UE PHYSIOLOGIE

Étude de la physiologie rénale

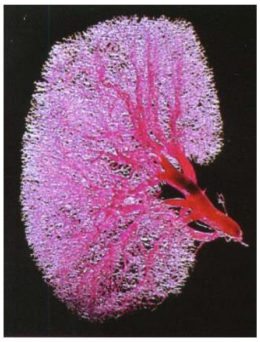
Cours du 28/03/2013

Introduction

Le rein est un organe qui est responsable de plusieurs fonctions :

- Maintien de l'équilibre/homéostasie des constantes physiologiques → **pH** (balance acide-base), **osmolarité** et volume des fluides du corps , **balance des electrolytes**.
- Excrétions → déchets de métabolisme (urée créatinine a lactique, ms aussi sub exogenes comme les medicaments pesticides produits chimiques …)
- Maintien des cstes homéostatiques/de pression sanguine → sys RAA, contrôle de la natrémie, contrôle de la volémie
- Fonction endocrine → EPO qui stimule la synthèse des GR par la moelle osseuse, activation de la vitamine D (responsable de l'homéostasie du Calcium), rénine (synthétisée au niveau de la macula densae), prostaglandines
- Fonction métabolique → Seul organe ac le foie a pouvoir fabriquer du glucose par la NGG. En cas de jeune prolongé il peut assurer jusqu'a 50% de NGG

Structures élémentaires du rein que l'on peut séparer en 4 parties.



- Glomérule → Sert a la filtration glomérulaire, Il y en a 1 million/rein

Présente 3 types de cellules : C endothéliales, C épithéliales (podocytes /C parietales), C mésangiales = soutien du tissu

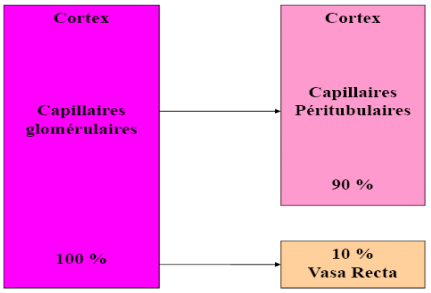
- Vaisseaux → 4 structures A.Afférente capillaires A.Efférente et vasa recta

Le réseau sanguin rénal est **spécifique unique complexe caractéristique**...

- Tubules → Avec ses 3 segments : prox distal collecteur
- Interstitium/parenchyme (tout ce qui reste)→ rôle de soutien, matrice des fibroblastes

Le rein est un organe tres irrigué, plus que le cerveau (15%) et le cœur (5%) puisque 20% du débit cardiaque passe ds le rein (débit cardique = 5L/Min) pour un poids d'environ 150g.

On peut différenier 2 zones d'irrigation au niveau du rein :
90% du sg qui reste au niveau du cortex : capillaires péritubulaires
10% au niveau du vasa recta qui longe l'anse de Henlé



Distribution du débit sanguin rénal

Rappels :

La **pression hydrostatique** des vaisseaux est particulière dans le rein, différente du reste de l'organisme. La pression sanguine chute du cœur (100mmHg) a la périphérie (60mmHg) au niveau du glomérule.

- *Dans le capillaire glomérulaire*, **la pression est très élevée (60mmHg) par rapport aux capillaires des autres organes (35mmHg) : favorise la filtration.** De plus, et c'est une particularité du rein, celle-ci reste constante ce qui permet de maintenir une pression nette de filtration dans le sens de la sortie

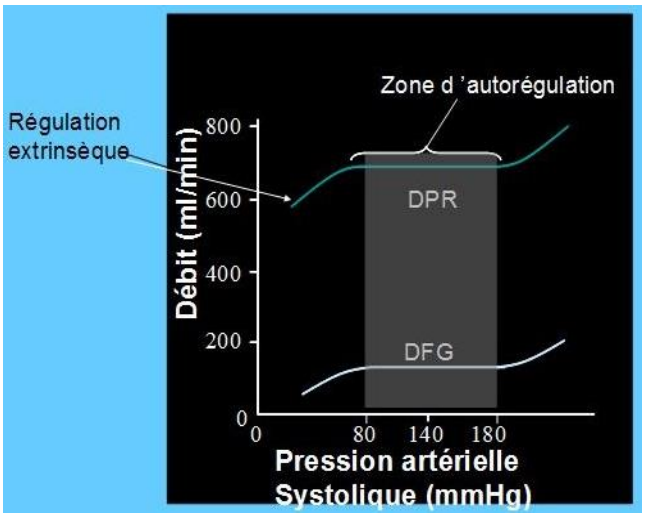
- *Le long du capillaire glomérulaire*, la pression ne baisse pratiquement pas: très peu de résistance à l'écoulement.

- Après *le glomérule* on va avoir **une chute de la pression a 10mmHg au niveau des capillaires péri-tubaires** (par un système de shunt en série qui dilue la pression sanguine). Cette pression est plus faible que dans les autres organes : **favorise la réabsorption.** C'est aussi une spécificité rénale → C'est a cause de ces différences de pression que le plasma sort du capillaire pour rentrer ds le rein ; c'est cela qui permet les échanges.

Donc récap. Dans le capillaire glomérulaire → pression stable et élevée 60mmHg qui permet la sortie d'eau du

glomérule vers le néphron. Au niveau des cap/ vasa recta → faible pression sanguine qui permet le retour d'eau vers la circulation sanguine.

Pour maintenir une pression stabilisée a 60mmHg, on a a l'entrée et a la sortie (AE, AA) : des artérioles qui sont très élastiques (vasodilatation / vasoconstriction) ce qui permet de garder une pression sanguine stable selon les besoins. Grâce a cette régulation / autoreguation (car c'est le rein lui même qui s'adapte en ajustant les résistances a l'écoulement) → la pression reste stable malgré les variations de PA dans le but de maintenir une pression constante et donc un DFG constant.



DFG sera donc toujours stable ainsi que DPR (débit plasmatique rénal)
Cette valeur physiologie va nous permettre d'évaluer l'état de santé du rein.

DFG = Kf x PNF

Kf (coeff perméabilité mL/min/mmHg) = 12mmHg
PNF (pression nette de filtration en mmHg) → différences de pression hydrostatique osmotiques etc de part et d'autre du glomérule et de la capsule) = 10mmHg

Et donc on calcule **DFG = 120 ml/min** que

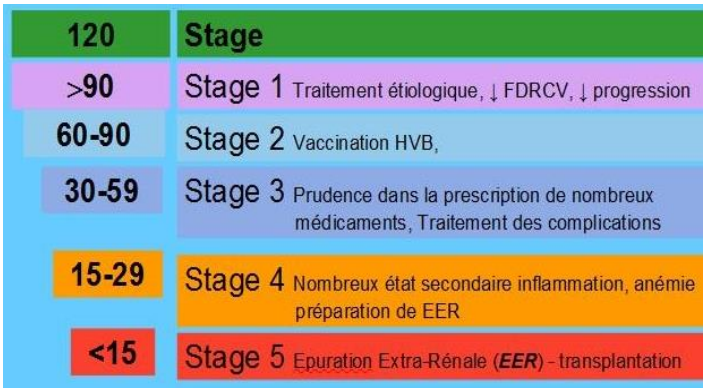
ce qui veut dire que le plasma d'un individu (d'à peu près 60kilos) est épuré en moyenne épuré *60 fois par jour.*

Tout ça pour dire que le moindre petit problème au niveau du rein va avoir des conséquences importantes..

METHODES D'ETUDE DE LA FONCTION RENALE

Comment on estime la fonction rénale chez un individu ?

On mesure le débit de filtration glomérulaire qui nous permet d'avoir une idée du fonctionnement du rein grâce à ce Tableau de RIFLE :



On mesure le flux plasmatique rénal:
FSR=FPR/1-hte
flux sanguin rénal par l'inverse de l'hématocrite = flux plasmatique rénal
On mesure ça avec un composé spécifique qui est l'acide **para-aminohippurique** et qui permet la mesure du Débit plasmatique rénal.

On évalue les fonctions tubulaires :
(dans l'IRA insuffisance rénale aigue ++) → en mesurant l'excrétion fractionnelle (part de l'excrétion d'anions par rapport a la quantitée qui est filtrée) et la comparant avec les excrétions fonctionnelles normales connues

- permet l'estimation du pouvoir de réabsorption proximale
- du pouvoir de concentration dilution des urines
- du pouvoir d'acidification des urines

On évalue l'atteinte des fonctions tubulaires dans l'insuffisance rénale :

– Il est possible d'évaluer l'atteinte tubulaire par toute une série de biomarqueurs précoces (NAG KIM NGAL.. → servent a identifier l'état de santé du rein)
– Il est possible d'évaluer l'atteinte fonctionnelle :EF Na^+, urée, ac urique, doppler …
– il existe également beaucoup de petites protéines (béta$_2$ microglobuline ou enzymes comme les amylases) qui sont toutes réabsorbées en temps normal donc on peut les doser et si on les retrouve ds les urines on peut en déduire qu'il y a un problème.

On évalue la protéinurie → On se sert du ratio alb/creatinine ou albuminurie des 24h pour voir si il y a une atteinte tubulaire/ glomérulaire.

Il y a donc tout un tas d'identifiants pour diagnostiquer une atteinte rénale..

LA CLAIRANCE

***def* :** mesure la capacité de l'organisme a éliminer une substance après quelle ait atteint la circulation générale
Les principaux organes épurateurs sont connectés **en parrallèle**
Les 2 principaux organes sont le foie + le rein, les clairances sont **additives** : Cl tot = Cl rein + Cl foie..

La clairance **rénale** est une mesure physiologique qui évalue l'excrétion d'une substance filtrée réabsorbé et/ou sécrété par le rein.
C'est un volume de plasma virtuel épuré par unité de temps par le rein rapporté a une surface corporelle. (1,73m² chez l'homme) ex : Si volume de plasma fictif = 1L, clairance = 1L …
Le pouvoir d'épuration augmente quand la clairance augmente.

Clairance = Volume de Plasma totalement épuré de la substance x par unité de temps

$$C_x = \frac{U_x \times V_u}{P_x}$$

C_x = Clairance de **x**
U_x = Concentration urinaire de **x**
V_u = Débit urinaire
P_s = Concentration plasmatique de **x**

On s'en sert pour trouver la valeur du DFG
Conditions pour que DFG = Cl :
- Molécules uniquement filtrées/éliminées par le rein
- Pas de réabsorption ni de sécrétion
- Absence de fixation aux protéines plasmatiques → reste coincée …
- Pas d'excrétion extra-rénale
- Pas de métabolisme / de synthèse tubulaire..

Inuline et créatinine remplissent toutes deux ces conditions →

Cl c

La créatinine est un marqueur endogène et l'inuline (polysaccharide végétal) est un marqueur exogène.

Pourquoi la clairance est-elle égale au débit de filtration glomérulaire ? Démonstration :

Le concept de clairance rénale repose sur la loi de conservation de masse à savoir que:

** **la quantité d'une substance filtrée par le rein** **[P] x DFG ,**

où **[P] =** la concentration plasmatique de cette substance et où **DFG** = la filtration glomérulaire

** **est égale à la quantité éliminée dans l'urine** **[U] x V,**

où **[U]** = la concentration urinaire de la substance en question et où **V =** le débit urinaire

[P] x DFG = **[U] x V** → **DFG = [U] x V / [P]**

Donc quand on a un marqueur qui suit les conditions précédemment citées, le produit filtré = produit excrété donc on peut appliquer cette formule. (créatinine et inuline). La filtration glomérulaire peut être ainsi calculée très simplement puisque la clairance d'une substance librement filtrée et complètement éliminée par le rein, est égale au débit de filtration glomérulaire.
La clairance de l'inuline ou de la créatinine donne donc le débit de filtration glomérulaire :)
(C'est pourquoi on les utilise pour les mesures)

Grâce à cette clairance de référence on peut savoir et comparer la clairance de référence (120mL par min), à la clairance du sodium par exemple (la clairance du sodium est très faible car on le réabsorbe à 99%)

Si Clairance de x = Cl inuline : la substance est **ni sécrété, ni absorbé**
Si Cx > Ci : la substance est filtrée et **sécrétée** (Cl > 120)
Si Cx < Ci : il y a deux possibilité :

- la substance est petite et peut être facilement filtré et réabsorbée
- si la substance est grosse ou chargé négativement, sa filtration est peut être incomplète

Le DFG est un *indicateur de la fonction rénale*, on peut voir que :

- si la fonction rénale baisse cela précède la symptomatologie de l'IR
- la baisse est corrélé à certaines lésions morphologiques (degré de fibrose tubulo-intestitielle)
- le DFG dépend du nombre de néphrons fonctionnels : débit total = addition du débit de chaque néphron.. On en a 1 million !!!:O (calcul mental :/)
- dépend aussi des propriétés de la membrane, du flux sanguin ..

/!\ *Le DFG peut tout de même rester normal malgré des perturbations par exemple dans les phases précoces de maladies rénales, donc offre une vision seulement partielle du rein.*

La mesure du DFG par l'inuline n'est pas utilisé en routine a l'hôpital car c'est coûteux, compliqué, invasif.. (même si c'est la méthode de ref) faut l'injecter tout ça , donc c'est utilisé après si vraiment on a besoin de + d'infos.. On peut aussi utiliser un produit de contraste le iohexol qui mesure DFG mais attention aux allergies toxicité etc.. Alors que la créatinine est endogène donc on a pas se problème pour l'utiliser.

Cependant ce qui est embêtant c'est que dans U x V / P → le U est difficile a doser (il faut le receuil durines sur 24h... si c'est pas 24h les résultats st faussés.. donc c'est compliqué aussi)
Grace a Cockroft Gault On a une chouette formule pour enlever ce U (On a plus que besoin de la creatinémie et la Concentration plasmatique)

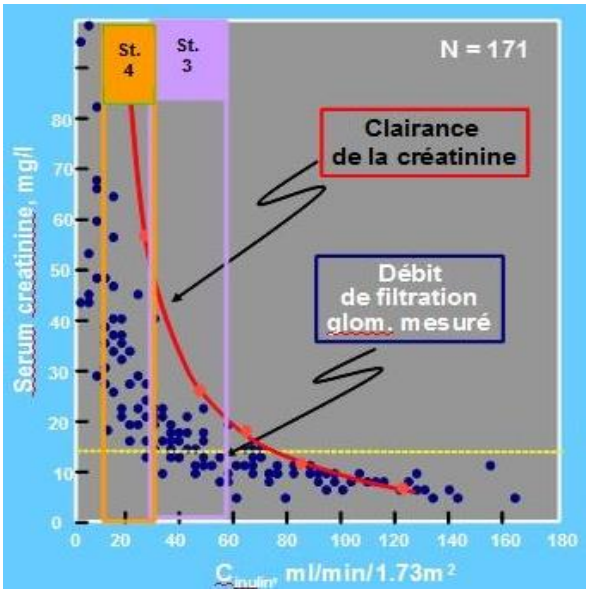
Clairance de la créatinine « calculée »

(140 – âge) x poids x k ml/min k=1,04 (femme)
créatininémie k=1,23 (homme)

Sur un graphique le prof montre que la valeur normale est de 120 et que + on a de créatinine ds le plasma + on a une baisse de DFG → + on est en insuffisance rénale !

On a quand même des petits problèmes en routine :

- chaque labo a ses propres dosages c'est pas très homogénéisé / standardisé
- De plus, la valeur est stable mais c'est un composé produit de la dégradation musculaire donc qui dépend aussi de la masse musculaire et de l'alimentation (ex végétariens..) Donc ça peut être un mauvais indicateur ds certains cas.
- Enfin il existe une petite sécrétion (il en faut pas normalement pour être un top indicateur!) ms grâce a Cockroft ça va.



Si j'ai une sécrétion je sous estime ou je surestime la DFG ?

Je SURestime le DFG → c'est problématique parce que si j'ai 80

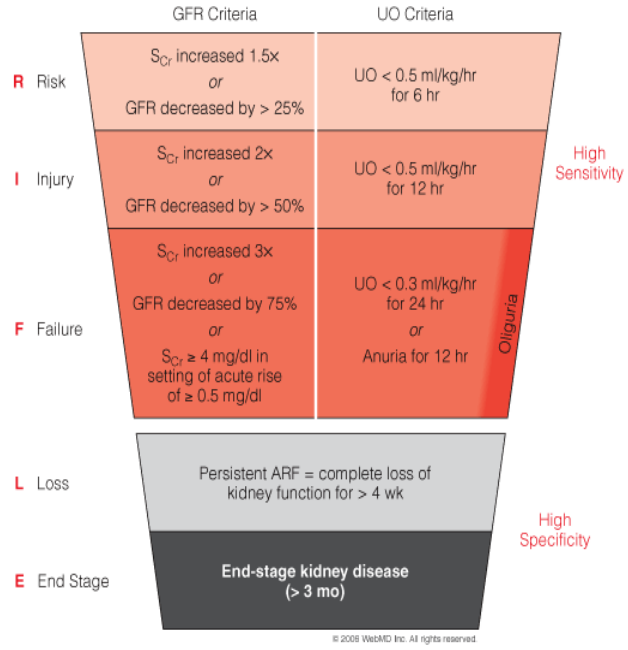
et que c'est surestimé je peux avoir 60 en faite et ça change tout !!
Donc cette sur-estimation, bien qu'elle soit négligeable quand la fonction rénale est bonne, rend la clairance de la créatinine inutilisable lors s'IR sévère, IR évolutives.

Q° de l'assemblée : Si c'est tjrs la même surestimation il suffit de la soustraire pour avoir la valeur réelle ? NN c pas toujours la même alors ça marche pas..

Donc on se rend compte qu'il y a quand même beaucoup de cas ou on NE PEUT PAS L'UTILISER :
- grand age (sous estimé) nanisme et gigantisme
- dénutrition
- maigreur (sous estimé)
- obésité (surestimé)
- femmes enceintes
- régime végétarien
- avant un don du rein
- (et puis bien sur il faut être beau … etc :p)

On utilise le Tableau de RIFLE (Risk Injury Failure Loss E?) pour voir le stade d'insuffisance rénale. (voir tableau 2pages plus haut)

Ici on a un tableau qui classe selon DFG (=GFR) a gauche (Si c diminué de + de 25%, 50% etc..)
et à droite UO = urinary output = excretion urinaire → dc selon la quantité d'urine sur 24h



En fonction des stades d'insuffisance rénale on traite différemment le patient .. (ça paraît logique..) <15 étape ultime.. → rein KO→ transplantation ..

Si on arrive a traiter la cause , trouver le responsable on traite la cause et ça repart (ex : en insuff rénale aigue)
Attention si on y arrive pas ça peut passer en chronique.

Il faut aussi essayer de diminuer les facteurs de risques (tabac FdR cardiovascu..) qui jouent aussi sur l'IR.

Au stade 2 : vaccination contre les hépatites car la maladie est déjà a un stade avancée → si besoin de transplantation dialyse dans l'avenir, il vaut mieux prévoir.. (?)

Il faut faire attention aux traitements chez les insuffisants rénaux, car on peut augmenter la rapidité de l'insuffisance rénale et l'aggraver. D'où certaines contre indications.

Il y a un autre composé qui permet de mesurer le DFG → **l'Acide Para-aminohippurique** qui permet de mesurer le débit plasmatique qui rentre ds le rein : En + d'être filtré il a la particularité d'être sécrété. (puis comme l'inuline :librement filtré par le tubule, pas métabolisé, pas réabsorbé)
En 1 seul passage il est quaziment totalement éliminé (a 10% près) Du coup on peut dire que :
Quantité qui rentre ds l'organe = quantité excrétée

Quantité qui entre = PaPAH x DPR
Quantité excrété = UPAH x V

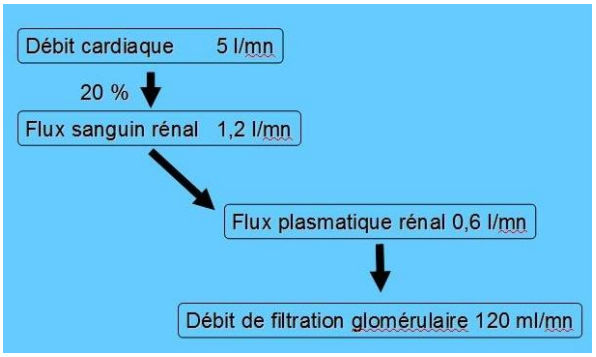
$EDPR \times P^{a}_{PAH} = U_{PAH}.V$ (Or U.V/P est la formule de la clairance) Donc **EDPR = CPAH**

On écrit EDPR au lieu de DPR car on parle de débit plasmatique rénal EFFECTIF cest une approche du reel. Pour avoir le débit reel il suffit de diviser par **le rapport d'extraction** (c un peu compliqué pr un truc simple) C'est 0,9 = Epah (0,9 car en 1 passage 90% est éliminé) donc si je divise par 0,9 je trouve le vrai DPR.
DPR / 1 – l'hématocrite = je retombe sur le DSR (débit sg RL)

Donc chez l'homme en moyenne :
→ Grace a la clairance dEpah le **DPR = 660mL/min**
→ Donc **DSR = 1200 mL/min** (car DPR / 1 – l'hématocrite)
→ FF (fraction de filtration) = DFG / DPR , Or **DFG = 120mL/min**
→ Donc on a environ **FF = 0,2 donc 20%**

donc sur la quantité de plasma 20% rentre ds le nephron.

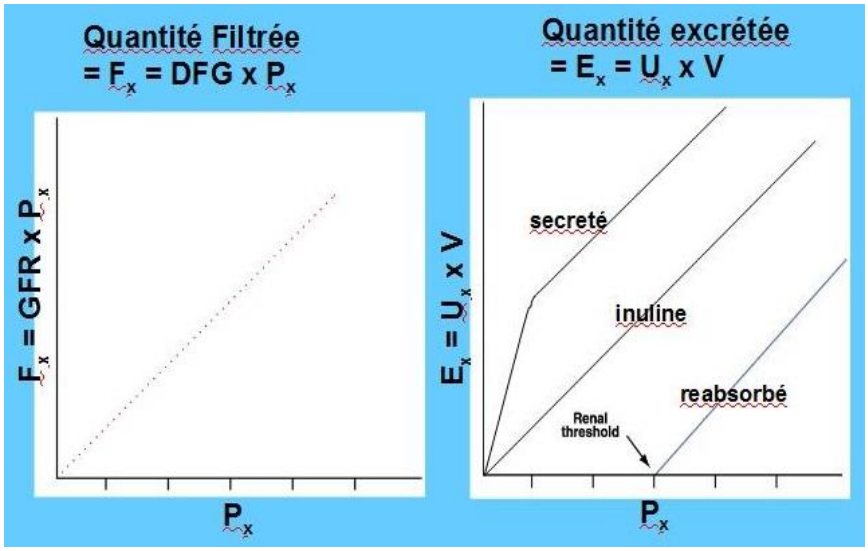
Fin de la demonstration
Résumé à droite avec des petites flèches:)



<u>Courbe des clairances (schéma)</u>
Pour chaque composé on a des courbes :

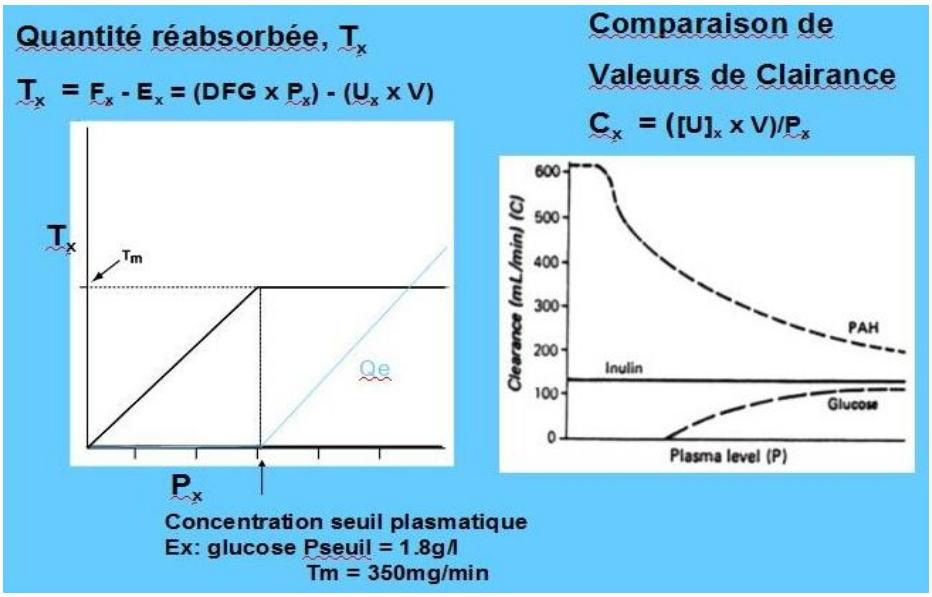
- à gauche en abscisse on a la C plasmatique d'une substance x et en ordonné on a la quantité de substance x filtré
- à droite c'est le composé de référence : l'inuline (après on a des allure de courbe très différente si le produit est plus réabsorbé ou plus sécrété). même si une substance n'est jamais excrété (glucose) au bout d'un moment si les récepteurs sont saturés, au bout d'une certaine concentration le rein va quand même filtrer le surplus.

C'est le même principe pour les substances trop filtrées au bout d'un moment la filtration est saturée. Je réabsorbe tt je secrete rien et au bout d'un moment je dois excréter.



A l'inverse pour les substances sécrétées j'en secrète beaucoup et a une concentration saturante je peux plus augmenter la sécrétion (cassure de la courbe) et je suis parallèle a la quantité excrétée.

même chose
Clairance en
faut que ma
soit stable.
clairance a
normale)
Un composé
entièrement
donc
→ pas de
j'ai tout
un moment
→ cassure de
vais en avoir
urines.
La clairance
rapprocher de



- à droite :
qu'au dessus
ordonnée. Il
concentration
J'ai une
120 (valeur

réabsorbé
(glucose) →
clairance zéro
volume épuré,
réabsorbé. A
→ saturation
la courbe et je
dans les

va tendre / se
l'inuline

Inversement pour le PAH : clairance très élevée (je secrète beaucoup). Plus j'augmente la concentration plasmatique du PAH, plus la quantité filtrée va prendre le dessus sur la quantité sécrétée. On a tendance a se rapprocher de la clairance de l'inuline.

A gauche, pour le glucose, a partir d'un point seuil on commence a avoir du glucose ds les urines. SEUIL = 1,8g/L (avant on ne détectera pas de glucose dans les urines)
Si je vais au delà du seuil on atteint le transport maximum du glucose → ce sont les transporteurs de l'epithélium rénal qui captent le glucose au niveau du rein et qui le renvoient au niveau de la circulation, une fois qu'ils sont saturés le glucose reste dans l'urine.

BIOMARQUEURS :

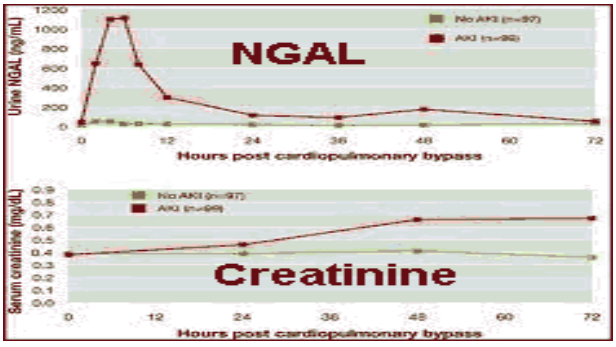
Un biomarqueur = paramètre biologique, détecté dans certains tissus ou liquides biologiques, qui permet de diagnostiquer ou de suivre l'évolution d'une maladie. Peuvent être plasmatiques ou urinaires.

L'intérêt est croissant en médecine pour permettre le diagnostique de maladie, pour cela il faut un marqueur ***précoce*** qui apparaisse dés la mise en route de la maladie pour pouvoir la détecter le plus vite possible (un marqueur de la phase terminale ça sert a rien^^)

Comme marqueurs intéressants pour la physio rénale on a :

- La créatinine
- Le marqueur NGAL, (marqueur de l'insuffisance rénale) Il est intéressant car il est détecté de manière **précoce**. (avant la créât!)

Ce truc est moche je l'ai récupéré dans une étude mais il est intéressant pour montrer l'intérêt de NGAL (graphique →)



Le rein peut être attaqué par beaucoup de choses (médicaments pesticides..) qui attaquent à différents endroits:
-glomérule,
-vascularisation,
-tubules (tubule prox distal etc.. par obstuction..)
-parenchyme
...

Il faut donc avoir le plus de marqueurs possible pour pouvoir localiser la lésion.

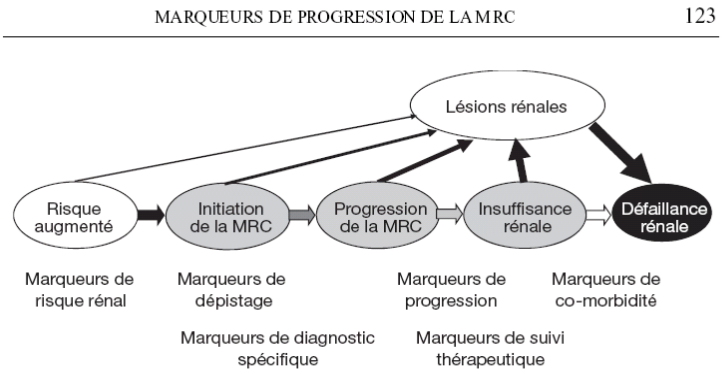


FIG. 1. — Représentation schématique des étapes de la progression de la maladie rénale chronique et place des différents marqueurs associés à ces étapes. Un même marqueur (par exemple, la protéinurie) peut satisfaire aux critères de plusieurs groupes.

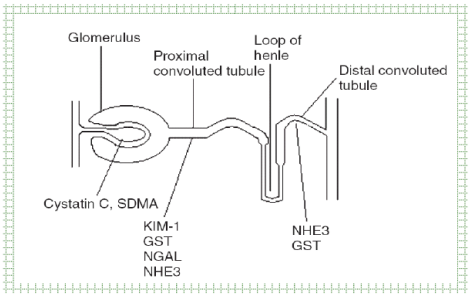
Ici on voit qu'il y a différents marqueurs selon les étapes de progression de la maladie.
Il y a des marqueurs de risques, de dépistage. Des marqueurs pour suivre l'évolution, le suivi. Enfin des marqueurs de co-morbidité..

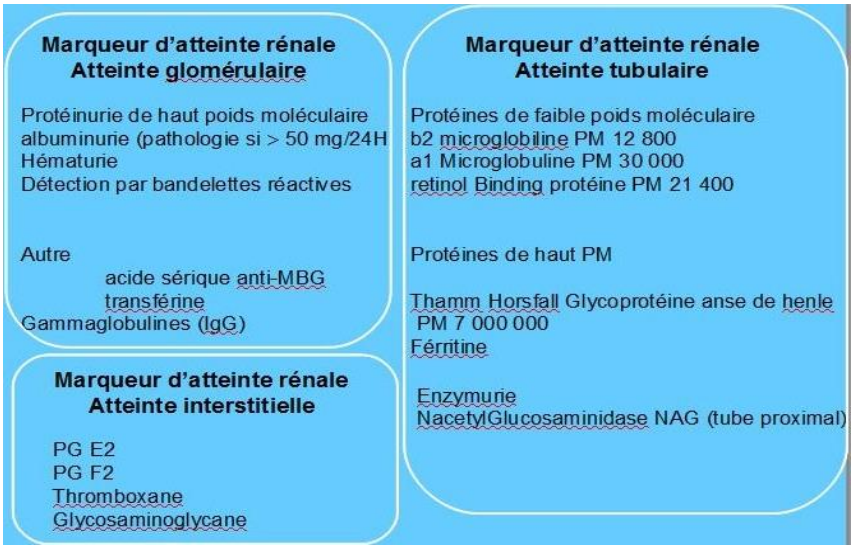
Le bio marqueur idéal : il serait

- capable de faire la différence entre une atteinte pré-renale fonctionnelle et une nécrose tubulaire aiguë
- permettre le diagnostique différentiel des affection chroniques ou aiguës (J'ai tel marqueur donc c'est plutôt une affection aiguë..)
- spécifique de l'atteinte rénale (et pas d'un autre organe)
- permettre de dater et de classifier l'atteinte (dépistage ? Progression ? Quel stade ?)
- permettre de prédire l'évolution

On voit dans ce tableau les différents marqueurs

- Marqueurs d'atteinte glomérulaire
- Marqueurs d'atteinte rénale
- Marqueurs d'atteinte interstitielle





Il y en a beaucoup.. Quelques uns sont vraiment utilisés en néphrologie de façon routinière. On a des kits tout faits ..

« Il y a même des marqueurs style un peu bizzare qu'on se demande ce qu'ils font là : NHE3 »
(NHE3 est en faite un transporteur..)

Yaaaaa 21 marqueurs qui sont utilisés et voilà les 5 plus prometteurs : (Je vous met le texte de la diapo mais il détaille pas..) :

$N_{eutrophil}G_{elatinase}A_{ssociated}L_{ipocalin}$ (urine et plasma)
$K_{idney}I_{njury}M_{olecule}$-1 (urine)
L_{iver}-$F_{atty}A_{cid}B_{inding}P_{rotein}$ (urine)
IL-18 (urine)
Cystatine C (urine et plasma)
$G_{lutatione}ST_{ransférase}$ α et π (urine)
$NHE_{xchanger\ isoforme}$-3 (urine)
Netrin-1 (urine)

Cystatine C *est librement filtrée au niveau du glomérule, puis réabsorbée et entièrement catabolisée par les cellules du tubule contourné proximal. Ses avantages par rapport à la créatinine (moins influencée par l'âge, le sexe ou la masse musculaire) ne sont pas suffisamment convaincants et sont coût trop élevé pour recommander son dosage.*

NGAL *probablement le plus étudiée. NGAL surtout urinaire est un bon outil diagnostique et pronostique de l'IRA (enfant > adulte).*

En cas d'ischémie ou de néphrotoxicité son excrétion est fortement augmentée et elle apparaît dans les urines 2 à 4 heures après une atteinte rénale aiguë, soit bien plus précocement que l'élévation de la créatinine.

KIM-1 *est une protéine transmembranaire d'origine tubulaire, indétectable chez le sujet sain. Son expression augmente lors de lésion au niveau du tubule proximal. Candidat potentiel.*

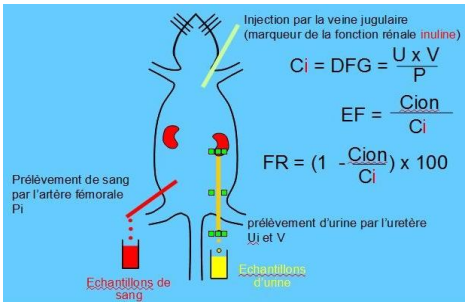
IL-18 *est une cytokine pro-inflammatoire. Rôle à clarifier.*

L-FABP *est une protéine cytoplasmique exprimée de façon abondante dans les tissus avec un métabolisme actif des acides gras. Candidat potentiel.*

METHODES D'ETUDE

On va finir par les méthodes d'étude ; en fin de compte comment on est arrivés a faire des cours de physiologie rénale ?? Tout le monde s'est posé la question.. ;)

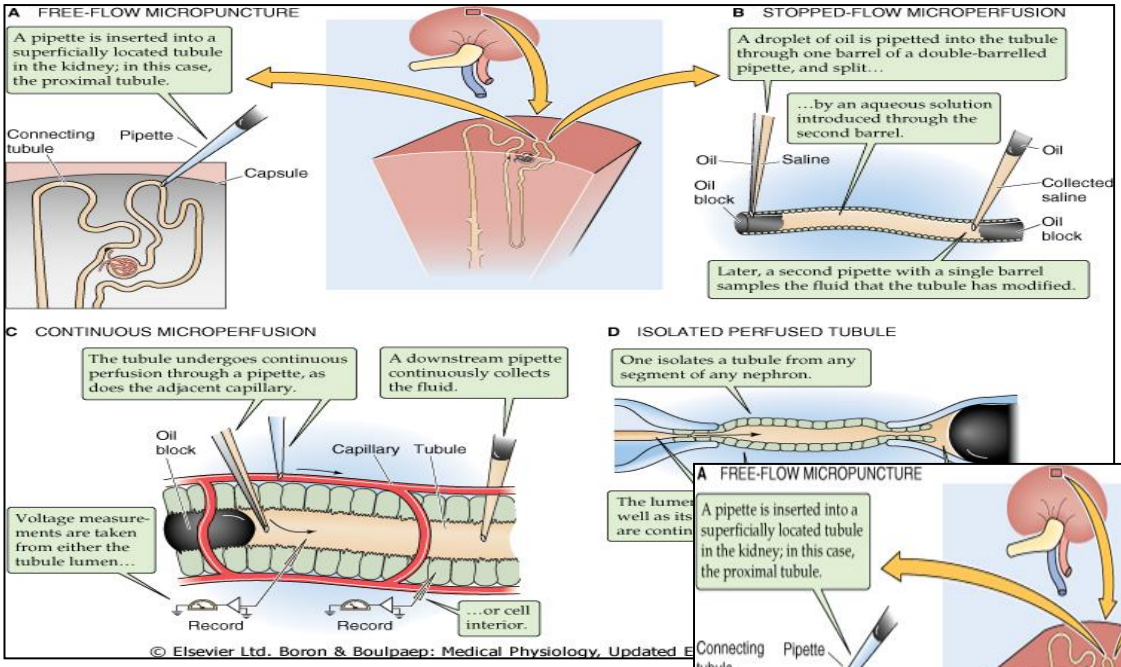
On a fait des mesures de clairances (inuline creat..) d'excrétions fractionnelles (c'est simplement la clairance de l'ion sur la clairance référence) de FR (fraction de réabsorption)..
comment ?



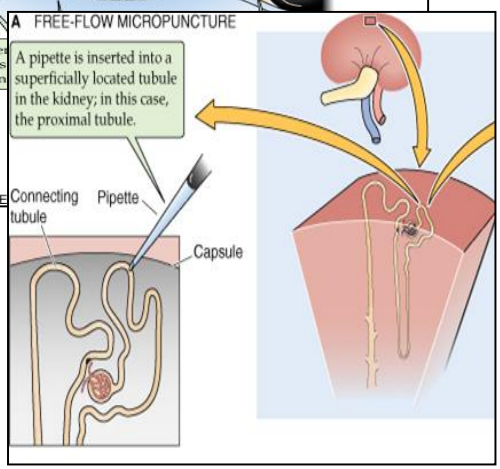
Un exemple avec de l'Inuline et une souris : Après avoir perfusé la souris , on prélève de l'urine (on sonde la souris avec des tout petits cathéters : invasif)
Cela nous permet d'avoir le débit urinaire et on pourra calculer l'excretion fractionelle etc...

Pour caractériser la fonction du rein on a utilisé les micro-techniques qui étaient en essor il y a 60-70 ans. Les américains ont fait une sorte de bible du rein :« The kidney, structure and function in health and disease » (20ans de boulot..)
Avec des petits instruments des petites pipettes et plein de petits trucs on a pu aller en profondeur dans les néphrons et mesurer tout ce qu'on connaît aujourd'hui c'est a dire les pressions osmotiques, les échangeurs, les fluides, les.. euh etc ^^ (Il y a d'autres techniques, moins utilisées car très lourdes, il trouve sa dommage)

Ci-dessous une image prise de la bible (du rein).



A-
Micro-



ponction en Free-flow B- micro-perfusion en stopped-flow

C Micro-perfusion en continue D- Tubule isolé perfusé

Il va détailler chaque partie.

A/ Microponction en « free flow »

Montre qu'avec des micropipettes on a pu aller a l'interieur d'un nephron et aller aspirer pour mesurer l'osmolarité ..

Ici sur des rats, la on a le tubule distal, les chercheurs ont mesuré TF = urine ds le tubule (tubule fluid) et divisé par l'osmolarité du plasma. Au niveau du Tubule Distal l'urine est hypoosmotique (hypotonique par rapport au plasma)
Vous avez appris ça mais on ne vous avez pas dit comment on l'avait découvert et bin voilà tadaaa !

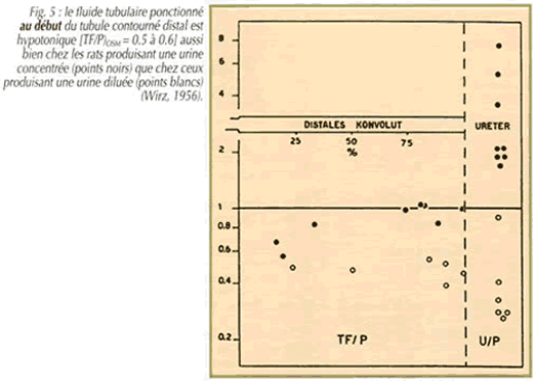


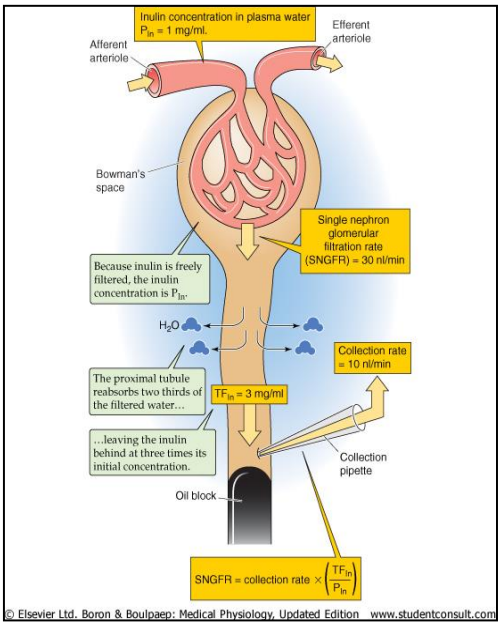
*Fig. 5 : le fluide tubulaire ponctionné **au début** du tubule contourné distal est hypotonique [TF/P]$_{OSM}$ = 0.5 à 0.6] aussi bien chez les rats produisant une urine concentrée (points noirs) que chez ceux produisant une urine diluée (points blancs) (Wirz, 1956).*

Ici en haut on a des **ronds noirs** = urine hyper concentrée = hyperosmotique ; et les **ronds blancs** (rats qui produisent une urine diluée)

Mais qu'elle soit hyper ou hypo , l'urine au niveau du tubule distal est TOUJOURS hypo !! Donc même si le rat est déshydraté etc à ce niveau elle sera tjrs hypotonique.

(*il explique pas vraiment la photo mais je la met pour les ronds ;p)*

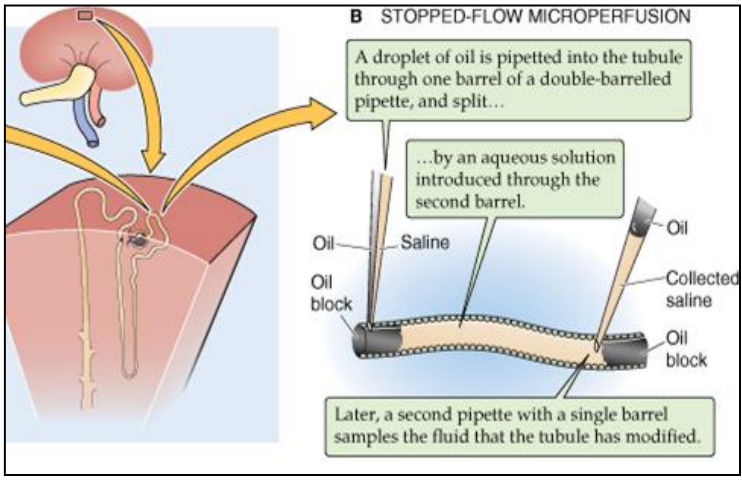
Plus on va vers la médullaire plus l'urine est hypertonique ! →
Découvert grâce a ces micro techniques



DFG = 120mL/min → chaque petit néphron parmi les millions de néphron a son propre DFG = le SNGFR (= Single nephron glomerular filtration rate)

Comment ça a été calculé ??

DFG = U.V / P → j'injecte de l'inuline je fais le calcul et hop c'est le même principe sauf qu'il faut aller a l'intérieur de chaque néphron et calculer nanolitre par nanolitre.. :o C'est pareil mais en miniature..



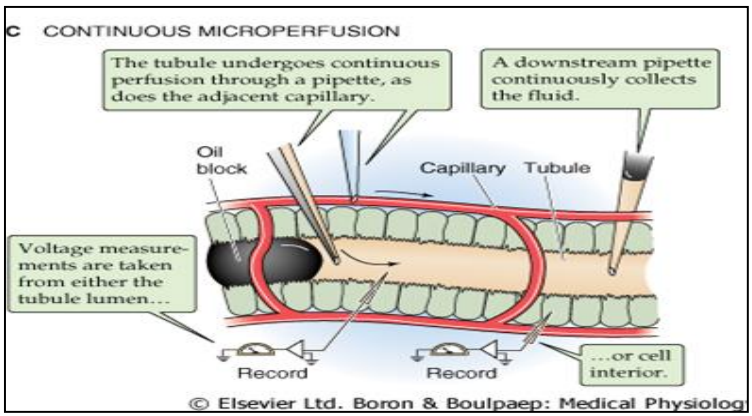
C/Microperfusion en « stop flow »

Encore une autre technique :
on peut perfuser = microperfusion.

On prend des pipettes a double barillet (a double entrée..) → on injecte de l'huile ac le 1er barillet → l'huile va stopper de flux → Avec le 2eme barillet on injecte du liquide (on perfuse)
→ on ferme le flux ac la dernière partie de la pipette. Çà s'appelle du « stop -flow »
On laisse un moment et on recueil le liquide a la fin. **Comme on sait ce qu'on a mis au départ on peut étudier les transferts qui ont eu lieu..**
On dose etc..

C/ Microperfusion en continu

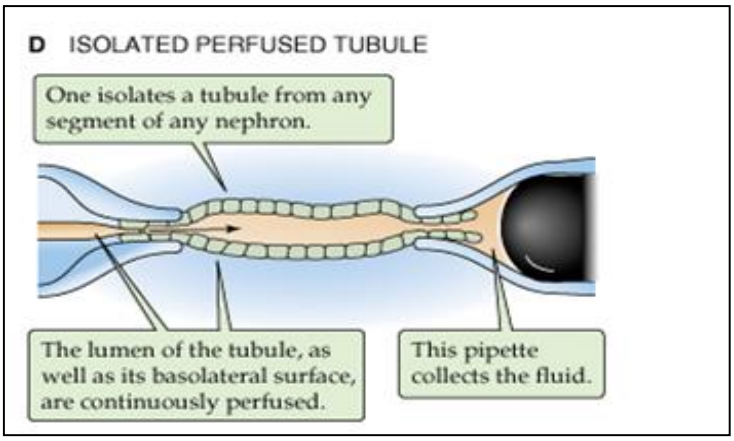
On peut faire encore mieux = microperfusion en continu (encore un peu + compliqué)



On peut rajouter des microelectrodes (encore beaucoup + compliqué) pour avoir le voltage, les différences de potentiel etc...
On peut même en mettre ds les vaisseaux sanguins ,dans les tout petits capillaires !

D/ Tubule perfusé isolé

On coupe un morceau de néphron et on le monte sur des pipettes → Tubule perfusé isolé
On le perfuse et on fait des mesures.
But = identifier les réabsorptions/sécrétions aux différents niveaux du tubule..
Je peux rajouter des drogues etc pour étudier les transports..



Beaucoup a été découvert grâce a toutes ces techniques.

Modeles in vitro
On peut faire des cultures (mitochondres, vésicules …) cellulaires, prendre des organes isolés..
Il passe vite..

On utilise plus ces techniques c'est super compliqué .. On rentre ds un labo on demande ces techniques les gens repondent « bah nan j'ai pas envi quoi.. » Puis les gens qui le fesaient sont morts de vieillesse..
Avec toutes les nouvelles techniques du génome transcriptome proteasome on peut faire des choses qu'on pouvait pas avant.. études de mécanismes impliqués ds les toxicités, screening de nouvelles molécules..

Les cultures cellulaires

définition : **correspondent au maintien en dehors de l'organisme de cellules non-organisées en tissus mais capables de se diviser et d'exprimer in vitro des métabolismes spécifiques.**
*But : "*Maintenir in vitro des cellules possédant tout ou une partie des caractéristiques qu'elles manifestent *in vivo* et pouvant aboutir dans certaines conditions de culture à une véritable organisation tissulaire".

On peut faire de la **culture primaire à partir de cellules isolées mécaniquement** : On prend un morceau de rein on le broie un peu puis on le cultive → on va pouvoir étudier un type de cellules ..

Avantages:	***Inconvénients***:
Technique rapide et permet d'obtenir beaucoup de cellules. *Pas d'utilisation enzymatique*	*Utilisable sur très peu d'espèce,* *mélange de type cellulaire*

On peut faire de la **culture primaire à partir de segments de néphron isolés individuellement par micro-dissection :**
On disseque le rein et on sépare le tubule proximal distal l'anse de Henlé … (c'est facile parce que physiquement les différentes portions ne se ressemblent pas..) On met tout ça ds une boite de pétri → incubateur → et ça va donner des cellules spécifiques de cette portion de rien. On va avoir des boites de proximal des boites de distal, des boites de anse de Henlé..

Avantages:	***Inconvénients***:
Obtenues directement à partir d'un segment de néphron *Leur origine est connue (étude inter-espèces possibles)* *Possèdent les fonctions spécifiques transitoirement conservées* = MODELES PERTINENTS CAR PROCHE DE LA REALITE	*Préparation lourde* *Nombre de passage limité (phase G1,)* *Durée de vie variable*

Cultures de lignées cellulaires : Il existe des cultures de cellules immortalisées (par transvection d'un plasmide/d'un vecteur) et donc que l'on peut garder, sortir du congélateur, faire revivre, faire des manipulations, recongeler et ainsi desuite. Il existe dans le commerce différents types de cellules immortalisées de distal de proximal d'anse de Henlé.. Il suffit de passer une commande et hop on les reçoit chez soi ! x)
Les + connus :
MCDK : Lignée rénale tubulaire Distale de Chien

LLC-PK1 : Lignée rénale tubulaire Proximale de Porc

Difficile a retranscrire pour certaines parties, le prof termine pas trop ses phrases et se perd un peu dans certaines explications .. (et ça donne beaucoup de phrases comme «Et là c'est style un peu bizzare en faite.. [..]») J'espère que c'était plutôt clair malgré tout :)