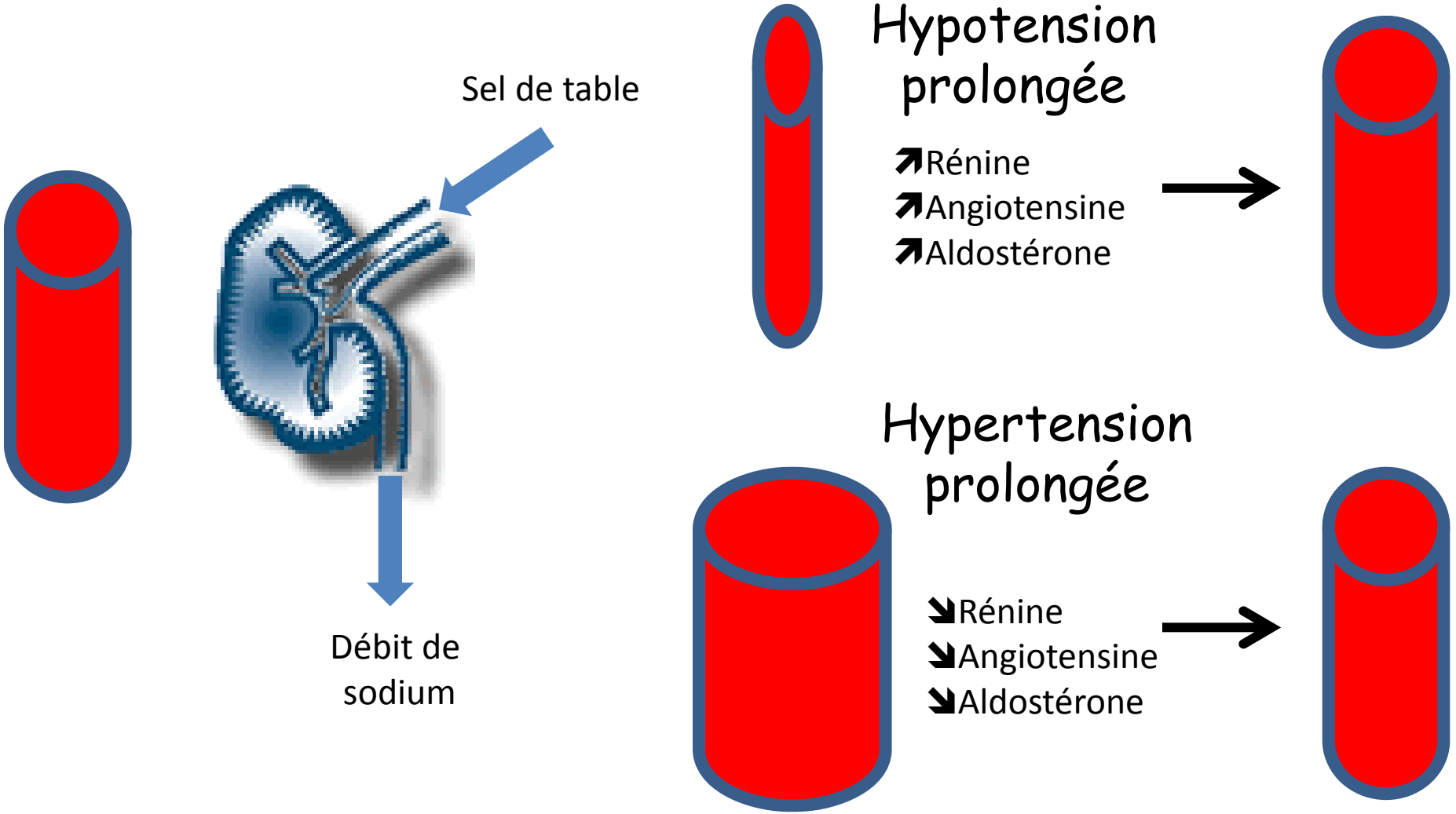
Pression artérielle, Transport rénal de Na^+ : aspects moléculaires

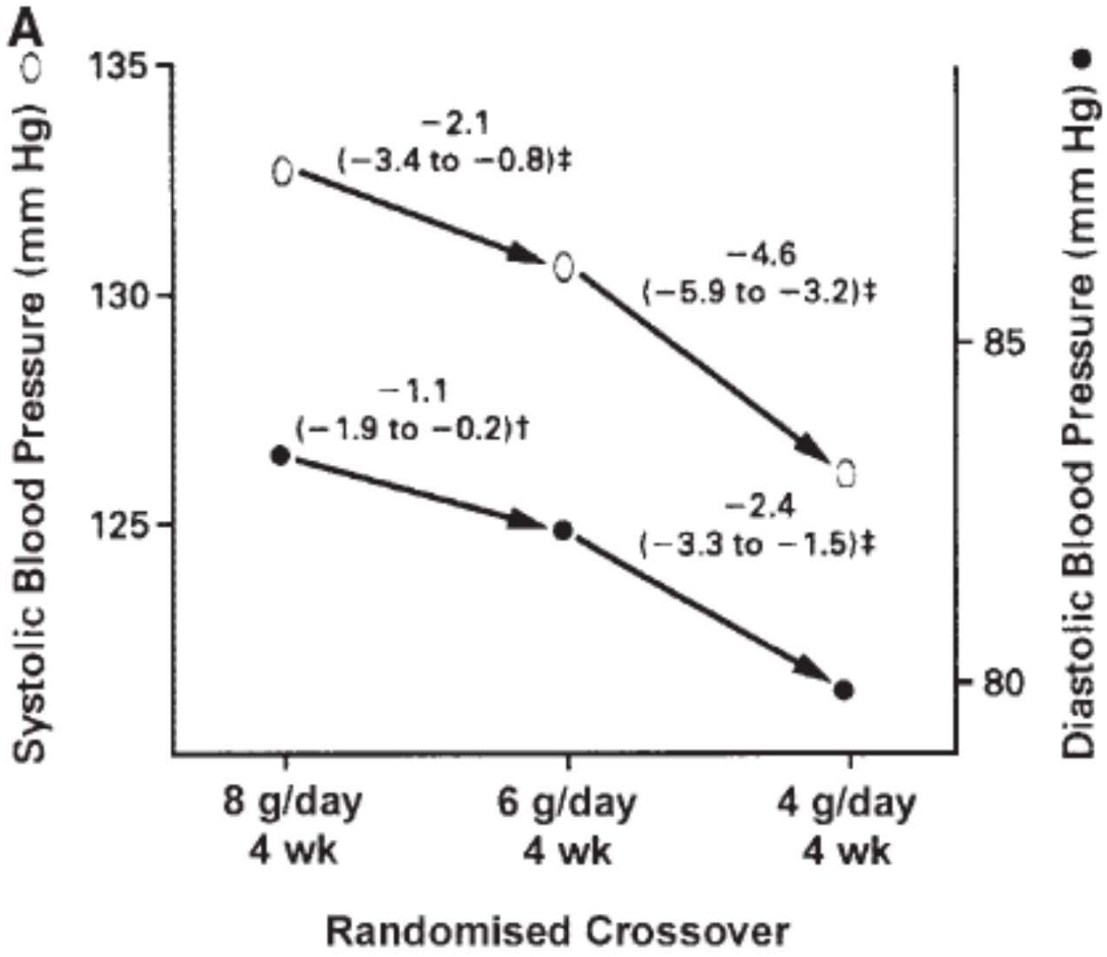
Dr Guillaume Favre
Service de Néphrologie
IRCAN, équipe « vieillissement et diabète »
11 avril 2013

Contrôle durable de la pression artérielle par le rein



Contrôle transitoire de la pression artérielle par les vaisseaux

Effet de la réduction des apports sodés



n = 204

120<PAS<159

80<PAD<95

H/F = 1

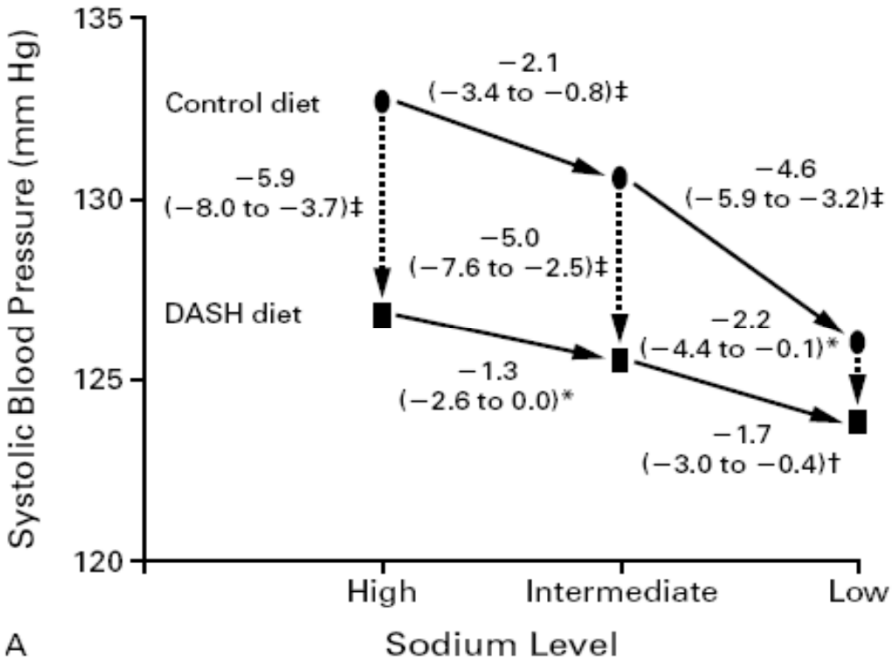
noirs/blancs = 1

DASH study (dietetary approach to stop HTA)

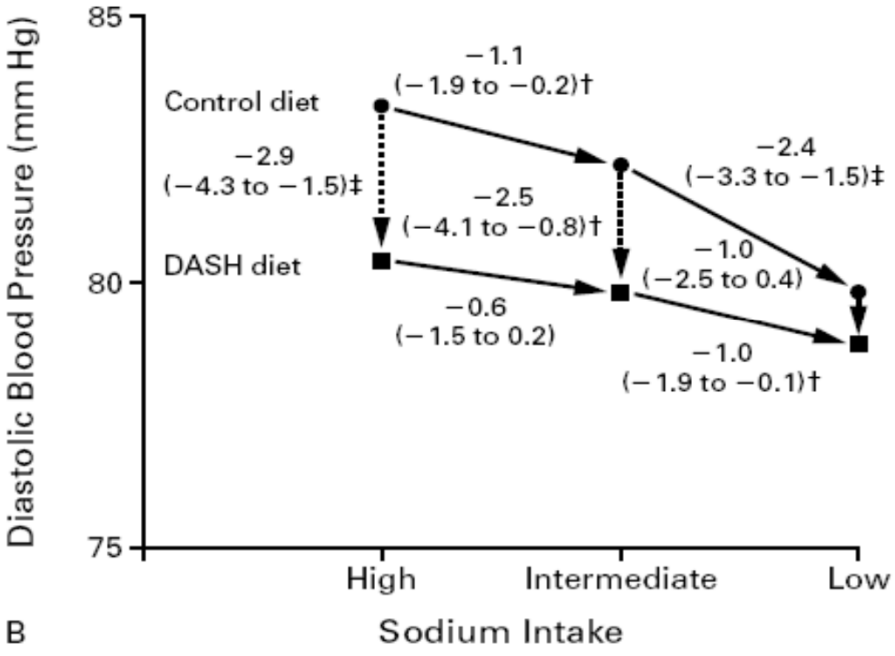
Sacks, NEJM 2001

Effet de la supplémentation potassique

Control diet, n = 204



DASH diet, n = 208



VARIABLE	HIGH SODIUM LEVEL		INTERMEDIATE SODIUM LEVEL		LOW SODIUM LEVEL	
	DASH DIET	CONTROL DIET	DASH DIET	CONTROL DIET	DASH DIET	CONTROL DIET
Urinary excretion						
Sodium						
mmol/day	144±58	141±55	107±52	106±44	67±46	64±37
g/day	3.3±1.3	3.3±1.3	2.5±1.2	2.4±1.0	1.5±1.0	1.5±0.8
Potassium						
mmol/day	75±27	40±14	81±31	41±14	81±29	42±14
g/day	2.9±1.1	1.6±0.5	3.2±1.2	1.6±0.5	3.2±1.1	1.6±0.5

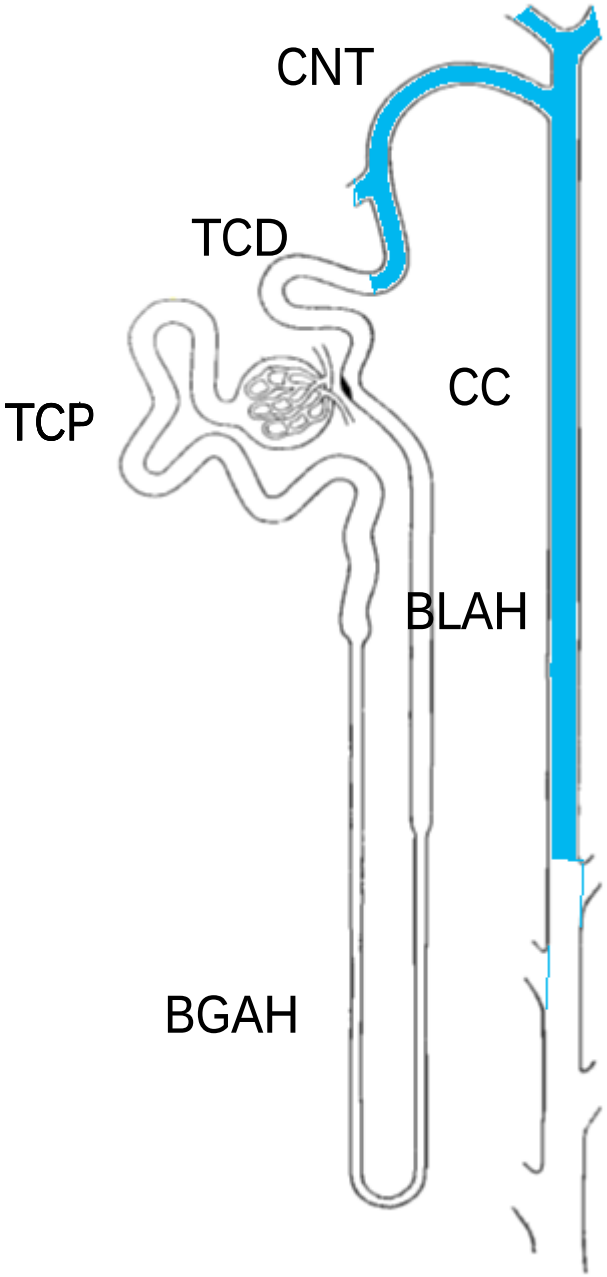
Sacks, NEJM 2001

Objectif :
déterminants environnementaux de l'HTA

Le chlorure de sodium est hypertenseur

Pour un apport sodé normal,
l'apport de potassium est anti-hypertenseur

Le régime « DASH » est la base du traitement de l'HTA



Néphron sensible à l'angiotensine II

TCP : tube contourné proximal
BGAH : branche grêle anse de Henle

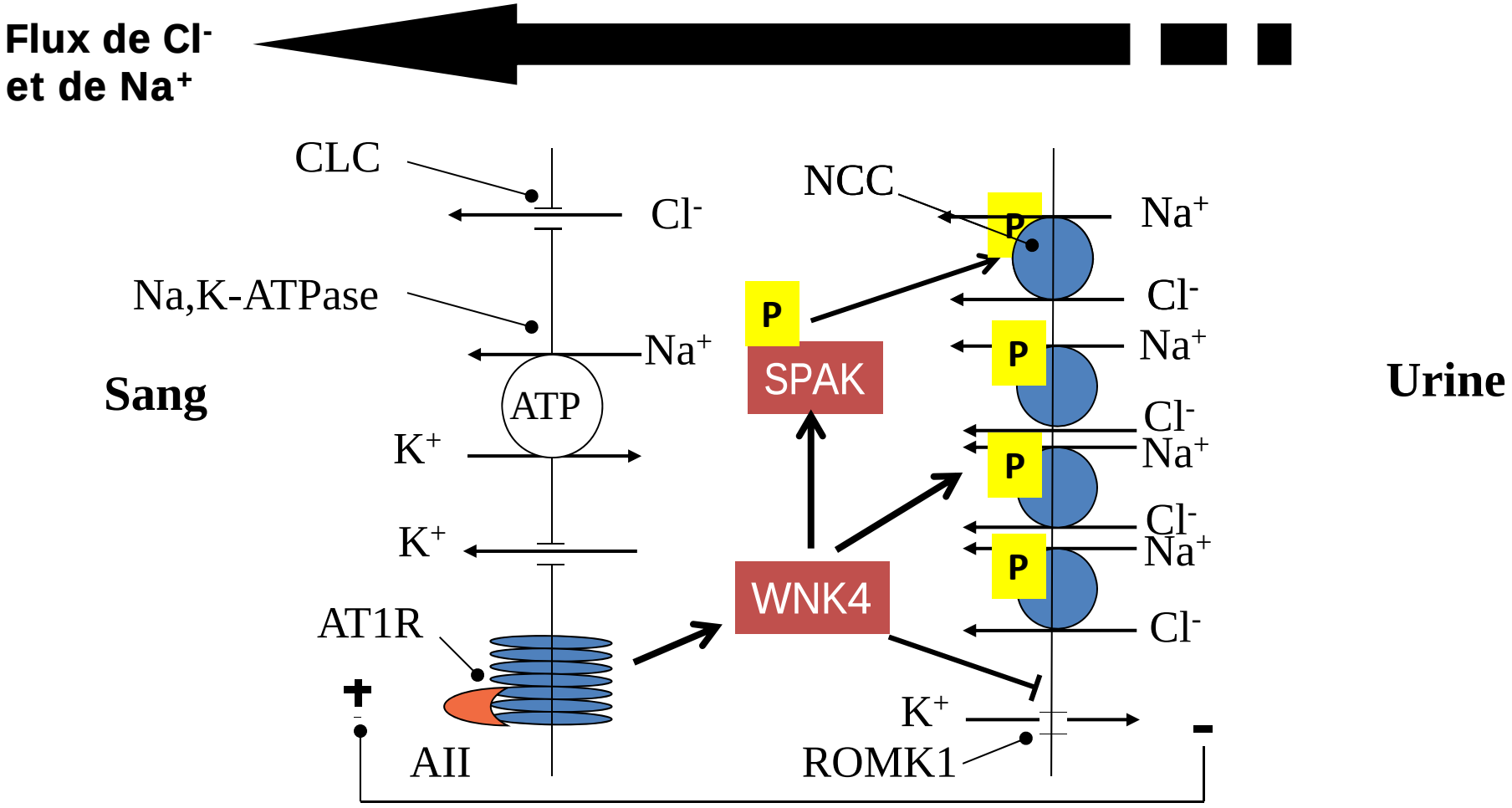
BLAH : branche large anse de Henle

Néphron sensible à l'aldostérone

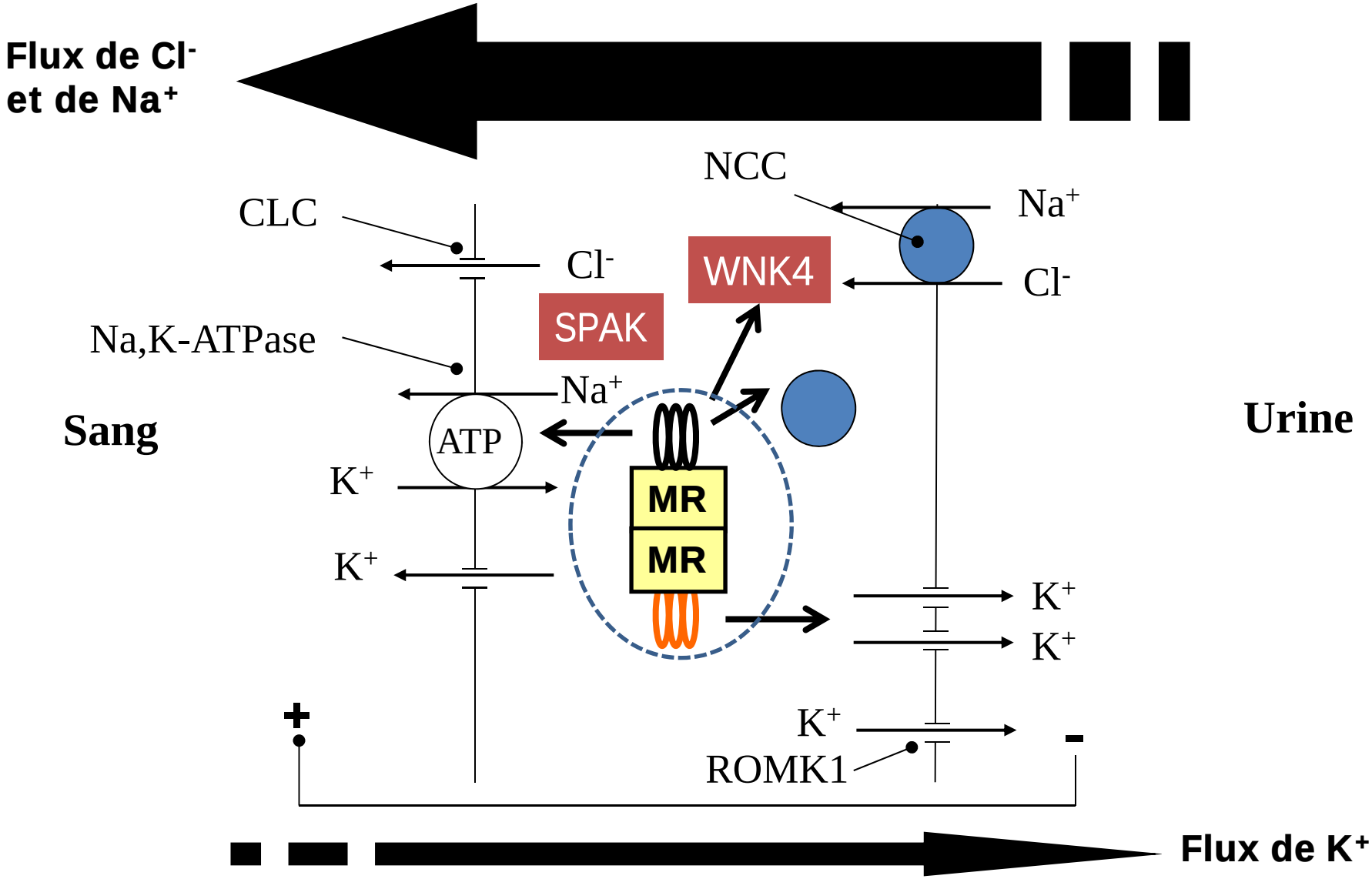
TCD : tube contourné distal
CNT : tube connecteur
CC : canal collecteur

Transporteurs membranaires
Protéines régulatrices

Effet de l'angiotensine II sur le néphron sensible à l'aldostérone



Effet lent de l'aldostérone : potentialise l'angiotensine II



Objectif :
Rôle du SRAA dans le contrôle de la PA

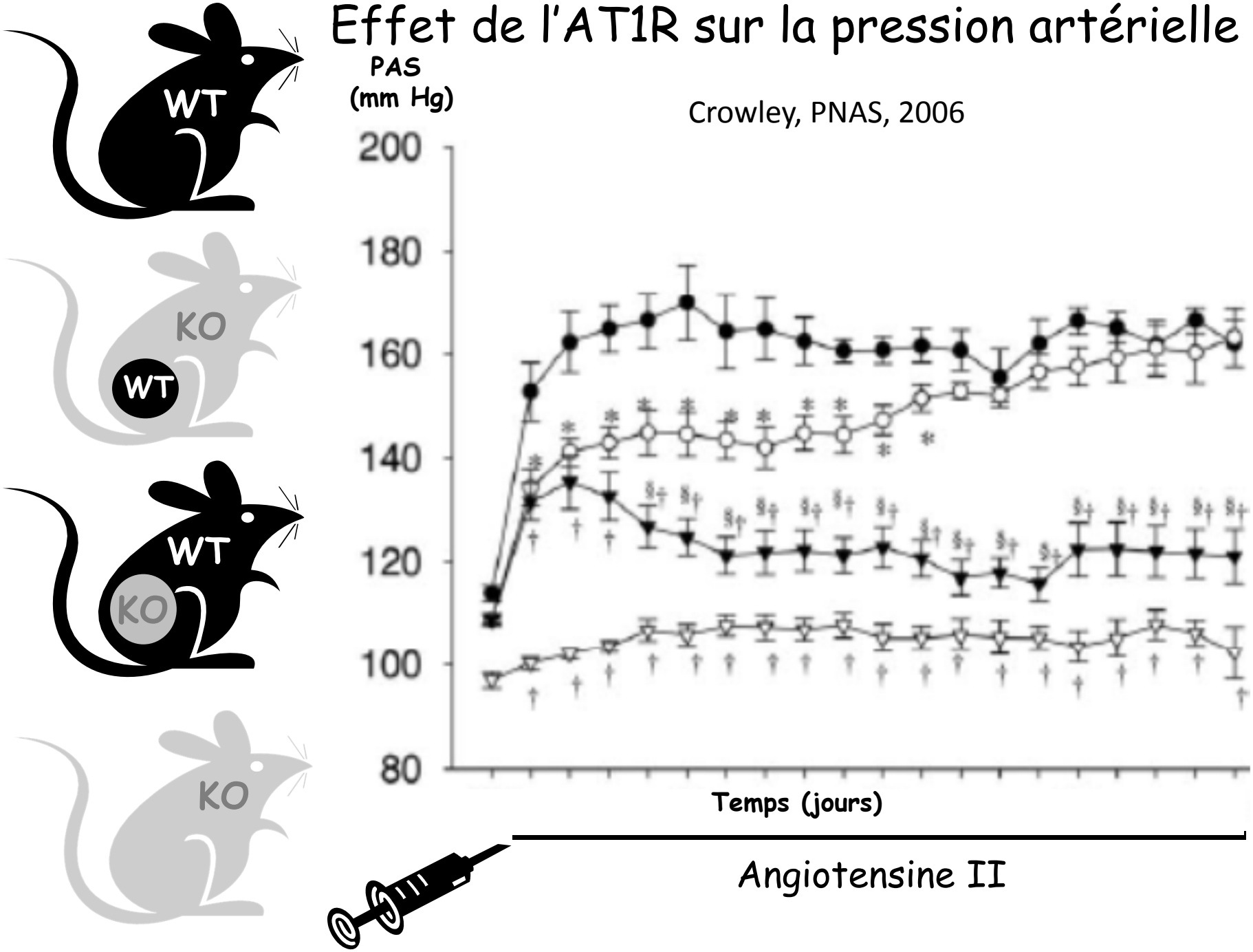
Le SRAA augmente la réabsorption rénale de sodium

L'angiotensine II agit sur l'ensemble du néphron
Mode d'action rapide (post-transcriptionnel)

L'aldostérone agit sur un segment particulier
Mode d'action lent (transcriptionnel)

L'aldostérone favorise aussi la sécrétion de potassium

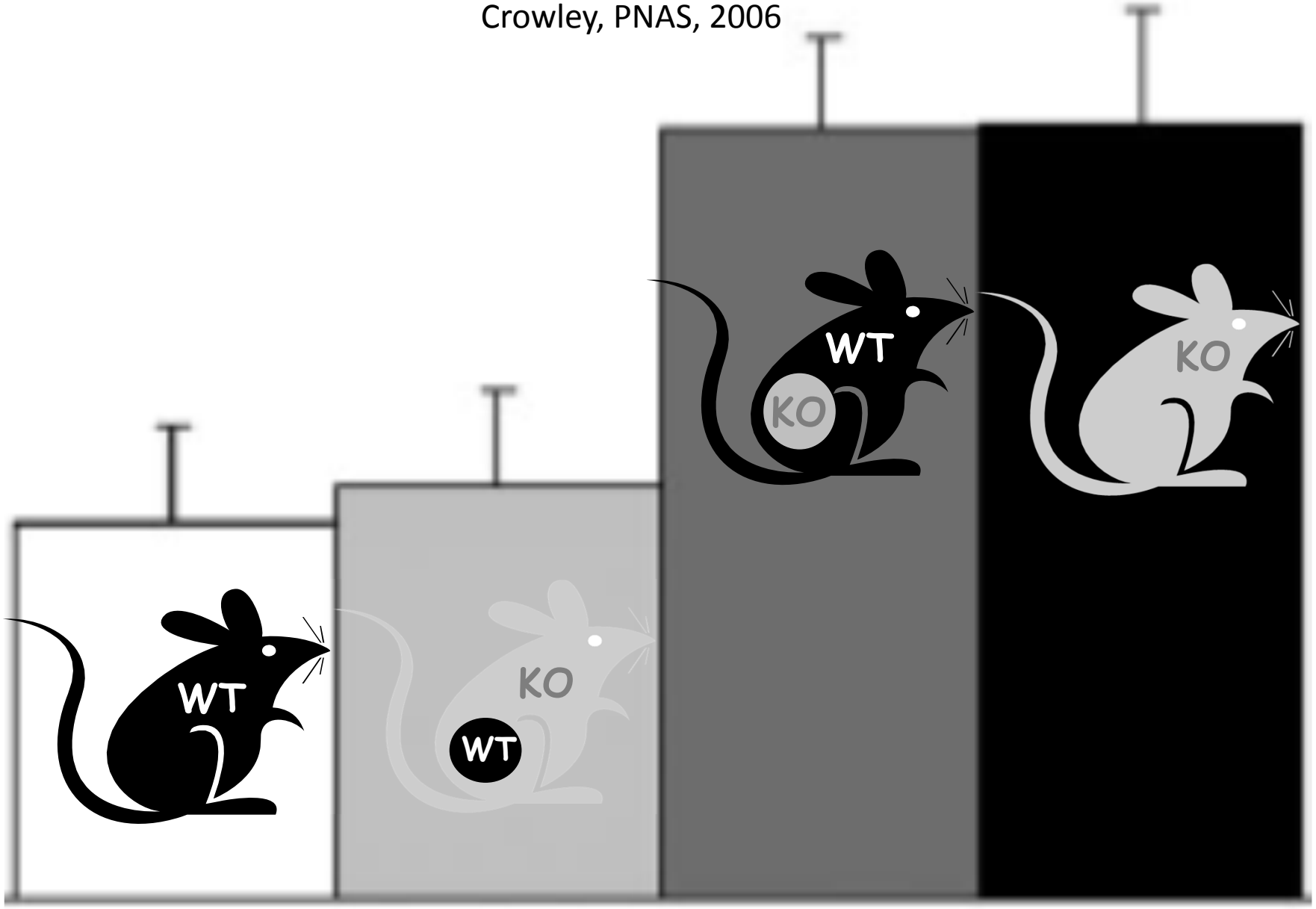
Effet de l'AT1R sur la pression artérielle

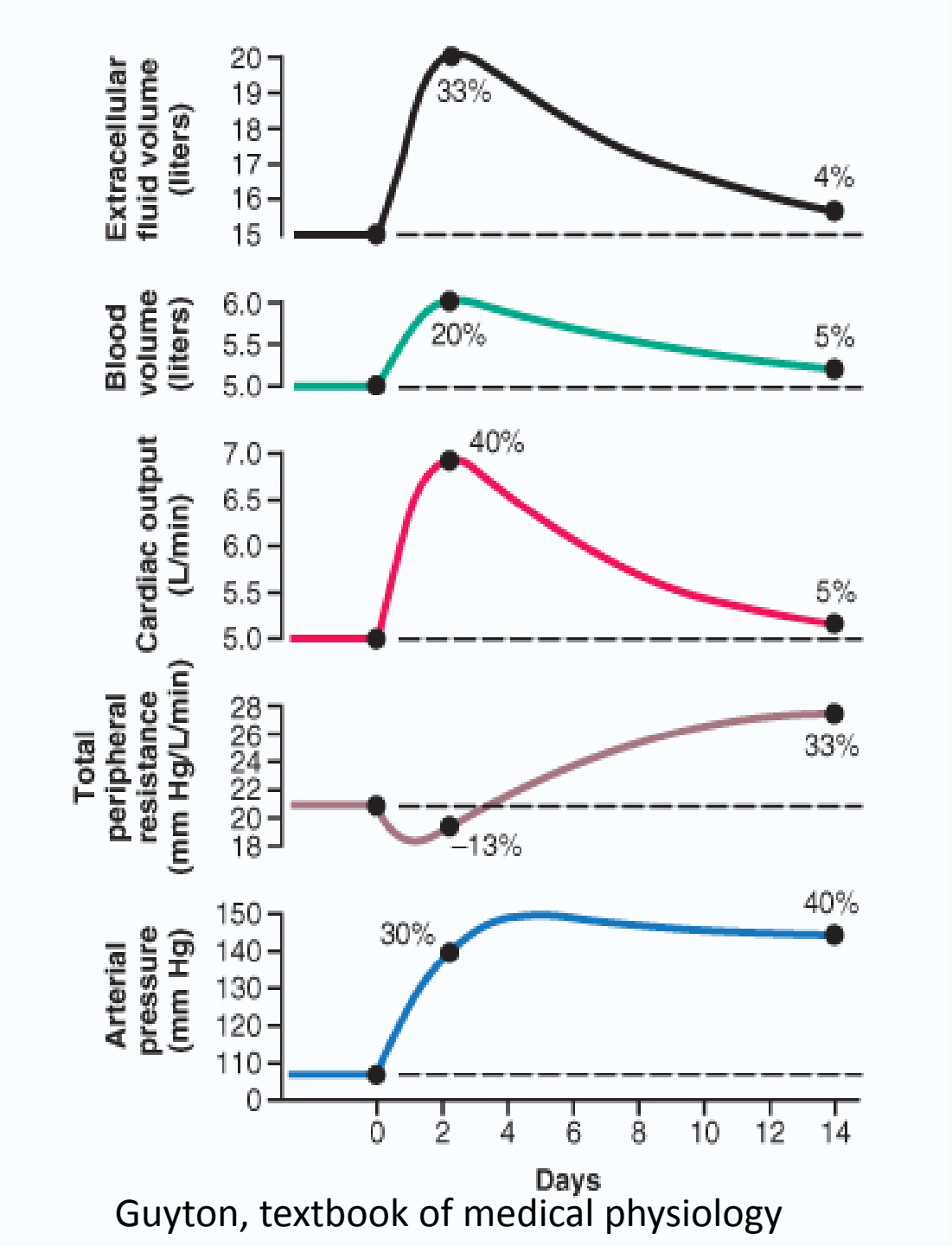


Crowley, PNAS, 2006

Natriurèse sous Angiotensine II

Crowley, PNAS, 2006





Guyton, textbook of medical physiology

↘ masse rénale de 70%

↗ apports de NaCl

↓

HTA volodépendante
puis
HTA à RPT élevées

↓

Cas de l'HTA essentielle

Objectif :
Rôle du récepteur de type 1 de l'angiotensine II

L'angiotensine II augmente la réabsorption rénale de sodium

L'angiotensine II induit une vaso-constriction

La vasoconstriction est insuffisante
pour maintenir durablement une pression artérielle élevée

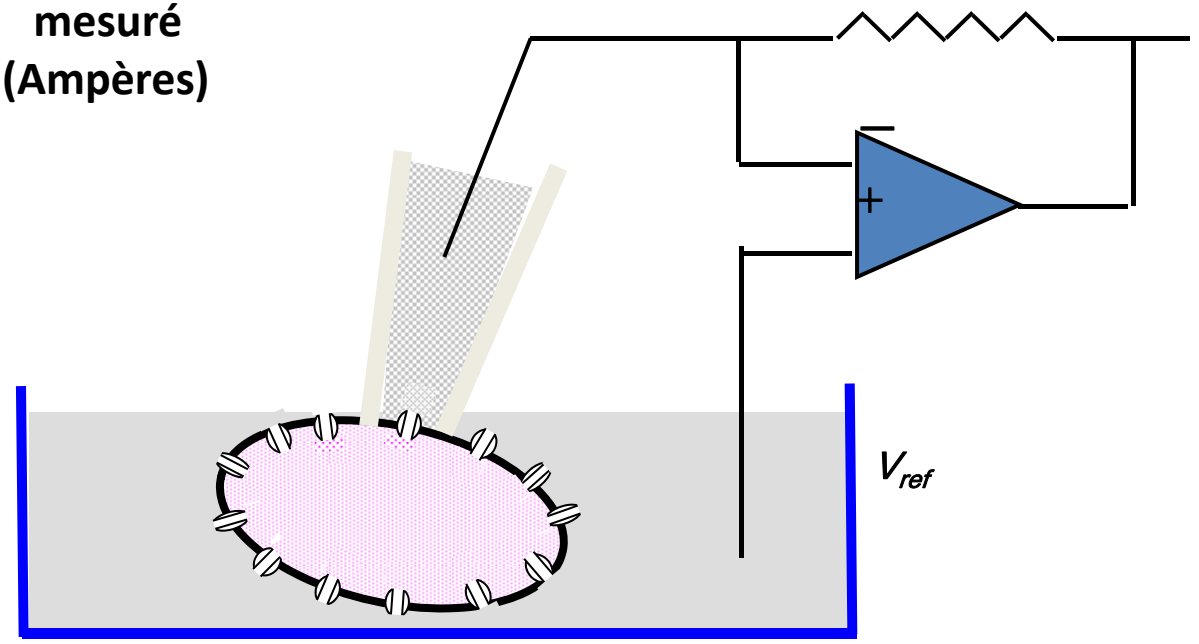
HTA essentielle : maladie rénale et vasculaire

L'hypertension prolongée modifie
les propriétés mécaniques des artères

PATCH-CLAMP ET CANAUX IONIQUES

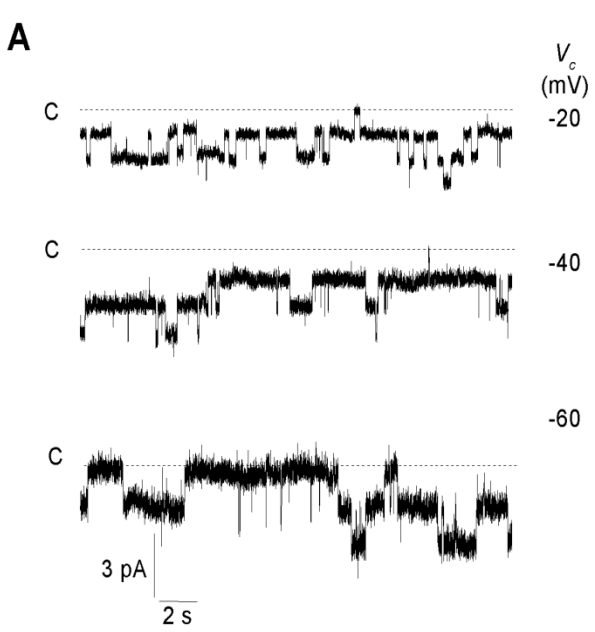
Loi d'Ohm

V	**=**	***R***	**.**	***i***
imposé		**calculé**		**mesuré**
(Volts)		**(Ohms)**		**(Ampères)**

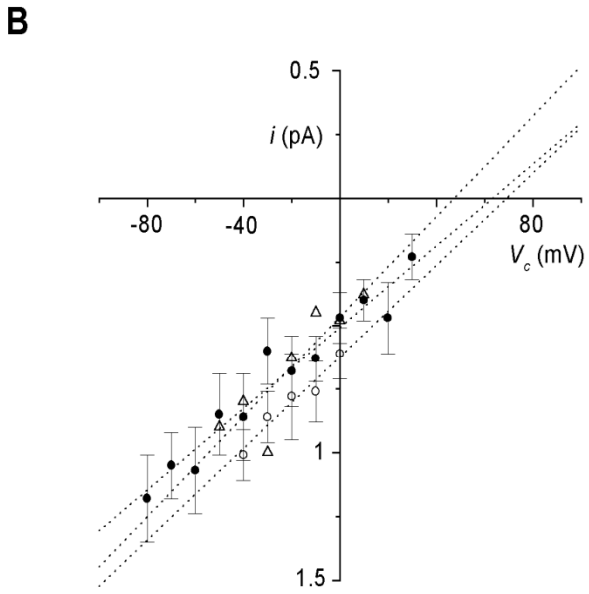


On impose des potentiels et on enregistre des courants

Exemple du canal sodique épithélial (ENaC)

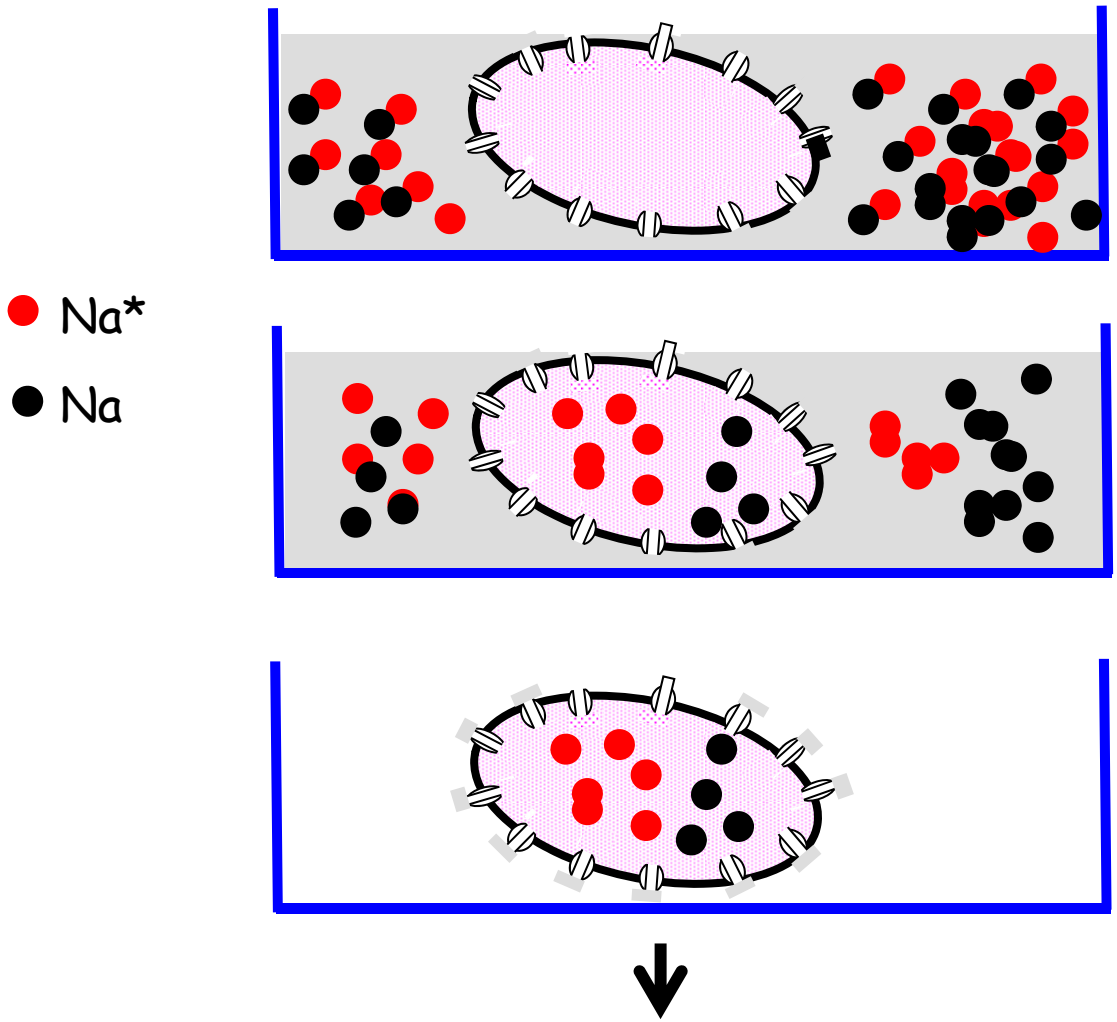


Voltage constant



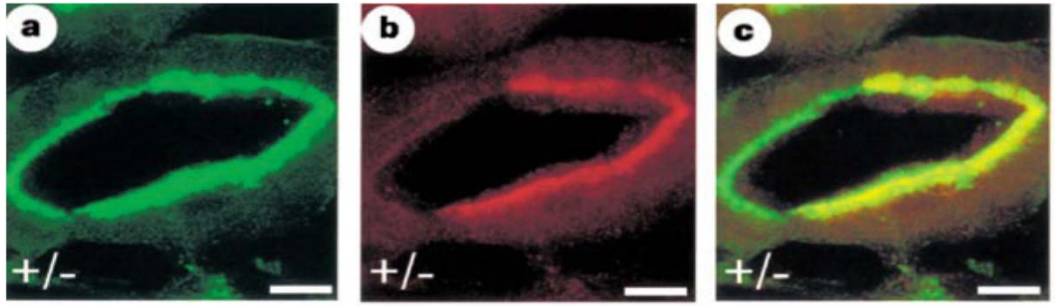
Relation intensité/voltage

Incorporation cellulaire de sodium*



Immuno-histochimie

CLC5 : rouge

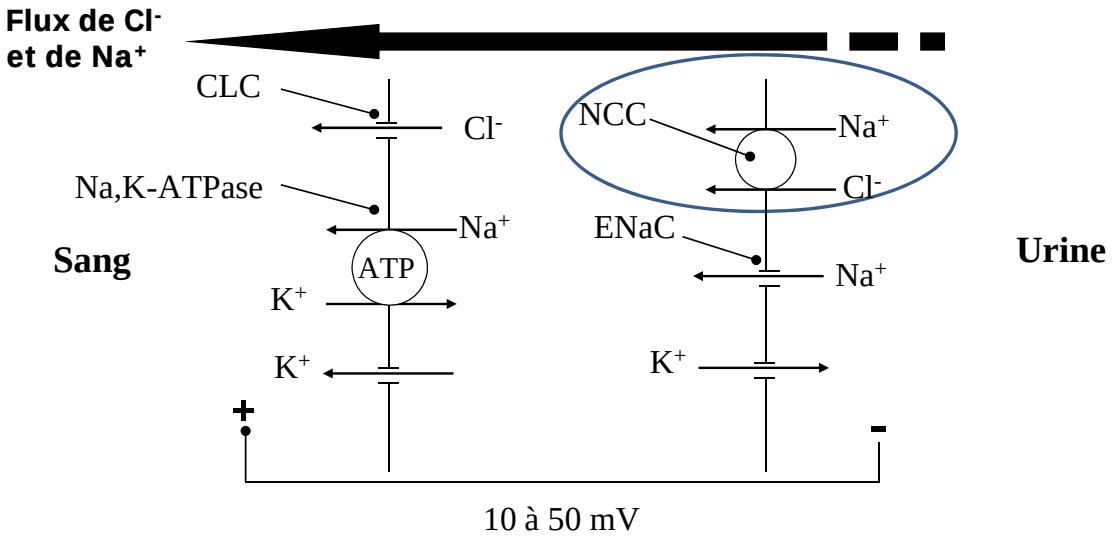


Mégaline : vert

Co-localisation des protéines

Exemple de microscopie confocale

« Maladie » du cotransporteur Na-Cl sensible au thiazide

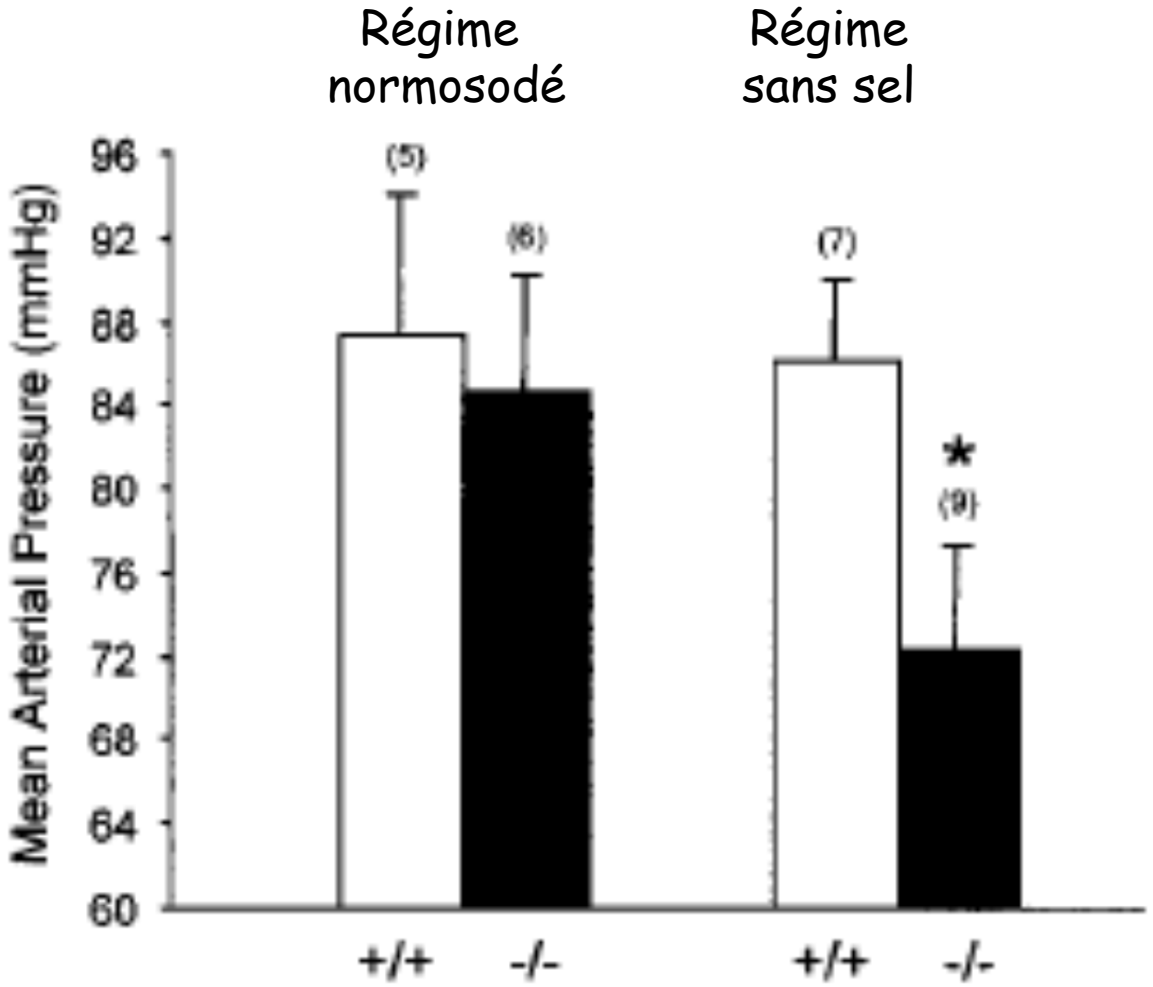


Syndrome de Gitelman

	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)	Fréquence cardiaque (cycle/min)	Hématocrite(%)	Natriurèse (mmol/J)
Patients (n=8)	**124 ± 5**	**76 ± 3**	**74 ± 2**	**43.1 ± 1.3**	**208 ± 15**
Controls (n=13)	**123 ± 3**	**75 ± 2**	**70 ± 3**	**37.0 ± 0.4**	**126 ± 17**

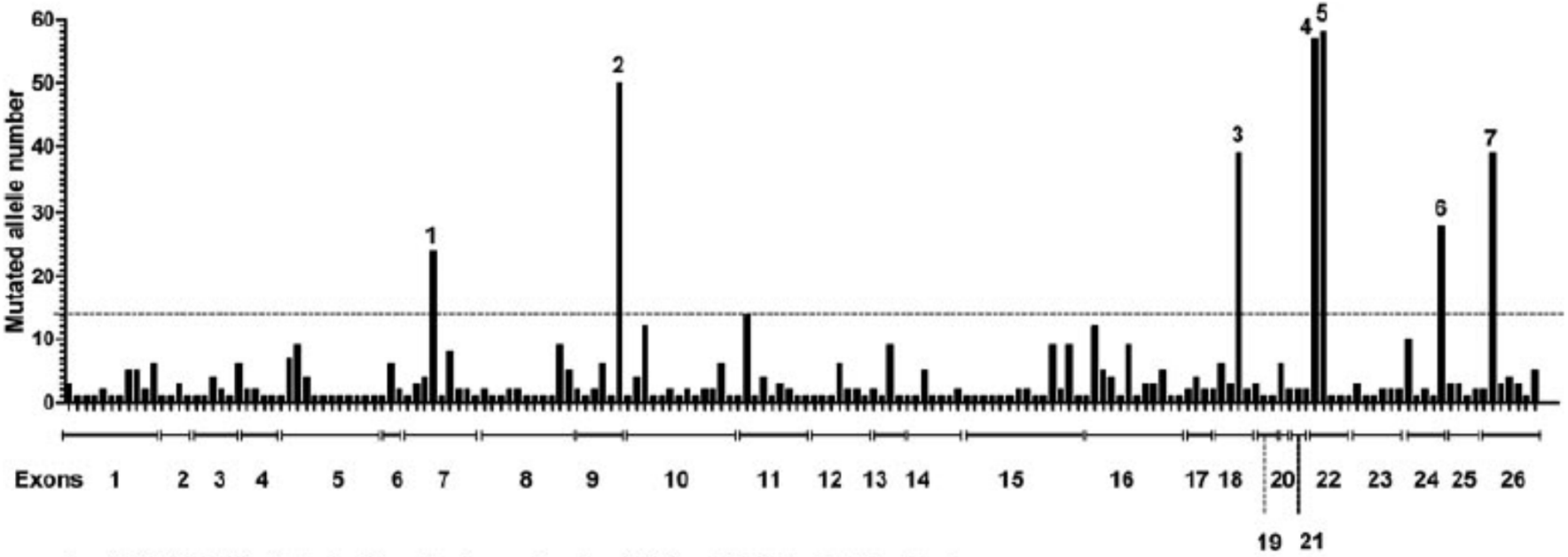
Favre, CJASN, 2012

Pression artérielle de la souris NCC$^{-/-}$



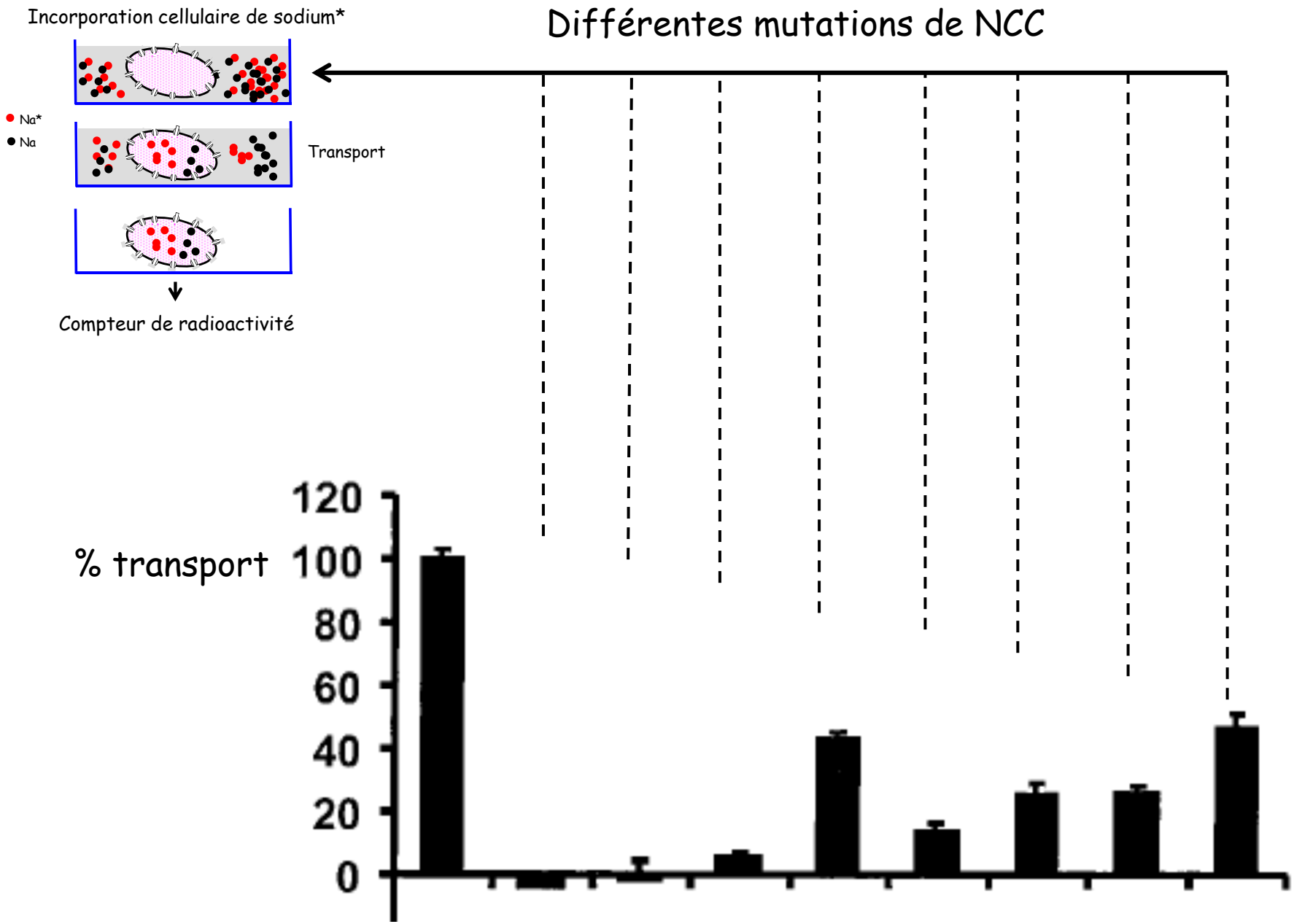
Schultheis, JBC 1998

Les mutations de SLC12A3 sur une cohorte de 480 patients non apparentés



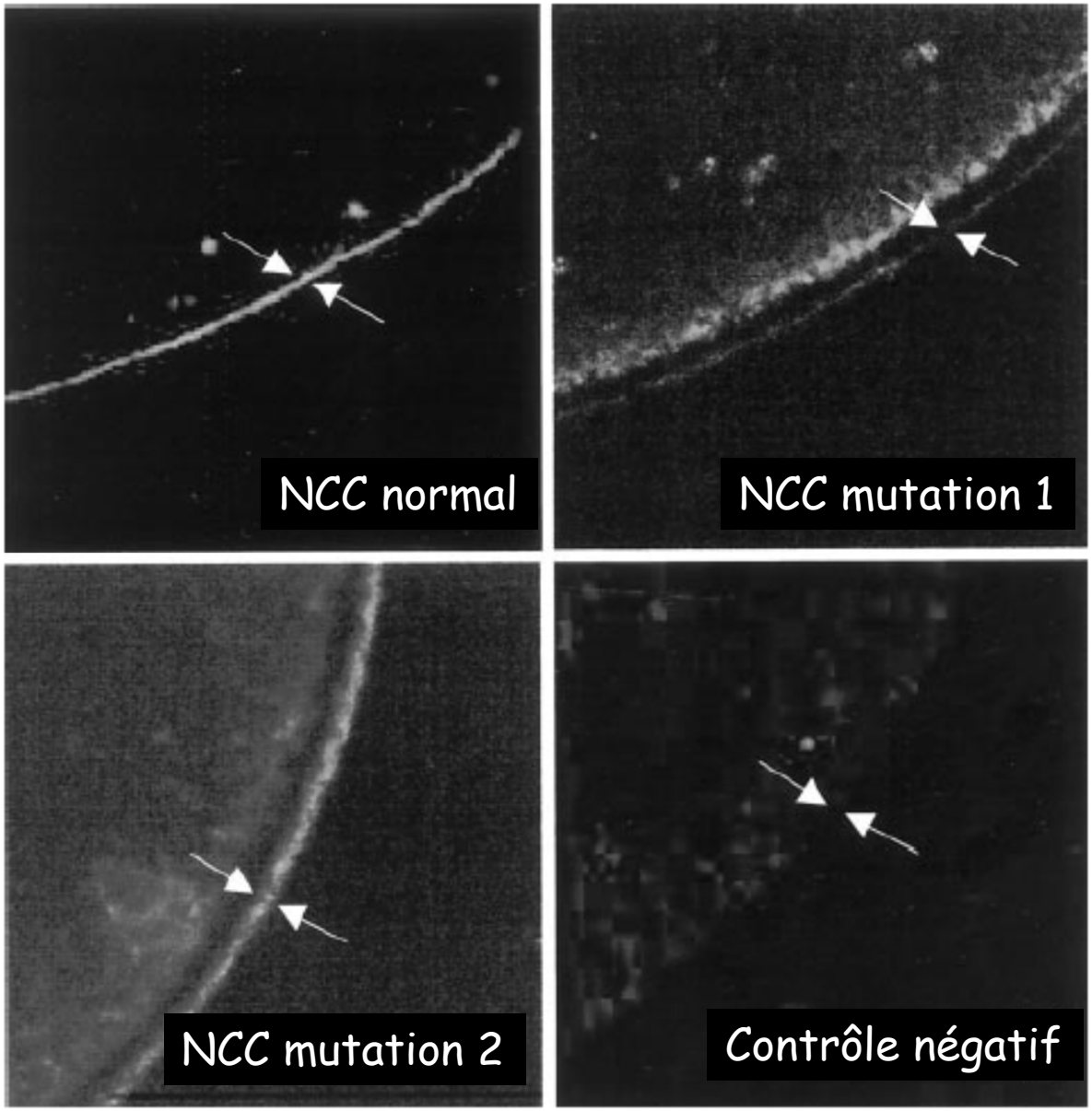
1. p.Ala313Val: 24 alleles in 23 patients
2. c.1180+1G>T: 50 alleles in 30 patients
3. p.Gly741Arg: 39 alleles in 36 patients
4. p.Leu859Pro: 57 alleles in 50 patients
5. p.Arg861Cys: 58 alleles in 51 patients
6. c.2883+1G>T: 28 alleles in 27 patients
7. p.Cys994Tyr: 39 alleles in 39 patients

Vargas-Poussou, JASN, 2011


Incorporation cellulaire de sodium*
Na*
Na
Transport
Compteur de radioactivité
Différentes mutations de NCC
% transport
120
100
80
60
40
20
0

Adressage membranaire de NCC

De Jong, JASN, 2002



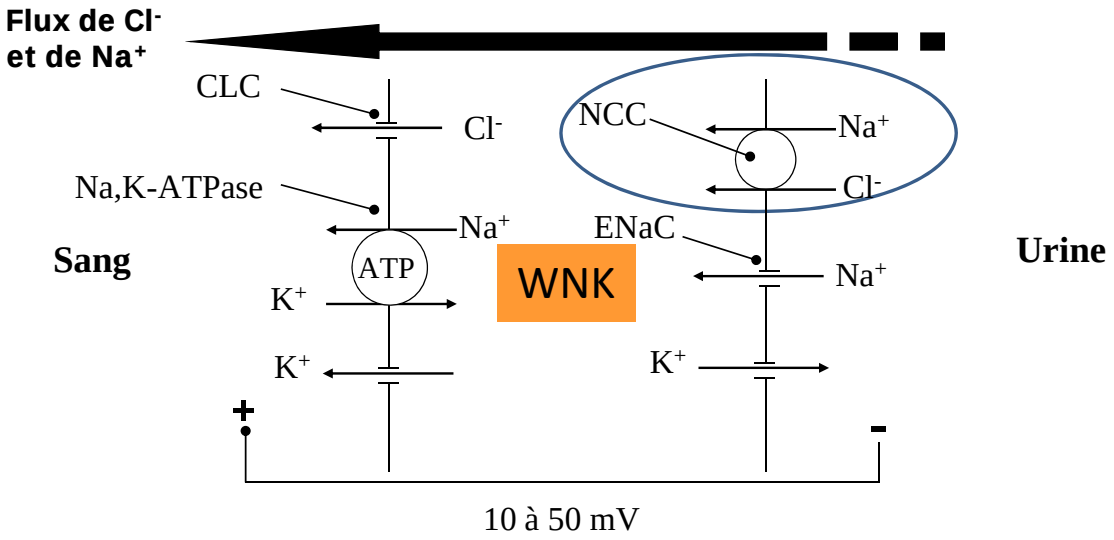
Ojectif: décrire le syndrome de Gitelman

Hypotension orthostatique, rénine et aldostéronémie élevée

Diminution de la réabsorption de sodium et de chlore par NCC

Mise en évidence expérimentale du rôle de NCC
(expression hétérologue)

« Maladie » des régulateurs du cotransporteur Na-Cl sensible au thiazide

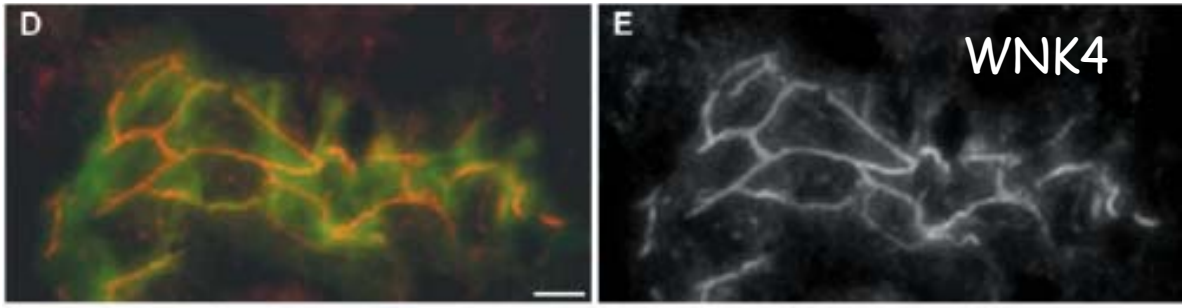


Immuno-histochimie et microscopie confocale

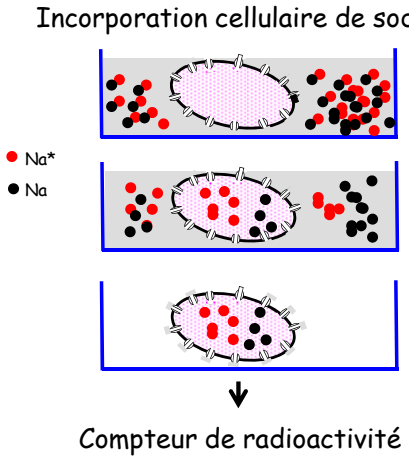
NCC = vert

WNK4 = rouge

DCT

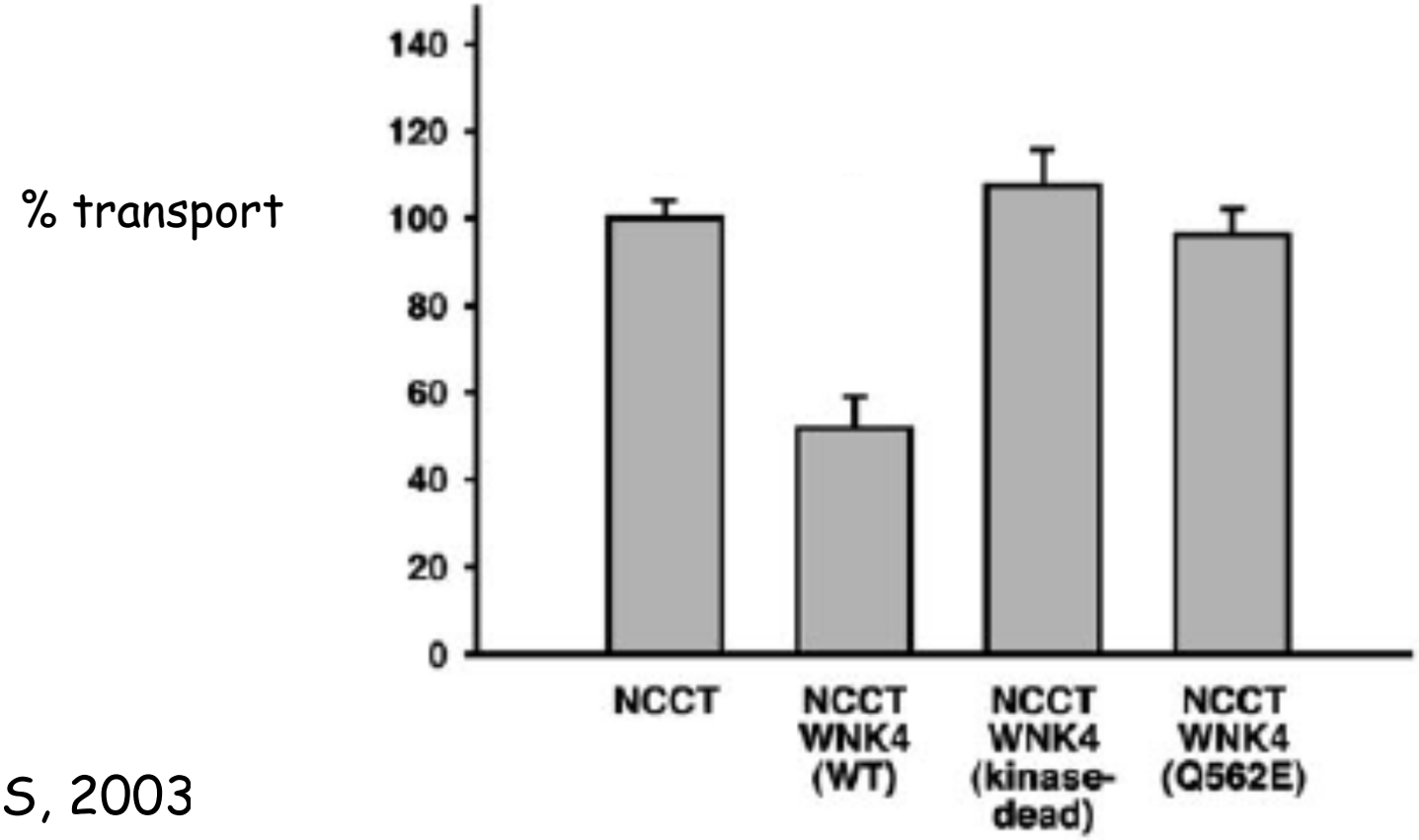


Wilson, Science, 2001



NCC
WNK4 du syndrome de Gordon

La perte de l'activité kinase de WNK4 reproduit le syndrome de Gordon NCC



Wilson , PNAS, 2003

Ojectif: décrire le syndrome de Gordon lié à WNK4

HTA, rénine basse et aldostéronémie inadaptée

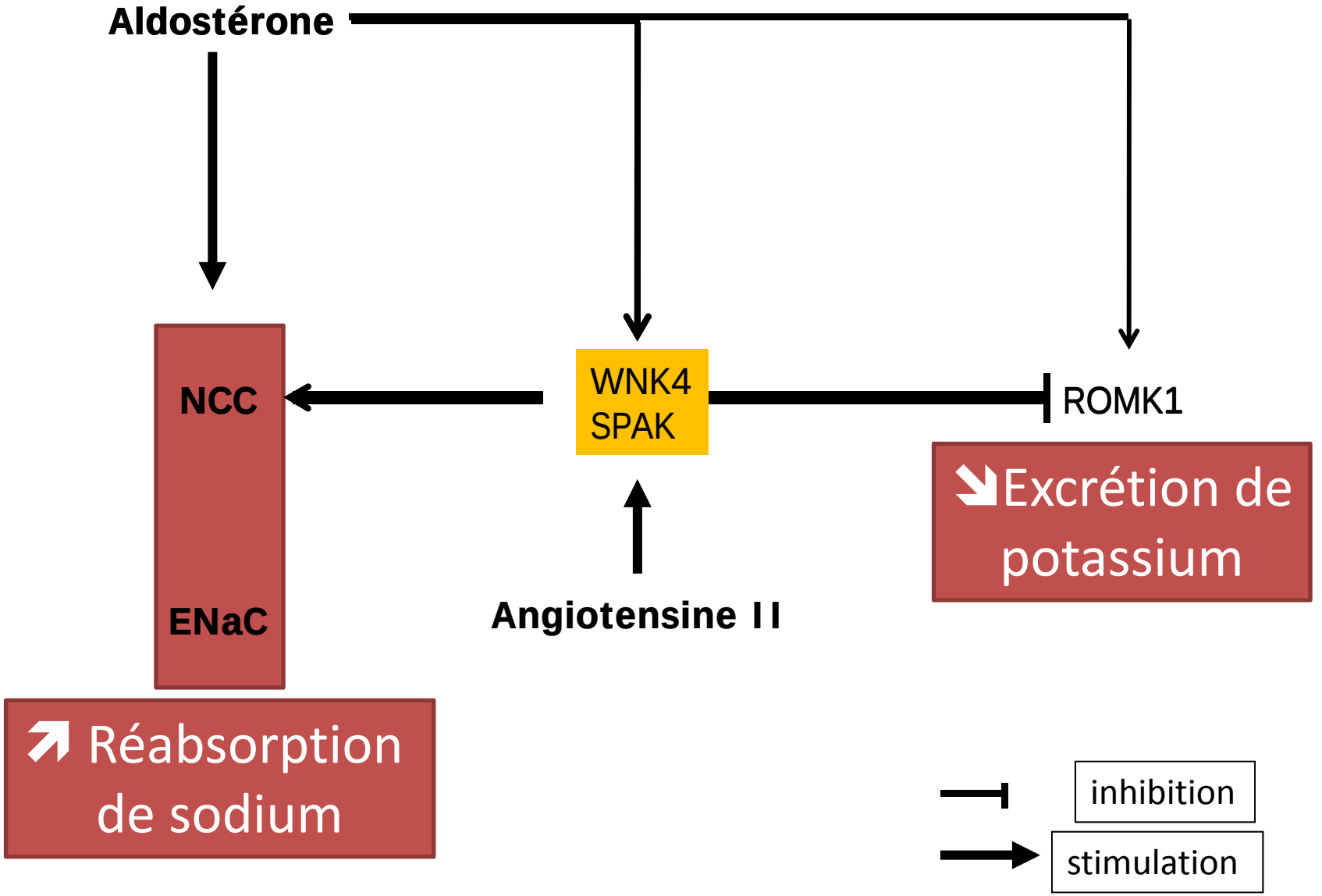
Augmentation de la réabsorption de sodium et de chlore par NCC

Mise en évidence expérimentale du rôle de WNK4
(expression hétérologue)

Quel rôle physiologique pour WNK4 ?

Découplage entre
réabsorption de Na^+ et sécrétion de K^+
dans le néphron sensible à l'aldostérone

Effet de l'AII et de l'aldostérone sur le néphron sensible à l'aldostérone



Objectif: rôle physiologique de WNK4

L'aldostérone permet de réabsorber du sodium et d'excréter du potassium

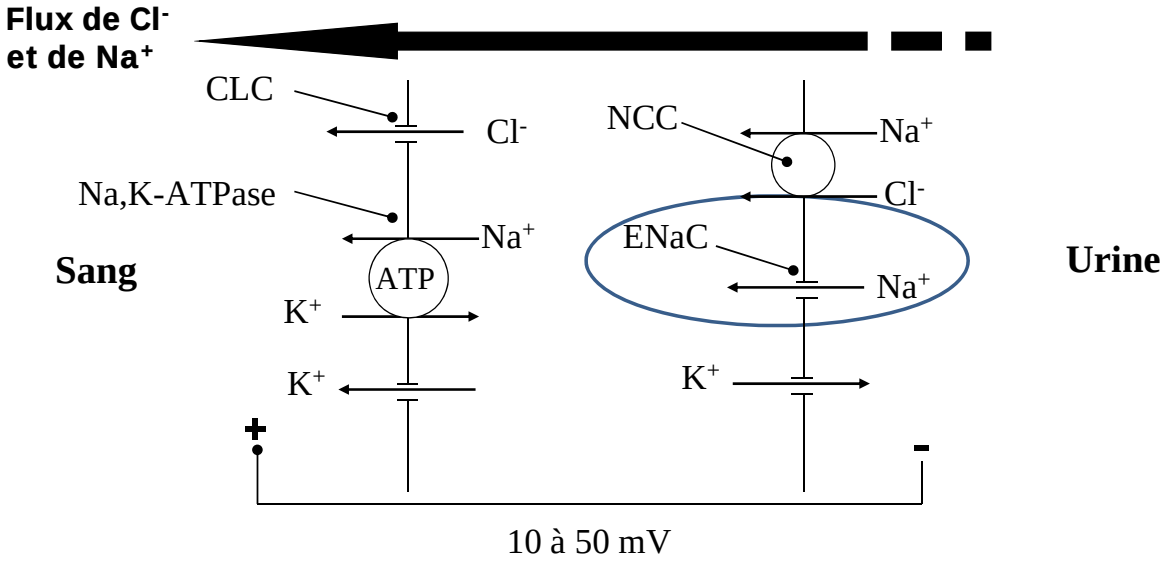
WNK4 est un interrupteur moléculaire

Il permet un découplage fonctionnel des transporteurs de Na et de K

➔ Découplage fonctionnel en cas de stimulation

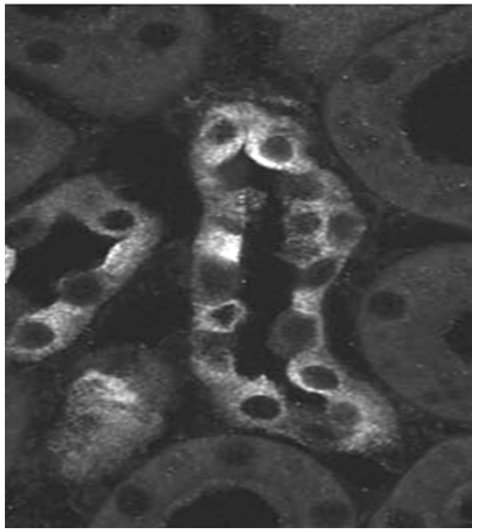
conjointe par l'angiotensine II et l'aldostérone (hypovolémie)

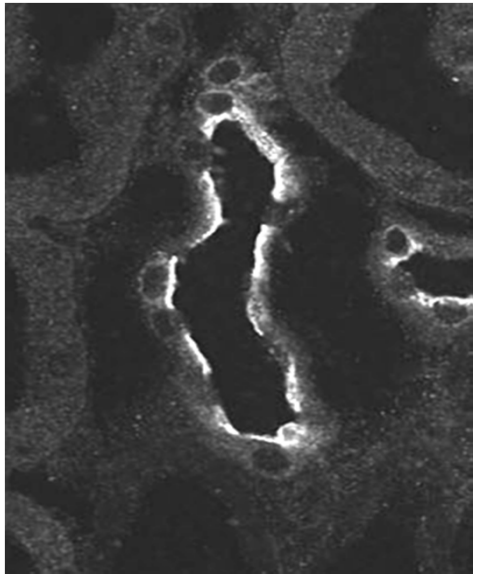
« Maladies » du canal sodique épithélial

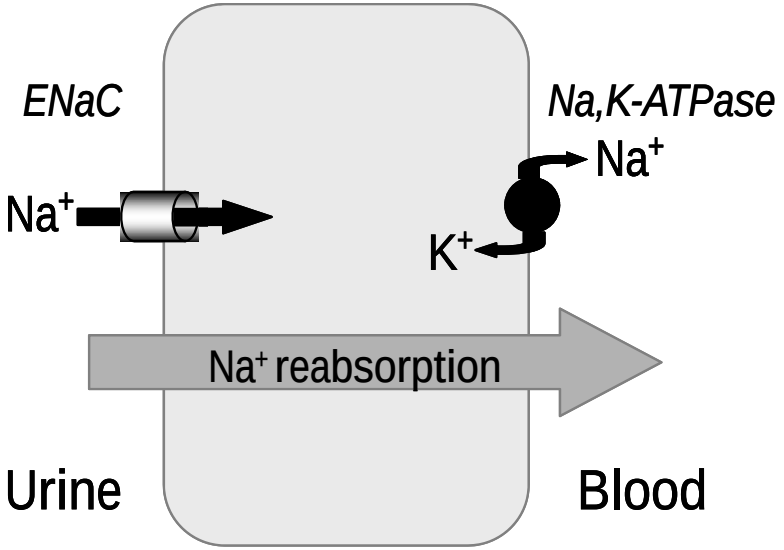


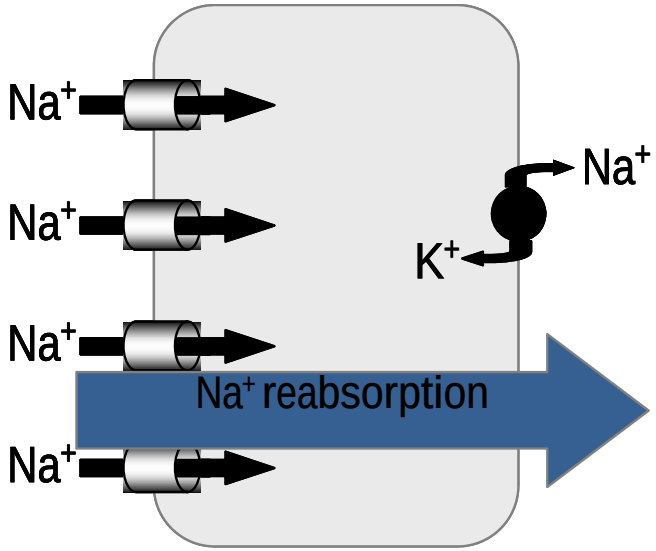
Effet de l'aldostérone sur ENaC

α ENaC

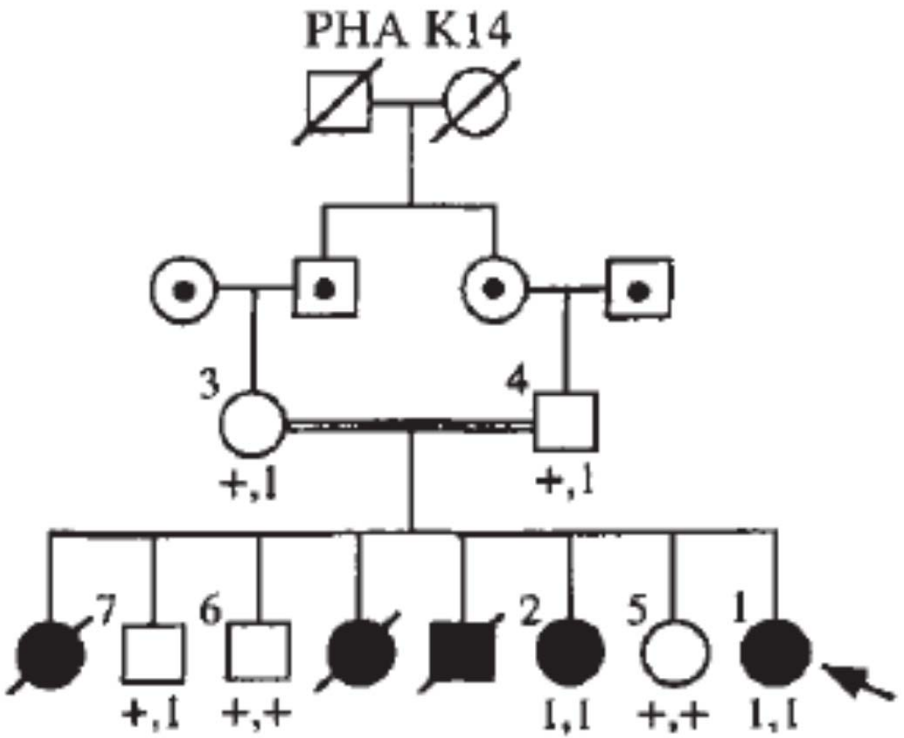








Pseudohypoaldostéronisme (type 1)



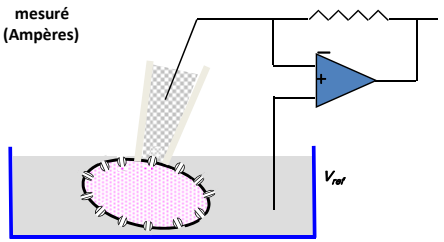
Forme autosomique récessive

Chang, 1996, Nat Genet

PATCH-CLAMP ET CANAUX IONIQUES

Loi d'Ohm

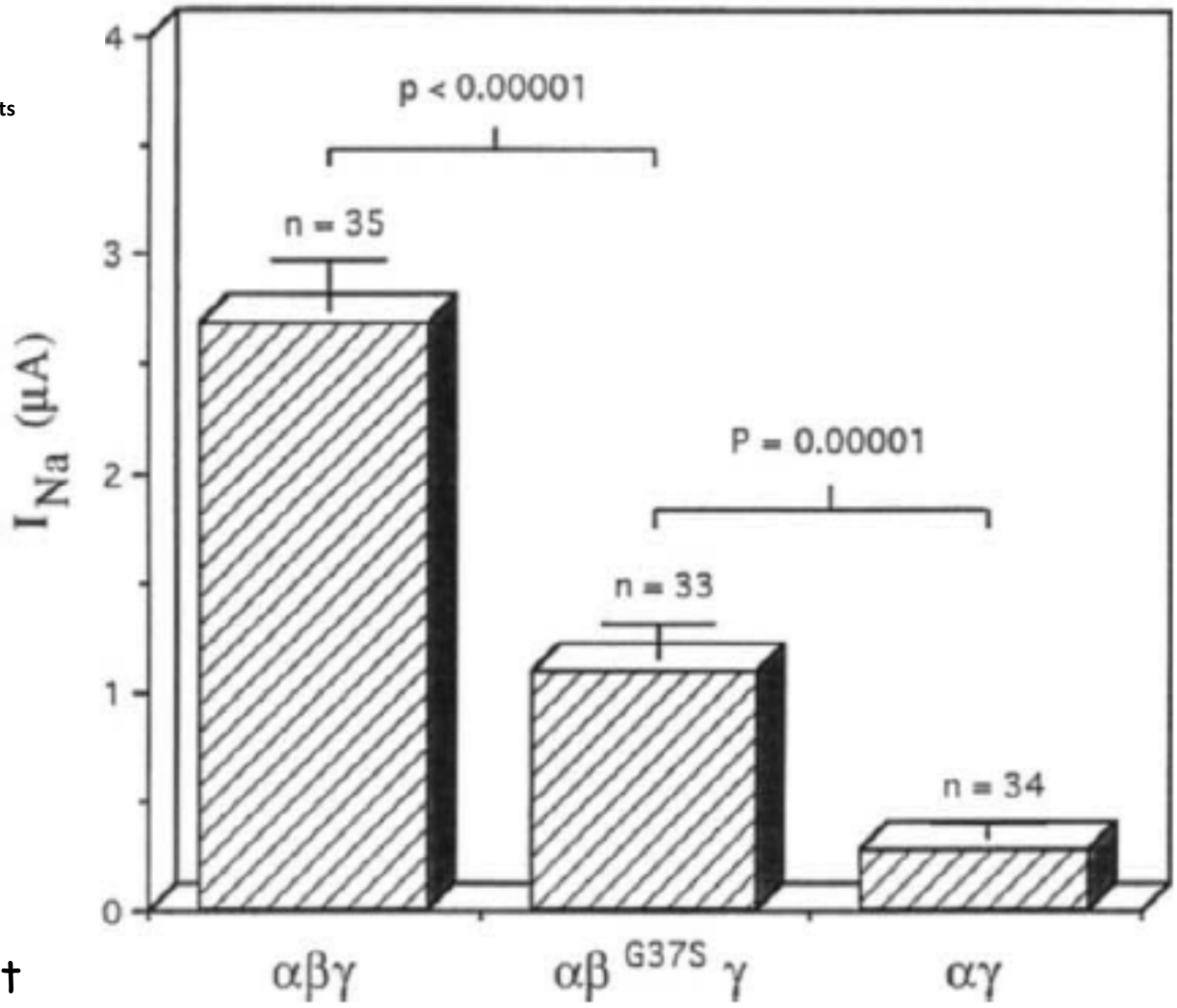
V	=	R	.	i
imposé (Volts)		calculé (Ohms)		mesuré (Ampères)



On impose des potentiels et on recueille les courants correspondants

Effet de la mutation d'ENaC sur le transport de Na^+

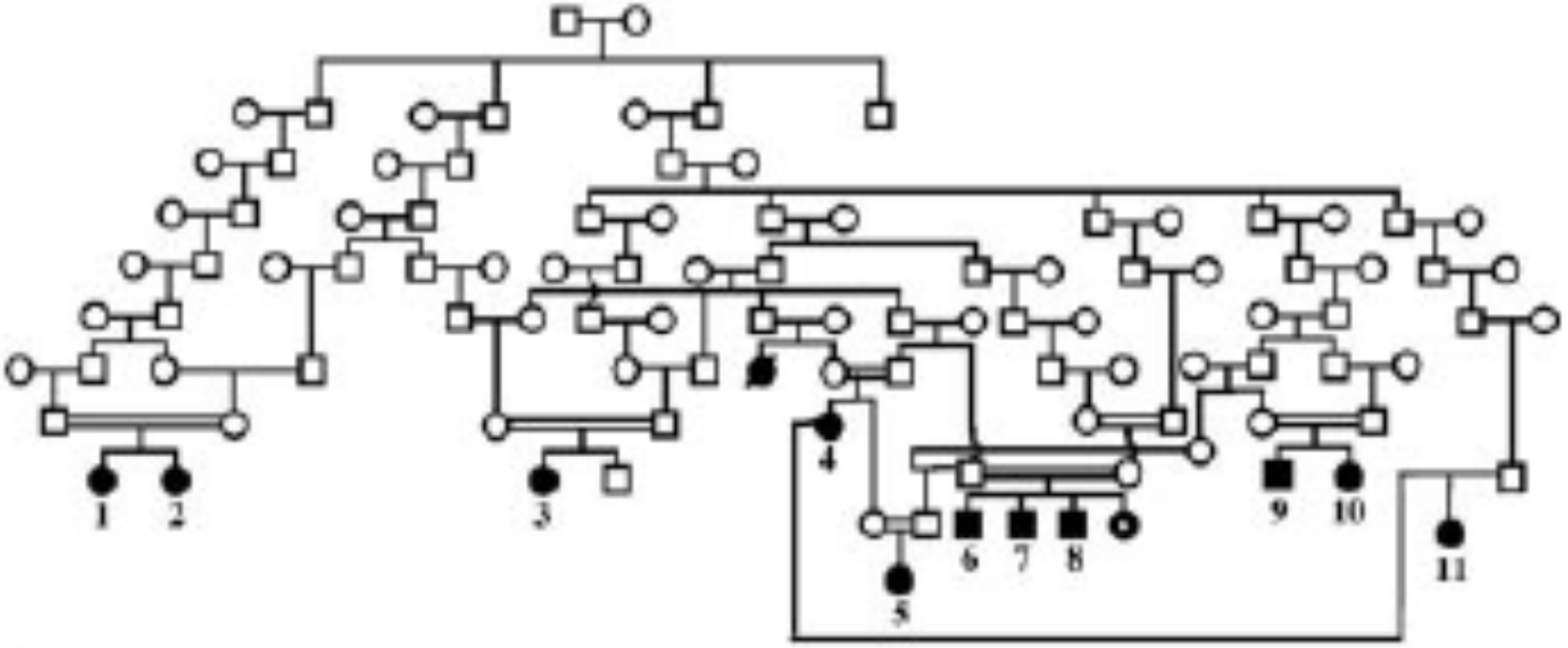
(exemple de la sous-unité β)



Chang, 1996, Nat Genet

Arbre généalogique d'une lignée présentant un syndrome de Liddle

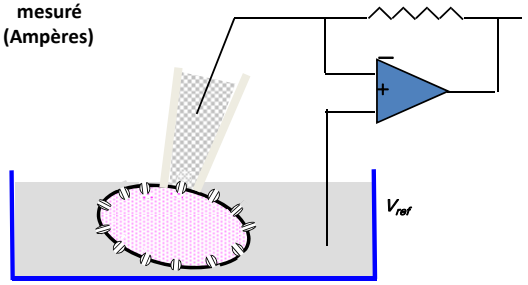
Simon, Science 1999



Transmission autosomique récessive

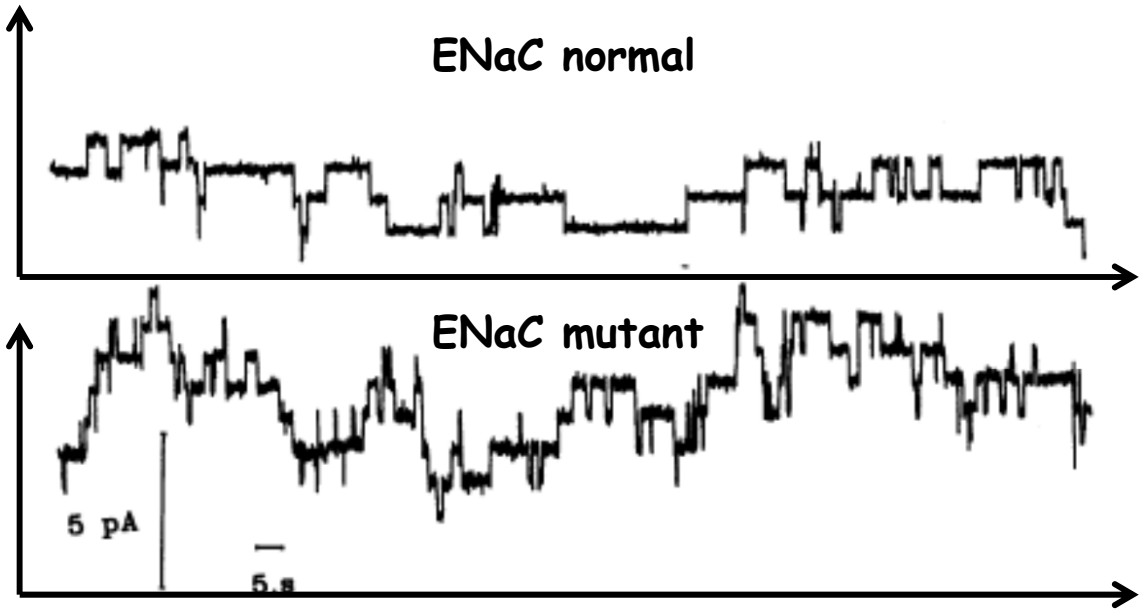
Loi d'Ohm

V	=	R	.	i
imposé (Volts)		calculé (Ohms)		mesuré (Ampères)



On impose des potentiels et on recueille les courants correspondants

Enregistrement du courant à potentiel bloqué



Augmentation de l'intensité du courant

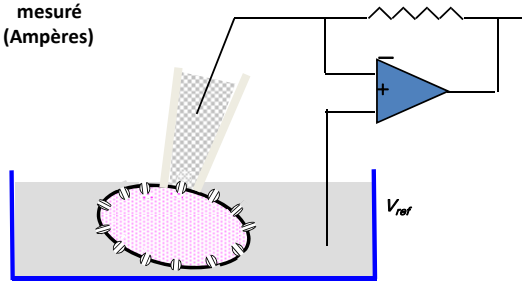
Augmentation du nombre de canaux

Schild, PNAS 1995

PATCH-CLAMP ET CANAUX IONIQUES

Loi d'Ohm

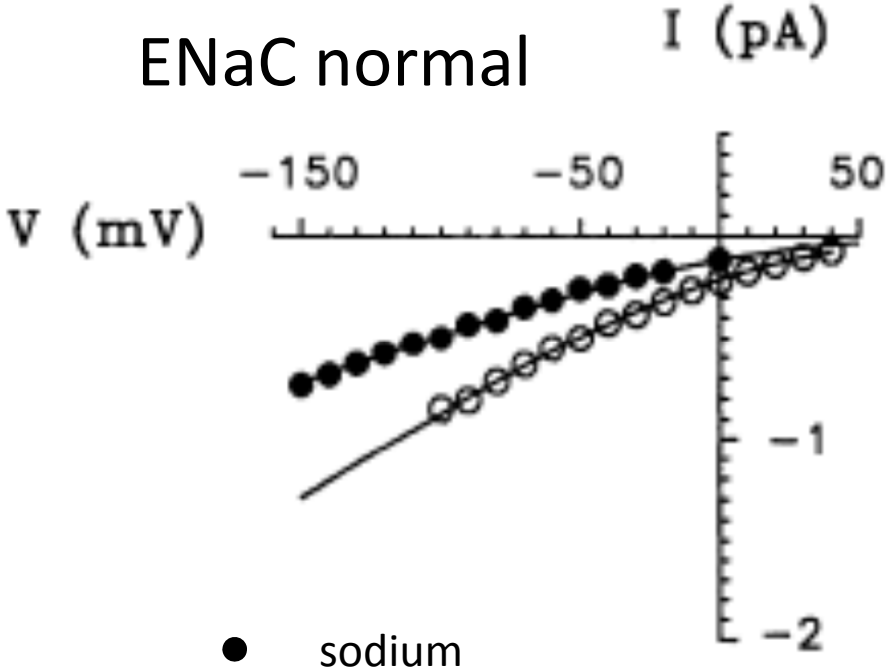
V	=	*R*	.	*i*
imposé (Volts)		calculé (Ohms)		mesuré (Ampères)



On impose des potentiels et on recueille les courants correspondants

Enregistrement du courant à différents potentiels

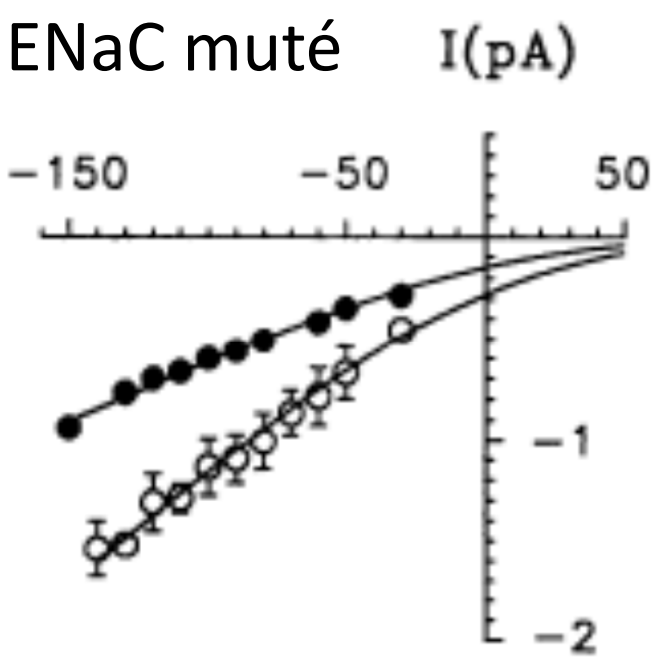
ENaC normal



● sodium

○ lithium

ENaC muté



Schild, PNAS 1995

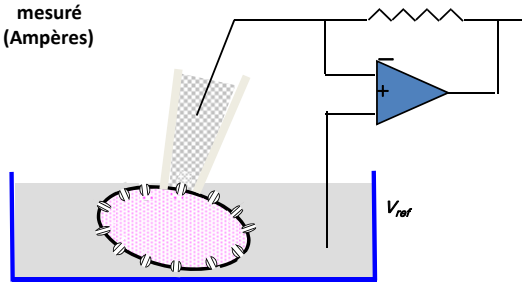
Expression de β ENaC sans extrémité C-ter

Amiloride : bloqueur d'ENaC

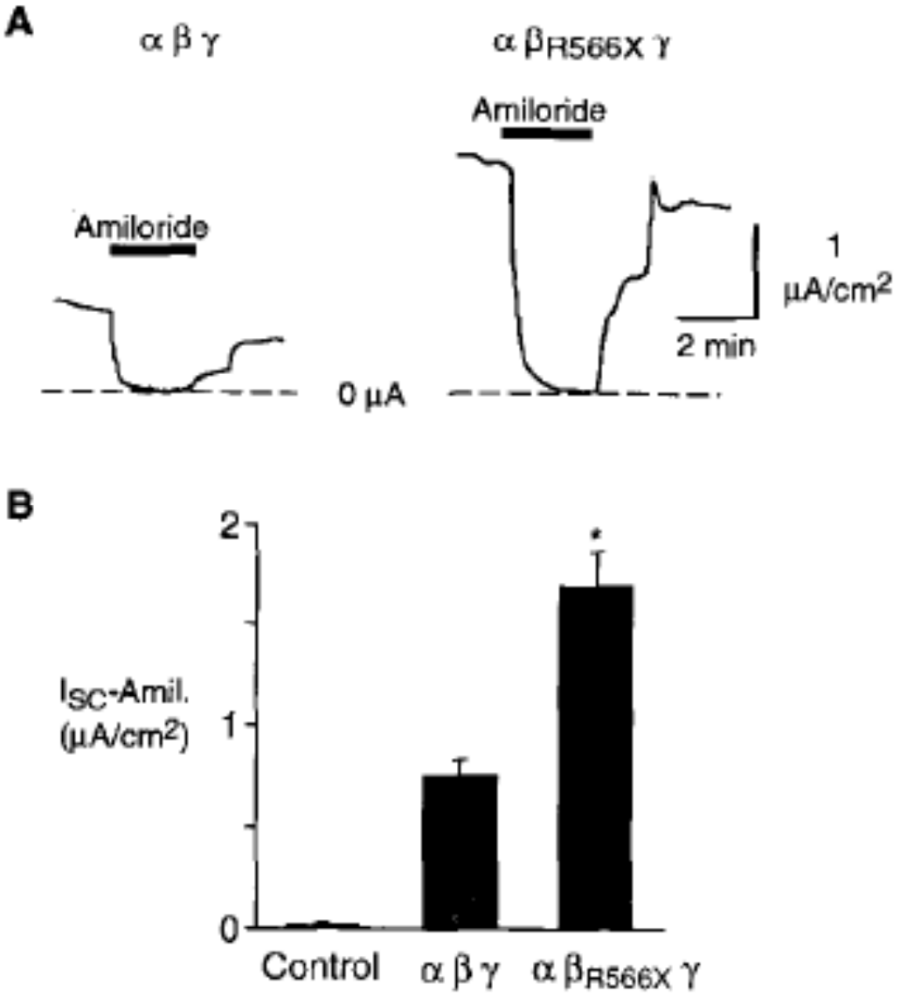
PATCH-CLAMP ET CANAUX IONIQUES

Loi d'Ohm

V	=	R	.	i
imposé (Volts)		calculé (Ohms)		mesuré (Ampères)



On impose des potentiels et on recueille les courants correspondants



Snyder, Cell 1995

Analyse in silico : domaines d'homologie et interaction protéine-protéine

Chen, PNAS 1995

Extrémité C-ter d'ENaC

Présence d'un motif riche en prolines (PPPPY)

Nedd4-2 ORF-1 FE65



Séquence de 38 AA contenant 2 résidus tryptophane (WW)

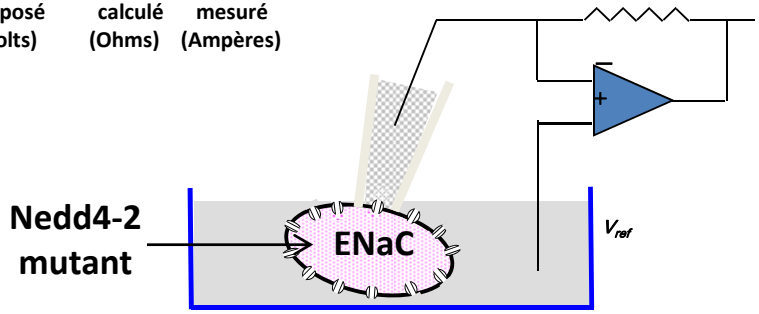
Noyau hydrophobe avec 1 feuillet β de chaque côté

Affinité prédite pour le motif PPPPY

PATCH-CLAMP ET CANAUX IONIQUES

Loi d'Ohm

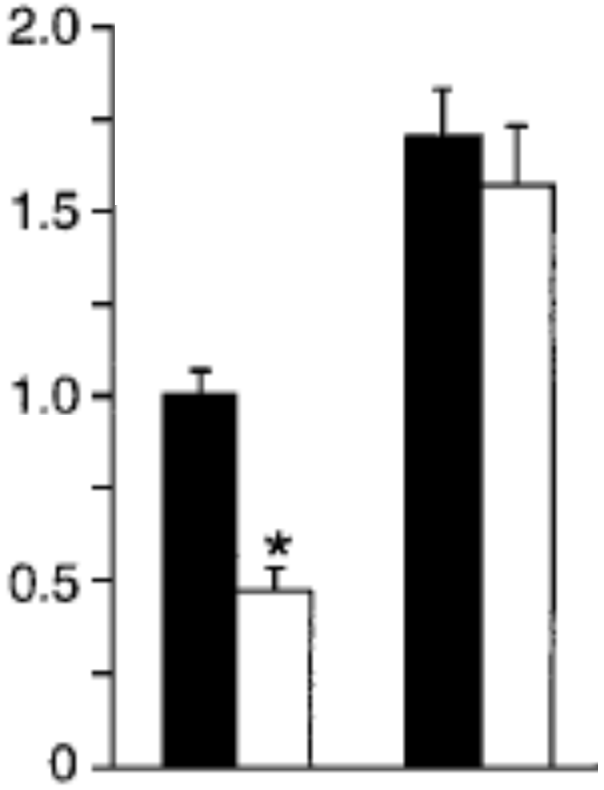
V	=	R	.	i
imposé (Volts)		calculé (Ohms)		mesuré (Ampères)



On impose des potentiels et on recueille les courants correspondants

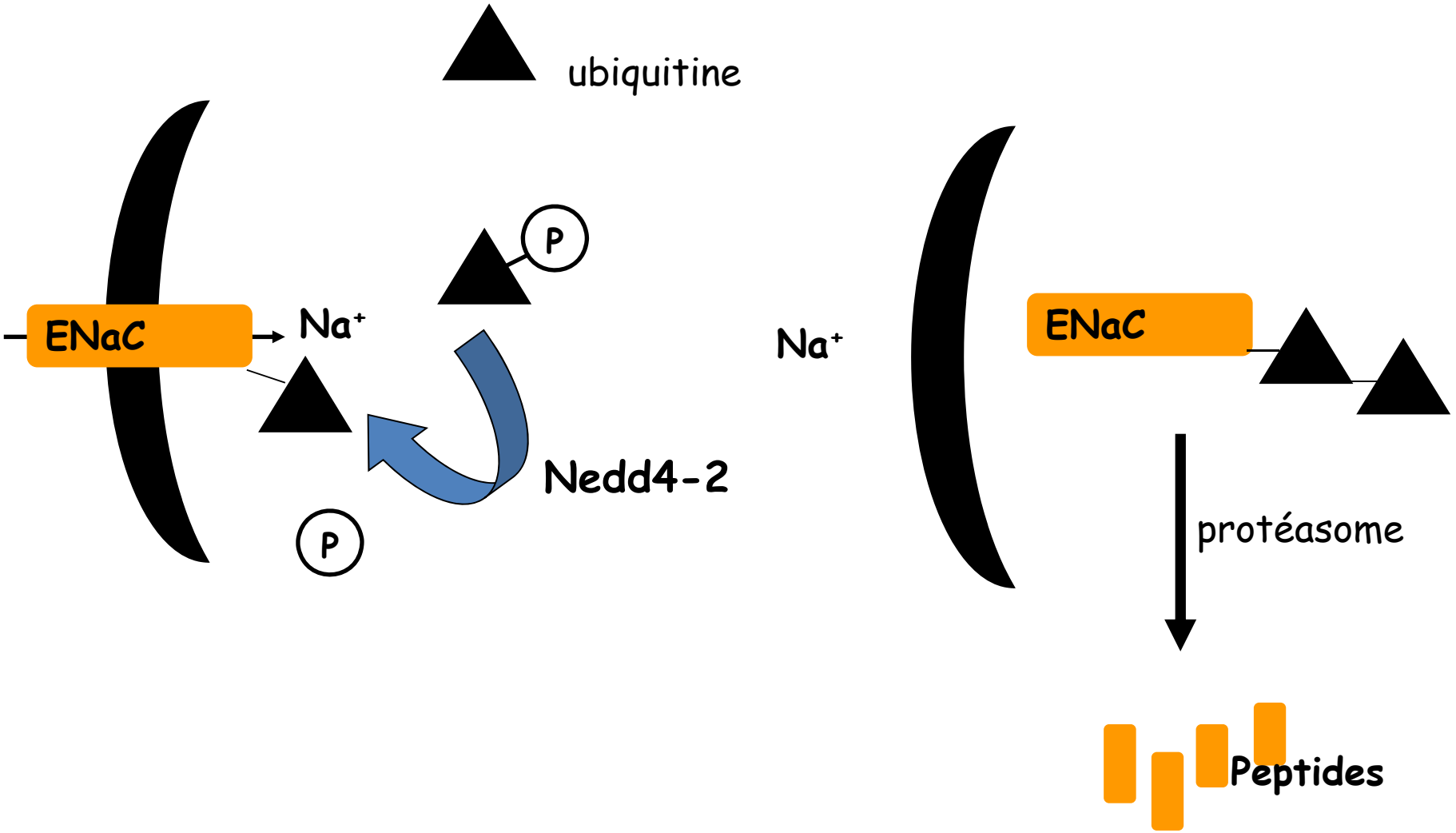
Effet de Nedd4-2 avec délétion c-ter sur ENaC

Intensité relative



Snyder, Cell 1995

Régulation physiologique d'ENaC



Objectif : décrire la régulation d'ENaC

Expression membranaire régulée par ubiquitination

Nedd4-2 = ubiquitine-ligase spécifique d'ENaC

Interaction entre Nedd4-2 et les boucles intra-cellulaires des sous-unités β et γ d'ENaC