10): 1595–1606.
- Humbert PO, Grzeschik NA, Brumby AM, Galea R, Elsum I, Richardson EH. (2008).** “Control of Tumorigenesis by the Scribble|Dlg|Lgl Polarity Module.” *Oncogene*, **27** (55): 6888–6907.
- Hutterer, Andrea, Joerg Betschinger, Mark Petronczki, and Juergen A Knoblich. (2004).** “Sequential Roles of Cdc42, Par-6, aPKC, and Lgl in the Establishment of Epithelial Polarity During Drosophila Embryogenesis.” *Developmental Cell*, **6** (6): 845–854.
- Hynes RO. (2002).** “Integrins: Bidirectional, Allosteric Signaling Machines.” *Cell*, **110** (6): 673–687.
- Hynes RO. (2009).** “The Extracellular Matrix: Not Just Pretty Fibrils.” *Science* (New York, N.Y.) **326** (5957): 1216–1219.
- Januschke J, Gonzalez C. (2008).** “Drosophila Asymmetric Division, Polarity and Cancer.” *Oncogene*, **27** (55): 6994–7002.

**Jefferson J, Conrad J, Leung L and Liem R.K.H. (2004).** “Plakins: Goliaths That Link Cell Junctions and the Cytoskeleton.” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **5** (7): 542–553.

**Jodoin L. (2014).** "Knowledge as Inferred Truth". *Philosophical Writings*, 42.

**Karp (2010).** *Biologie cellulaire et moléculaire*, 3<sup>ème</sup> édition, de boeck page 132

**Kinashi T, Aker M, Sokolovsky-Eisenberg M, Grabovsky V, Tanaka C, Shamri R, Feigelson S, Etzioni A, Alon R. (2004).** LAD-III, a leukocyte adhesion deficiency syndrome associated with defective Rap1 activation and impaired stabilization of integrin bonds. *Blood*, **103**(3): 1033-6.

**Klezovitch O, Fernandez TE, Tapscott SJ, Vasioukhin V. (2004).** “Loss of Cell Polarity Causes Severe Brain Dysplasia in Lgl1 Knockout Mice.” *Genes & Development*, **18** (5): 559–571.

**Knoblich JA. (2010).** “Asymmetric Cell Division: Recent Developments and Their Implications for Tumour Biology.” *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, **11**(12): 849–860.

**Koolman J, Röhm KH. (1995).** "Atlas de poche de Biochimie", Médecine-Science Flammarion, 2ème édition.

**Kurzchalia TV, Parton RG. (1999).** Membrane microdomains and caveolae. *Curr Opin Cell Biol*, **11**: 424-431.

**Landsberg P T. (1956).** Foundations of Thermodynamics. *Rev. Mod. Phys.*, **28**: 363.

**Landsberg P T. (1985).** "Usages et limites du concept d'entropie". *Communications*, **41**: 63-80.

**Lange Y, Ye J, Rigney M, Steck TL. (1999).** Regulation of endoplasmic reticulum cholesterol by plasmic membrane cholesterol. *J. Lipid Res.*, **40**: 2264-2270.

**Lau T-L, Partridge AW et al. (2008).** "Structure of the Integrin beta Transmembrane Segment in Phospholipid Bicelles and Detergent Micelles". *Biochemistry*, **47**(13): 4008-4016.

**Le Guyader L. (2002).** Utilisation de sondes pyréniques *in vivo* pour caractériser l'état de phase global de la membrane plasmique de cellules eucaryotes. Application à la détection de la liaison d'agonistes au récepteur d'opioïde murin. Doctorat. Université Paul Sabatier - Toulouse III, Toulouse.

**Lebowitz JL. (1999).** "Microscopic Origins of Irreversible Macroscopic Behavior". *Physica*, **263**: 516-527.

**Lebowitz JL. (1999).** "Statistical Mechanics: A Selective Review of Two Central Issues". *Reviews of Modern Physics*, **71**: S346-S357.

**Lee AG. (2004).** How lipids affect the activities of integral membrane proteins. *Biochim. Biophys Acta*, **1666**: 62-87.

**Lee M, Vasioukhin V. (2008).** “Cell Polarity and Cancer--cell and Tissue Polarity as a Noncanonical Tumor Suppressor.” *Journal of Cell Science*, **121** (8): 1141–1150.

**Leff HS. (2007).** "Entropy, Its Language, and Interpretation". *Foundations of Physics*, **37**: 1744-1766.

**Léonard A, Escriive C, Laguerre M, Pebay-Peyroula E , Néri W, Pott T, Katsaras J , J. Dufourc E. (2001).** "Location of Cholesterol in DMPC Membranes. A Comparative Study by Neutron Diffraction and Molecular Mechanics Simulation ". *Langmuir*, **17**(6): 2019-2030.

**Lipowsky R, Sackmann E. (1995).** "Structure and Dynamics of Membranes" Handbook of Biological Physics. Elsevier, North Holland.

**Liscum L, Underwood KW. (1995).** Intrecellular cholesterol transport and compartmentation. *J. Biol. Chem.*, **270**: 15443-15446.

**Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. (2000).** "Molecular cell biology". W.H. Freeman, 4<sup>ème</sup> edition.

**Lu Q, Kaplan M, Ray D, Ray D, Zacharek S, Gutsch D, Richardson B. (2002).** Demethylation of ITGAL (CD11a) regulatory sequences in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, **46**(5): p. 1282-91.

**Médina E, Lemmers C, Lane-Guermonprez L, Le Bivic A. (2002).** “Role of the Crumbs Complex in the Regulation of Junction Formation in Drosophila and Mammalian Epithelial Cells.” *Biology of the Cell / Under the Auspices of the European Cell Biology Organization*, **94** (6): 305–313.

**Miyoshi J, Takai Y. (2005).** “Molecular Perspective on Tight-junction Assembly and Epithelial Polarity.” *Advanced Drug Delivery Reviews*, **57** (6): 815–855.

**Morrison M. (1997).** "Physical Models and Biological Contexts". *Philosophy of Science*, **64**: S315-324.

**Morrison M. (2007).** The Development of Population Genetics. In M. Matthen & C. Stephens (Eds.), *Philosophy of Biology*. Amsterdam: Elsevier.

**Müller I, Weiss W. (2005).** Entropy and Energy. A Universal Competition Heidelberg: Springer-Verlag.

**Müller I and Weiss W. (2008).** "Entropy and Energy – a Universal Competition". *Entropy*, **10**: 462-476.

**Müller I. (2007).** A History of Thermodynamics. The Doctrine of Energy and Entropy. Berlin, Heidelberg:Springer-Verlag.

**Munro S. (1995).** An investigation of the role of transmembrane domains in Golgi protein retention. *Embo J*, **14**: 4695-4704.

**Munro S. (2003).** Lipid rafts: elusive or illusive? *Cell*, **115**: 377-388.

**Müsch A. (2004).** “Microtubule Organization and Function in Epithelial Cells.” *Traffic* (Copenhagen, Denmark) **5** (1): 1–9.

**Nagai-Tamai Y, Mizuno K, Hirose T, Suzuki A and Ohno S. (2002).** “Regulated Protein-protein Interaction Between aPKC and PAR-3 Plays an Essential Role in the Polarization of Epithelial Cells.” *Genes to Cells: Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms*, **7** (11): 1161–1171.

**Nayal A, Webb DJ, Horwitz AF. (2004).** “Talin: An Emerging Focal Point of Adhesion Dynamics.” *Current Opinion in Cell Biology*, **16** (1): 94–98.

**Nomenclature CoB. (1978).** International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry Commission on Biochemical Nomenclature. The nomenclature of lipids. *J Lipid Res*, **19**: 114-129.

**Palade GE. (1953).** The fine structure of blood capillaries. *J. Appl. Phys.*, **24**.

**Park SH, Loudet C, Marassi FM, Dufourc EJ, Opella SJ. (2008).** Solid-state NMR spectroscopy of a membrane protein in biphenyl phospholipid bicelles with the bilayer normal parallel to the magnetic field. *Journal of Magnetic Resonance*, **193**(1):133–138.

**Pauling L, Corey RB. (1951).** The pleated sheet, a new layer configuration of polypeptide chains, *PNAS*, **37**: 251-256.

**Pauling L, Corey RB, Branson HR. (1951).** The Structure of Proteins: Two HydrogenBonded Helical Configurations of the Polypeptide Chain. *PNAS*, **37**: 205-211.

**Peng H, Shah W, Holland P, Carbonetto S. (2008).** “Integrins and Dystroglycan Regulate Astrocyte Wound Healing: The Integrin Beta1 Subunit Is Necessary for Process Extension and Orienting the Microtubular Network.” *Developmental Neurobiology*, **68** (5): 559–574.

**Penrose O. (1970).** Foundations of statistical mechanics. A deductive treatment. Oxford: Pergamon Press.

**Pike LJ. (2004).** Lipid rafts: heterogeneity on the high seas. *Biochem J*, **378**: 281-292.

**Pike LJ. (2006).** Rafts defined. *The Keystone Symposium on Lipid rafts and cell function*, Steamboat Springs, Colorado.

**Planck M. (1933, 1963).** L'image du monde dans la physique moderne. Genève: Gonthier.

**Planck M. (1945).** Treatise on Thermodynamics. New York: Dover Publications.

**Plant PJ, Fawcett JP, Lin DCC, Holdorf AD, Binns K, Kulkarni S, Pawson T. (2003).** “A Polarity Complex of mPar-6 and Atypical PKC Binds, Phosphorylates and Regulates Mammalian Lgl.” *Nature Cell Biology*, **5** (4): 301–308.

**Porn MI, Slotte JP (1995).** Localization of cholesterol in sphingomyelinase-treated fibroblasts. *Biochem. J.* **308**: 269-274

**Provine WB. (1971, 2001).** The origins of theoretical population genetics: with a new afterword. Chicago: University of Chicago Press.

**Purves WK, Sadava D, Orians GH, Heller HC. (2003).** Life: the science of biology. 7ème edition.

**Rajendran L, Simons K. (2005).** Lipid rafts and membrane dynamics. *J Cell Sci*, **118**: 1099-1102.

**Rajendran L, Masilamani M, Solomon S, Tikkanen R, Stuermer CA, Plattner H, Illges H. (2003).** Asymmetric localization of flotillins/reggies in preassembled platforms confers inherent polarity to hematopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**: 8241-8246.

**Ramstedt B, Slotte JP. (2002).** Membrane properties of sphingomyelins. *FEBS Lett*, **531**: 33-37.

**Rawn JD. (1990).**Traité de biochimie 1èreEd. Bruxelles :De Boeck , 1023-1035

**Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Jackson RB. (2005, 2011).** Biology (9e ed.). San Francisco: Pearson Benjamin Cummings.

**Rietveld A, Simons K. (1998).** The differential miscibility of lipids as the basis for the formation of functional membrane rafts. *Biochim Biophys Acta*, **1376**: 467-479.

**Sanders CR, Oxenoid K. (2000).** "Customizing model membranes and samples for NMR spectroscopic studies of complex membrane proteins." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, **1508**(1-2): 129-145.

**Scheiffele P, Roth MG, Simons K. (1997).** Interaction of influenza virus haemagglutinin with sphingolipid-cholesterol membrane domains via its transmembrane domain. *Embo J*, **16**: 5501-5508.

**Schenker JG, Weinstein D. (1978).** Ovarian hyperstimulation syndrome: a current survey. *Fertil Steril*, **30**: 255-68.

**Schneider ED, Kay JJ. (1994).** "Life as a Manifestation of the Second Law of Thermodynamics". *Mathematical and Computer Modelling*, **19**: 25-48.

**Schnitzer JE, McIntosh DP, Dvorak AM, Liu J, Oh P. (1995)** Separation of caveolae from associated microdomains of GPI-anchored proteins. *Science*, **269**: 1435-1439.

**Sethna JP. (2011).** Statistical Mechanics: Entropy, Order Parameters, and Complexity. Oxford: Clarendon Press.

**Sharma P, Sabharanjak S, Mayor S. (2002).** Endocytosis of lipid rafts: an identity crisis. *Semin Cell Dev Biol*, **13** : 205-214.

**Shechter E. (1993).** " Biochimie et Biophysique des membranes" 2nd ed. Masson.

**Sherwood I. (2000).** Physiologie humaine. 2ème Ed. Paris: De Boeck Un., 37-70

**Shin K, Fogg VC and Margolis B. (2006).** "Tight Junctions and Cell Polarity." *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, **22**: 207–235.

**Silvius JR. (2003).** Role of cholesterol in lipid raft formation: lessons from lipid model systems. *Biochim Biophys Acta*, **1610**: 174-183.

**Simons K, Ikonen E. (1997).** Functional rafts in cell membranes. *Nature*, **387**: 569-572.

**Simons K, Toomre D. (2000).** Lipid rafts and signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **1**: 31- 39.

**Simons K, van Meer G. (1988).** Lipid sorting in epithelial cells. *Biochemistry*, **27**: 6197-6202.

**Smaby JM, Momsen M, Kulkarni VS, Brown RE. (1996).** Cholesterol-induced interfacial area condensations of galactosylceramides and sphingomyelins with identical acyl chains. *Biochemistry*, **35**: 5696-5704.

**Smart EJ, Graf GA, McNiven MA, Sessa WC, Engelman JA, Scherer PE, Okamoto T, Lisanti MP. (1999).** Caveolins, liquid-ordered domains, and signal transduction. *Mol Cell Biol*, **19**: 7289-7304.

**Soeki T, Tamura Y, Shinohara H, Sakabe K, Onose Y, Fukuda N. (2004).** Elevated concentration of soluble vascular endothelial cadherin is associated with coronary atherosclerosis. *Circ J.*, **68**: 1-5.

**Stayer L. (1992).** La biochimie de Lubert Stayer 3ème Ed. Paris : Flammarion, 950-960

**Swamy MJ, Marsh D, Anbazhagan V, Ramakrishnan M. (2002).** Effect of cholesterol on the interaction of seminal plasma protein, PDC-109 with phosphatidylcholine membranes. *FEBS Lett.* **528**: 230-234.

**Talbott CM, Vorobyov I, Borchman D, Taylor KG, DuPre DB, Yappert MC. (2000).** Conformational studies of sphingolipids by NMR spectroscopy. *Biochim Biophys Acta*, **1467**: 326-337.

**Thomson W. (1882).** Mathematical and Physical Papers. Volume I. Cambridge: Cambridge University Press.

**Thorn H, Stenkula KG, Karlsson M, Ortegren U, Nystrom FH, Gustavsson J, Stralfors P. (2003).** Cell surface orifices of caveolae and localization of caveolin to the necks of caveolae in adipocytes. *Mol Biol Cell*, **14**: 3967-3976.

**Turner JS. (2000).** The extended organism: the physiology of animal-built structures. Cambridge/Londres: Harvard University Press.

**Uffink J. (2007).** Compendium of the foundations of classical statistical physics. In J. Butterfield & J. Earman (Eds.), *Philosophy of Physics. Part B*. Amsterdam: Elsevier.

**Van Meer G. (2005).** Cellular lipidomics. *Embo J*, **24**: 3159-3165.

**Varma R, Mayor S. (1998).** GPI-anchored proteins are organized in submicron domains at the cell surface. *Nature*, **394**: 798-801.

**Vaz WL, Almeida P, (1993).** Phase topology and percolation in multi-phase lipid bilayers: is the biological membrane a domain mosaic? *Current Opinion in Structural Biology*, **3**: 482-488.

**Villar AV, Goñi FM, Alonso A. (2001).** "Diacylglycerol effects on phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity and vesicle fusion." *FEBS Lett*, **494**: 117-120.

**Villasante A, Pacheco A, Pau E, Ruiz A, Pellicer A, Garcia-Velasco JA. (2008).** Soluble vascular endothelial-cadherin levels correlate with clinical and biological aspects of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod*, **23**: 662-7.

**Wan MX, Schramm R, Klintman D, Welzenbach K, Weitz-Schmidt G, Thorlacius H. (2003).** A statin-based inhibitor of lymphocyte function antigen-1 protects against ischemia/reperfusion-induced leukocyte adhesion in the colon. *Br J Pharmacol*, **140**(2): 395-401.

**Wang TY, Silvius JR. (2003).** Sphingolipid partitioning into ordered domains in cholesterol-free and cholesterol-containing lipid bilayers. *Biophys J*, **84**: 367-378.

**Wehrl, A. (1978).** "General properties of entropy". *Review of Modern Physics*, **50**.

**Wehrl, A. (1991).** "The Many Facets of Entropy". *Reports on Mathematical Physics*, **30**: 119-129.

**Yamada E. (1955).** The fine structure of the gall bladder epithelium of the mouse. *J Biophys Biochem Cytol*, **1**: 445-458.

**Yamanaka T, Horikoshi Y, Izumi N, Suzuki A, Mizuno K, Ohno S. (2006).** "Lgl Mediates Apical Domain Disassembly by Suppressing the PAR-3-aPKC-PAR-6 Complex to Orient Apical Membrane Polarity." *Journal of Cell Science*, **119** (10): 2107–2118.

**Yeagle PL. (1985).** Cholesterol and the cell membrane. *Biochim Biophys Acta*, **822**: 267-287.

**Yeagle PL. (1985).** Cholesterol and the cell membrane. *Biochim. Biophys. Acta*, **822**: 267-287.

**Yusuf-Makagiansar H, Anderson ME, Yakovleva TV, Murray JS, Siahaan TJ. (2002).** Inhibition of LFA-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1 as a therapeutic approach to inflammation and autoimmune diseases. *Med Res Rev*, **22**(2): 146-67.

**Zachowski A. (1993).** Phospholipids in animal eukaryotic membranes – transverse asymmetry and movement. *Biochemical Journal*, **294**: 1-14.