

# Sodium et potassium

## Physiologie et pathologie

UNS-INSERM 907  
CHU Pasteur, Néphrologie  
Favre@unice.fr

# PLAN

## Physiologie

Transport de sodium et de potassium dans le néphron sensible à l'aldostérone

Pathologie → Hypertension artérielle

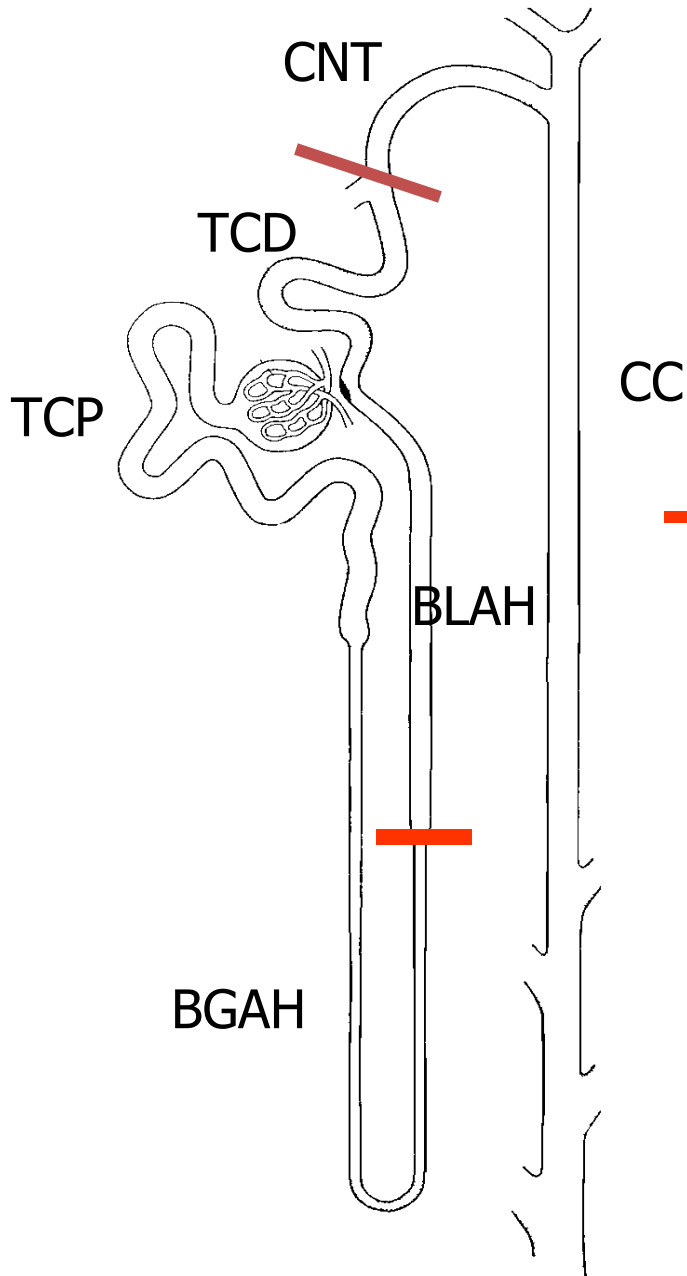
Définition

Approche expérimentale

Approche génétique

Formes monogéniques

Approche environnementale



Tube proximal

TCP : tube contourné proximal

BGAH : branche grêle anse de Henle

CC

BLAH

BLAH : branche large anse de Henle

TCD : tube contourné distal

Tube distal

CNT : tube connecteur

CC : canal collecteur

BGAH

*Segment sensible à l'aldostérone*

# Réabsorption de Na : rôle du tube proximal et du tube distal

## Balance tubulo-glomérulaire

Le pourcentage de Na réabsorbé est proportionnel au débit de Na filtré

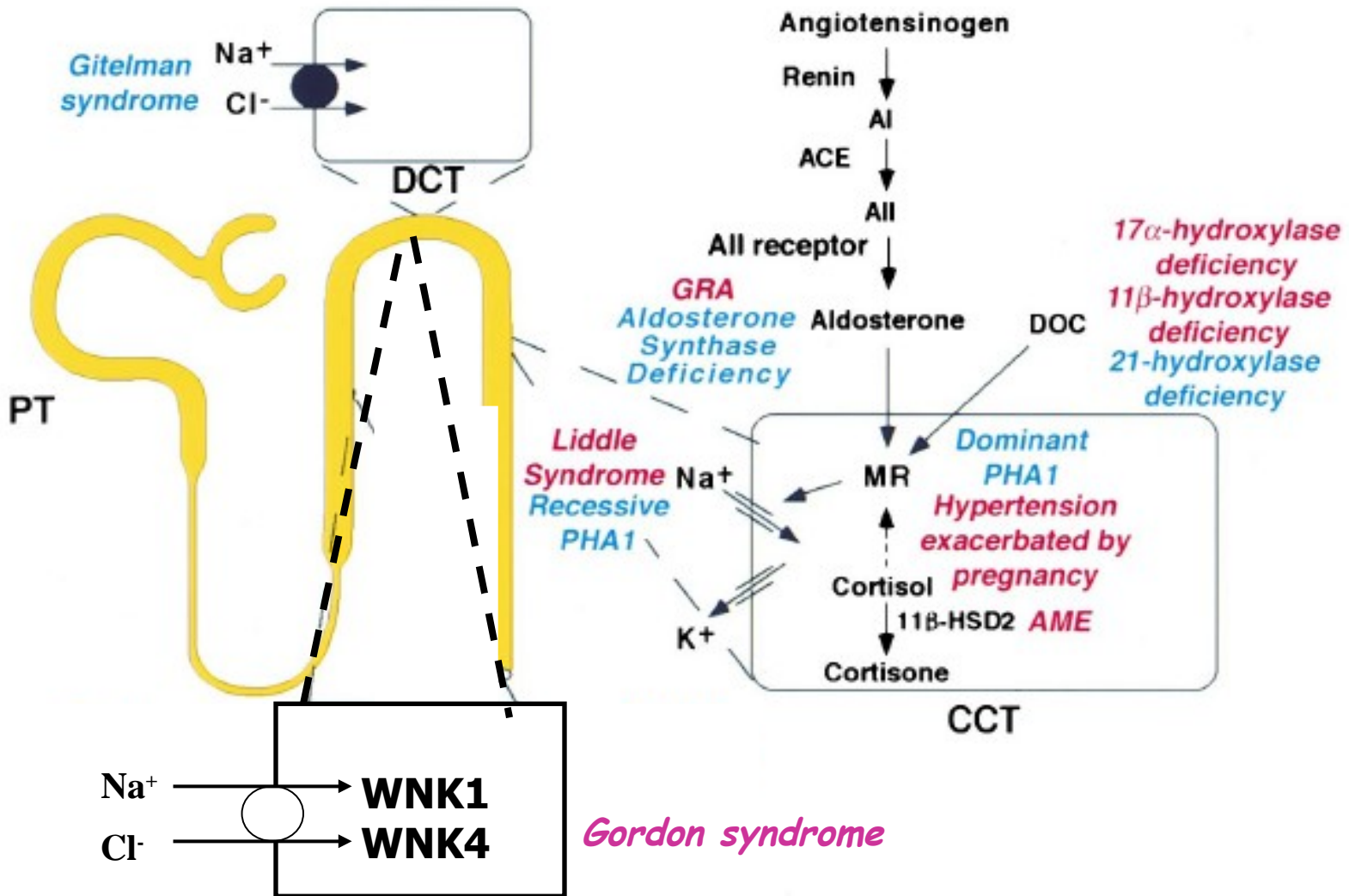
La réabsorption proximale de Na est inversement proportionnelle à la volémie

## Rétrocontrôle tubulo-glomérulaire

Le débit de filtration glomérulaire est inversement proportionnel au débit de Na délivré au tube distal

La réabsorption distale de Na assure le maintien de la volémie

# Maladies monogéniques modifiant la pression artérielle



# Relation Na, K dans le tube distal

## Rôle de l'aldostérone

### **Na extracellulaire**

Proportionnel à la volémie

Aldostéronémie  
inversement proportionnelle  
aux apports sodés

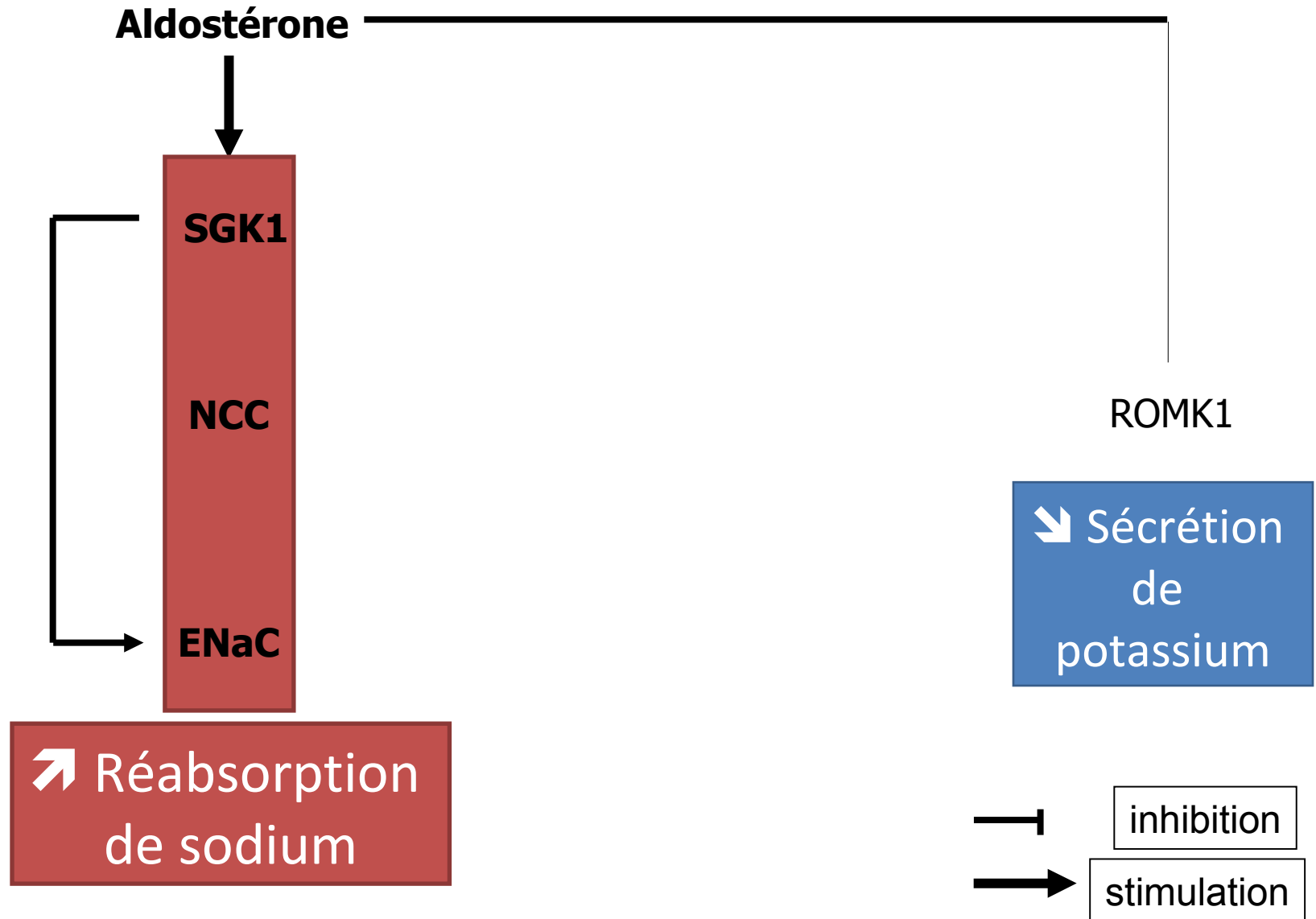
### **K extracellulaire**

Aldostéronémie  
proportionnelle  
à la kaliémie

# Effets de l'aldostérone

	↗ ALDO	↘ ALDO
TA	↗	↘
Réabsorption rénale de Na	↗	↘
Kaliémie	↘	↗
Sécrétion rénale de K	↘	↗
Exemples en pathologie	Adénome de Conn	Maladie d'Addison

# Action moléculaire de l'aldostérone



# Paradoxe de l'aldostérone

HYPOVOLEMIE

Réabsorption proximale de Na, Cl et d'eau

➔ Rénine  
➔ Angiotensine II

Dépolarisation des cellules de la zone glomérulée de la CS

➔ Réabsorption de Na dans le NSA

➔ ALDOSTERONE

⬇ natriurèse

➔ kaliurèse



## Rôles de WNK4

Effet variable sur NCC : activation ou inhibition

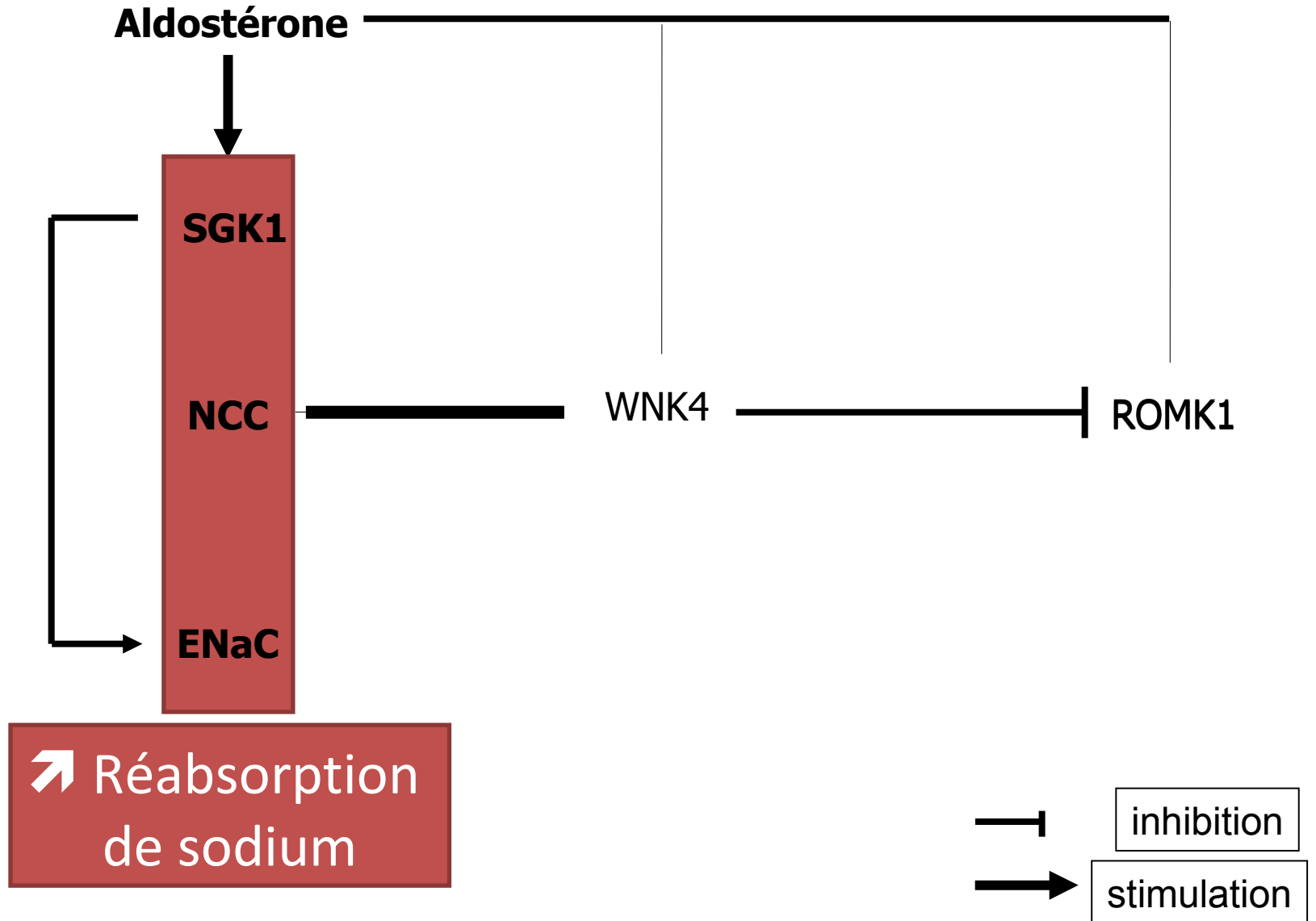
Activation par l'angiotensine II  
Inhibition par l'aldostérone

Interrupteur

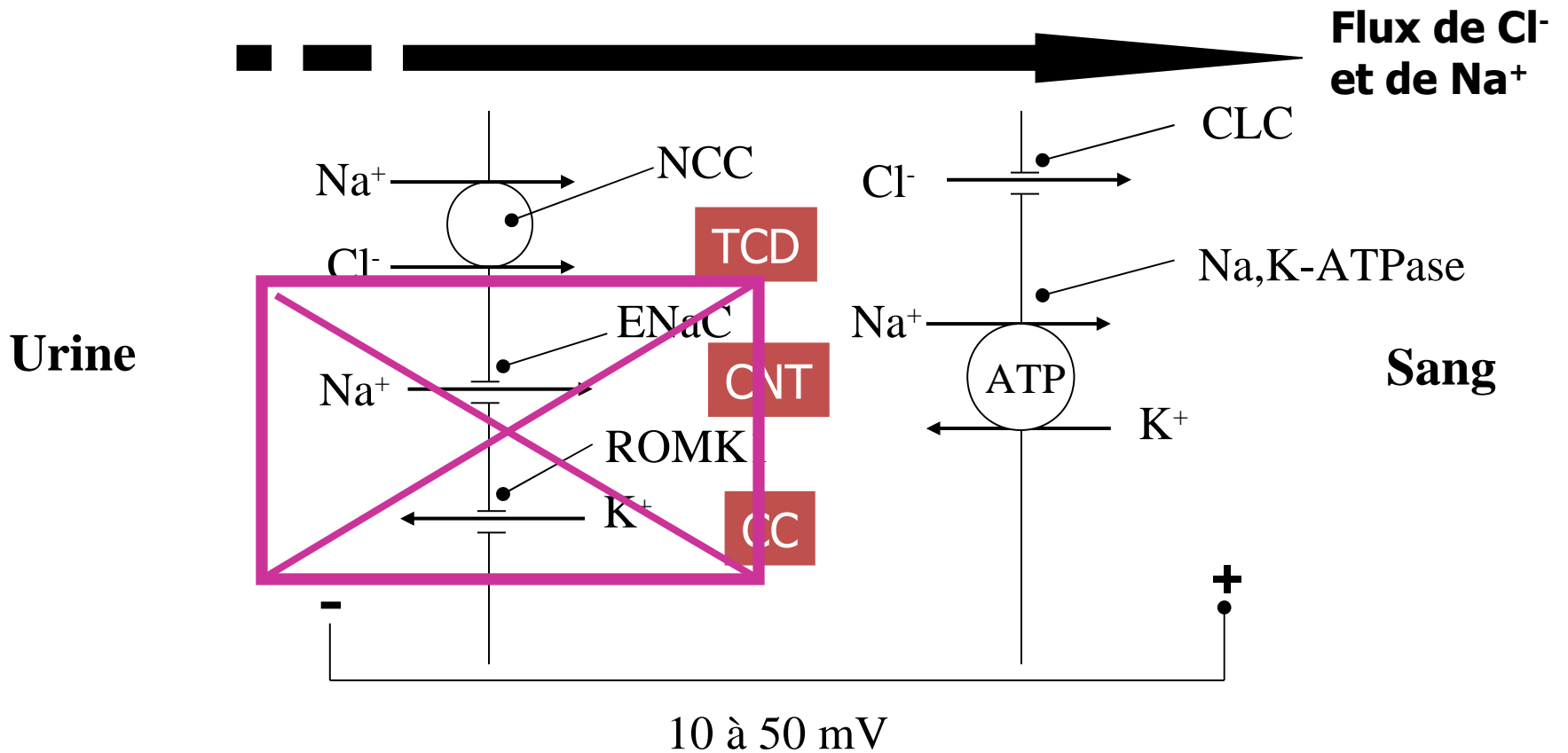
Inhibition d'ENaC

Inhibition de ROMK

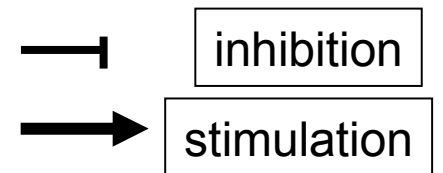
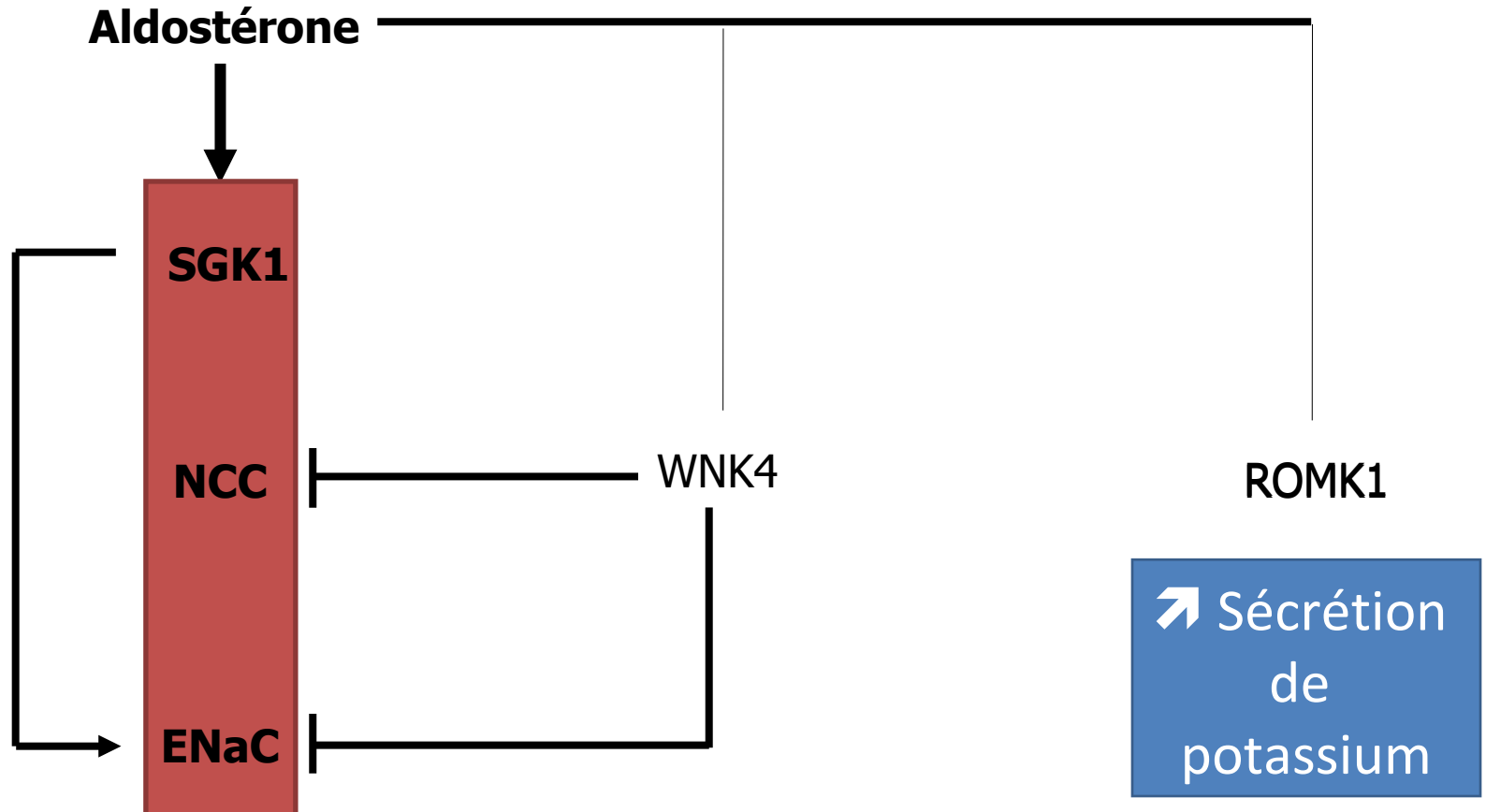
# Hypovolémie



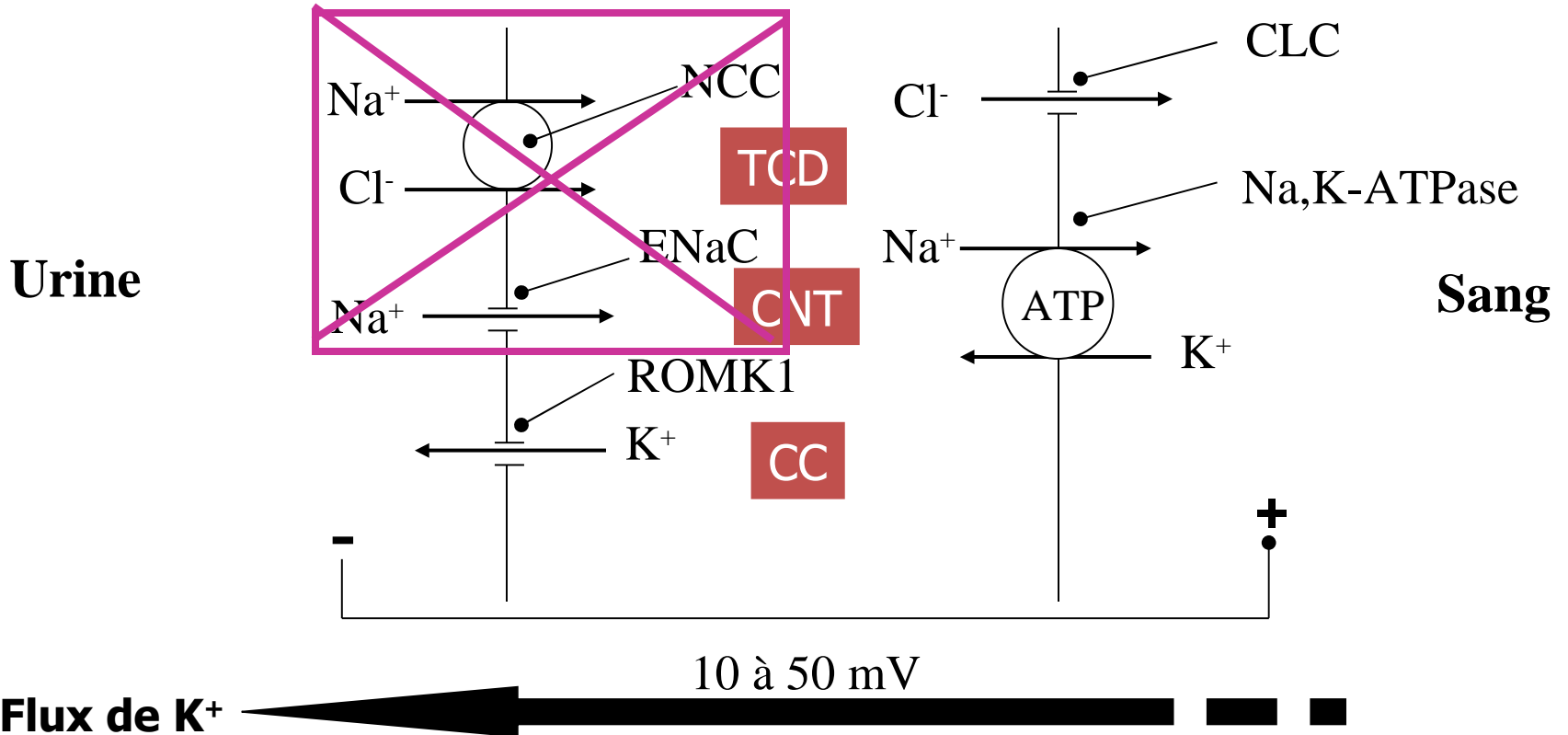
# Hypovolémie



# Hyperkaliémie



# Hyperkaliémie



# Objectif: fonctionnement du NSA

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

→ Couplage fonctionnel des transporteurs de Na et de K

L'aldostérone est sécrétée en réponse à une hypovolémie ou une hyperkaliémie

→ WNK4 est un interrupteur moléculaire

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

# PLAN

## Physiologie

Transport de sodium et de potassium dans le néphron sensible à l'aldostérone

## Pathologie → Hypertension artérielle

Définition

Approche expérimentale

Approche génétique

Formes monogéniques

Approche environnementale

# Définition de l'HTA

**Table 1 Definitions and classification of blood pressure levels (mmHg)**

Category	Systolic	Diastolic
Optimal	< 120	< 80
Normal	120–129	80–84
High normal	130–139	85–89
Grade 1 hypertension (mild)	140–159	90–99
Grade 2 hypertension (moderate)	160–179	100–109
Grade 3 hypertension (severe)	≥ 180	≥ 110
Isolated systolic hypertension	≥ 140	< 90

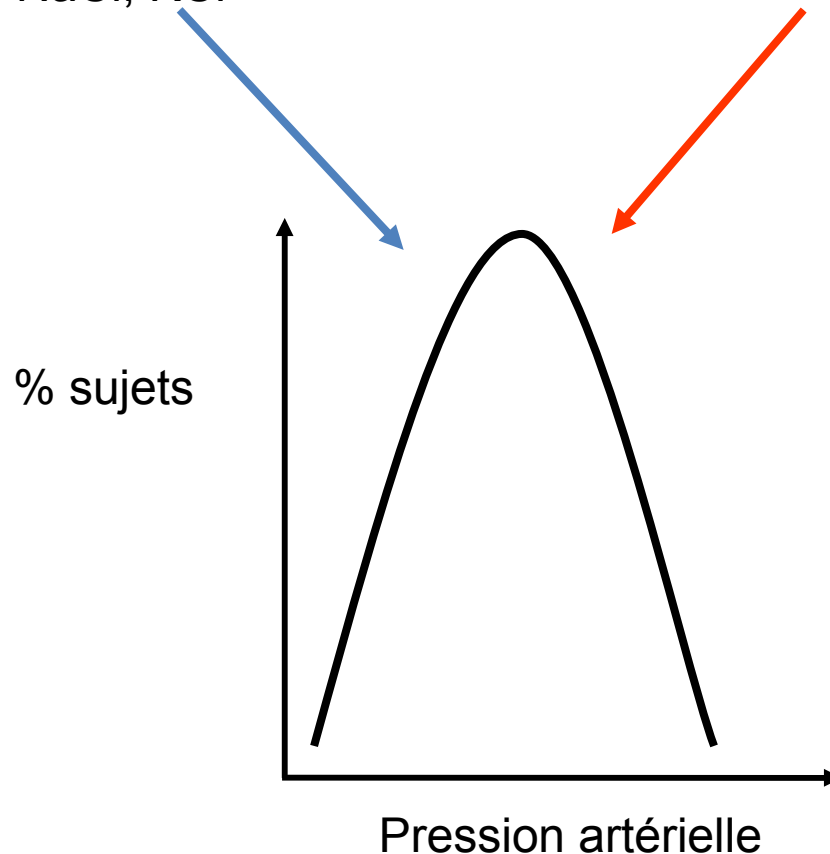
When a patient's systolic and diastolic blood pressures fall into different categories, the higher category should apply. Isolated systolic hypertension can also be graded (grades 1, 2, 3) according to systolic blood pressure values in the ranges indicated, provided diastolic values are <90.

# Etude de l'hypertension artérielle essentielle

Pression artérielle = caractère quantitatif continu

Environnement  
Apports de NaCl, KCl

Génome

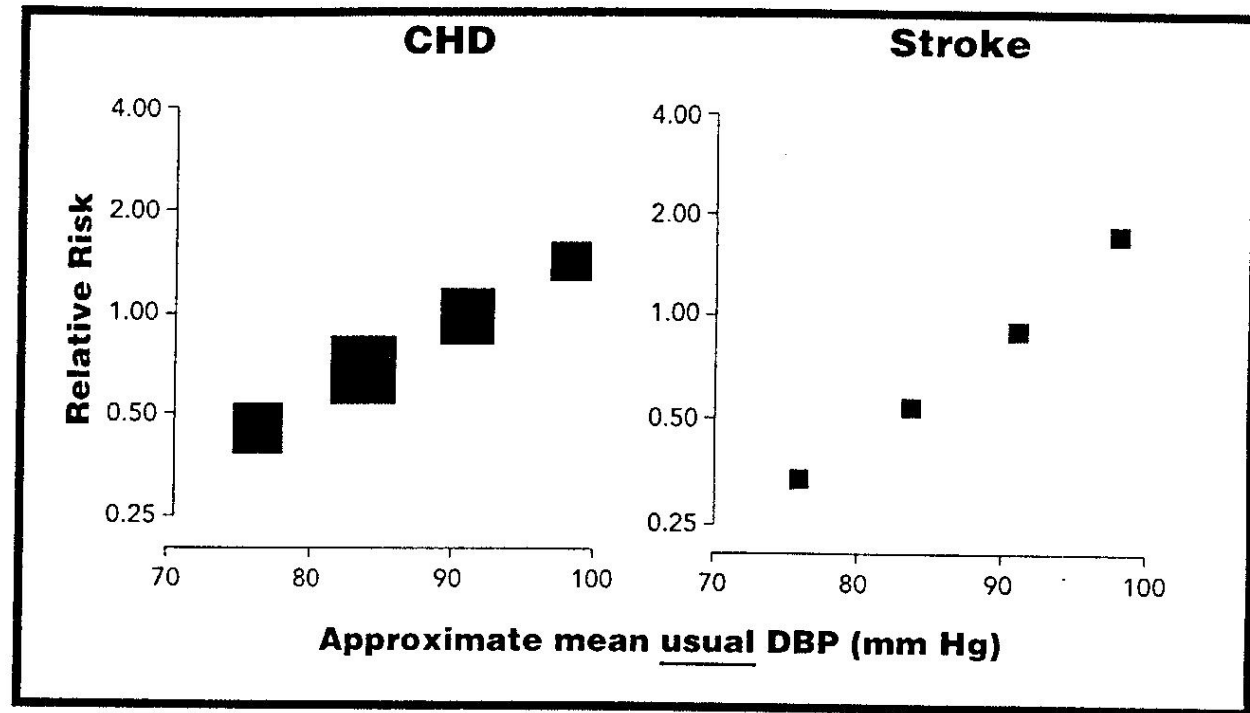


# Hypertension artérielle

25 % de la population des pays développés

Facteur de mortalité cardiovasculaire

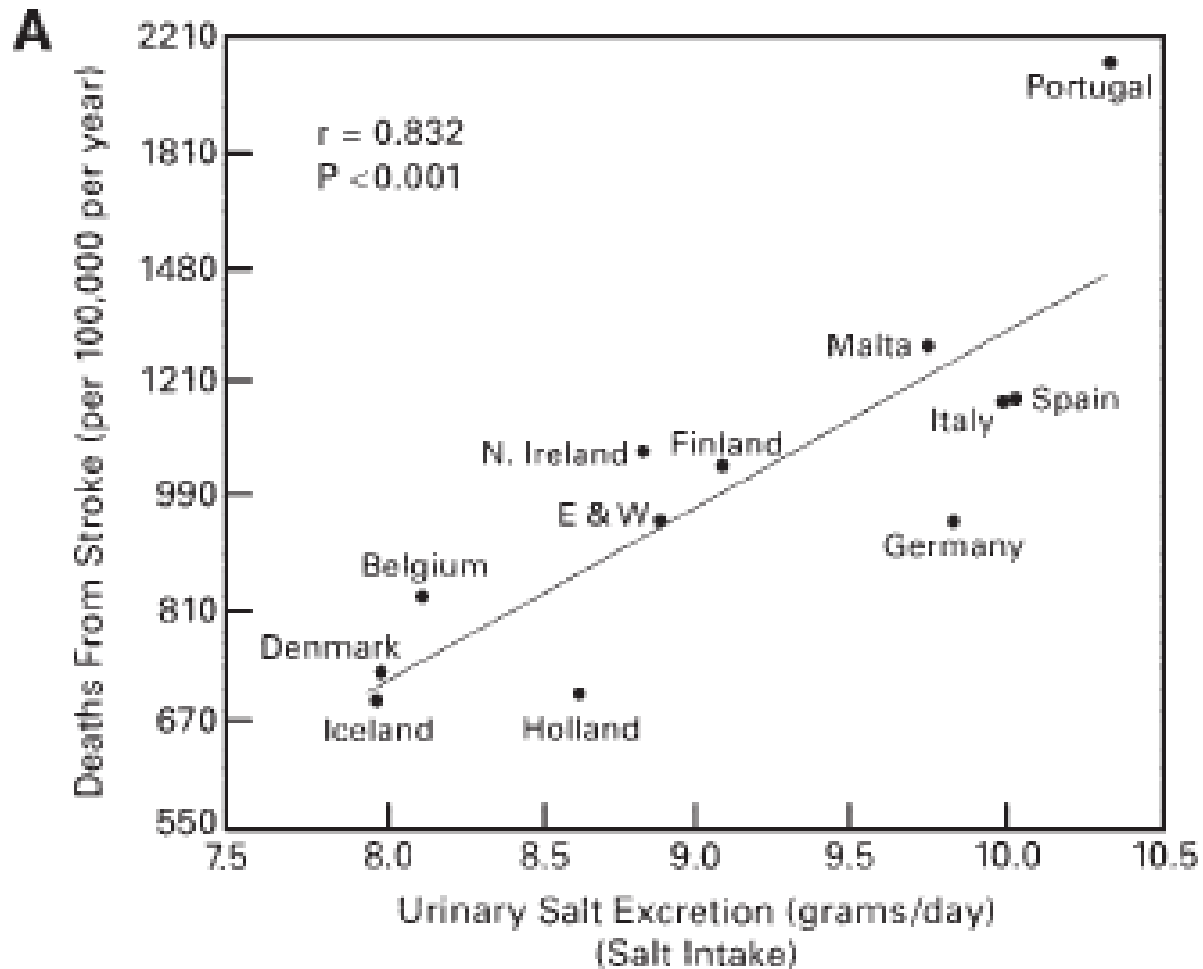
Figure 1.  
**Relative risk of coronary heart disease (CHD) and stroke in relation to patients' usual diastolic BP:**  
square sizes  
proportional to numbers  
of events



Based on MacMahon et al,  
Lancet 1990, 335: 765-74

Primitive dans 99% des cas, secondaire dans 1% des cas

# Mortalité par accident vasculaire cérébral



Données d'Intersalt  
Meneton, *Physiol Rev* 2005

# PLAN

## Physiologie

Transport de sodium et de potassium dans le néphron sensible à l'aldostérone

## Pathologie → Hypertension artérielle

Définition

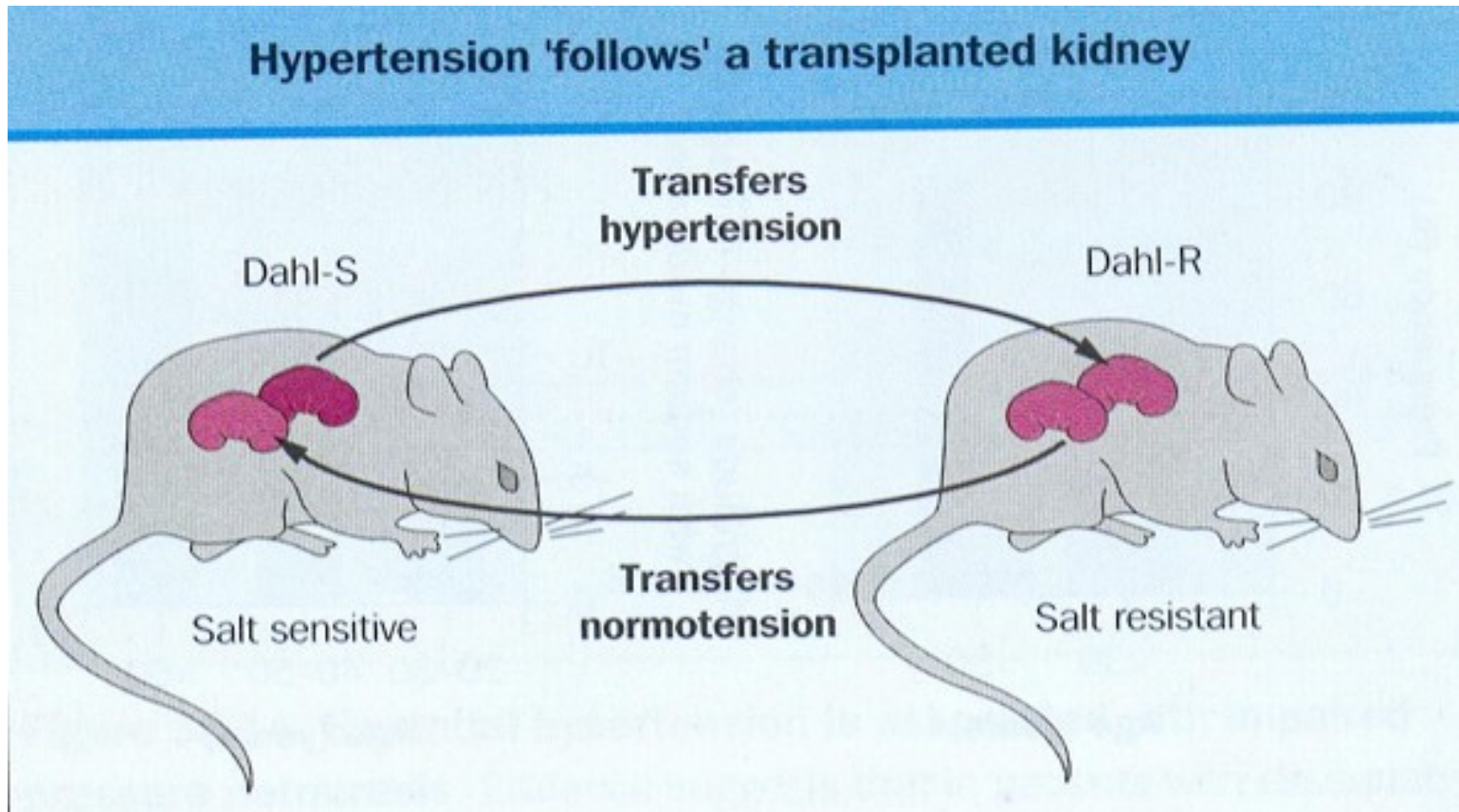
Approche expérimentale

Approche génétique

Formes monogéniques

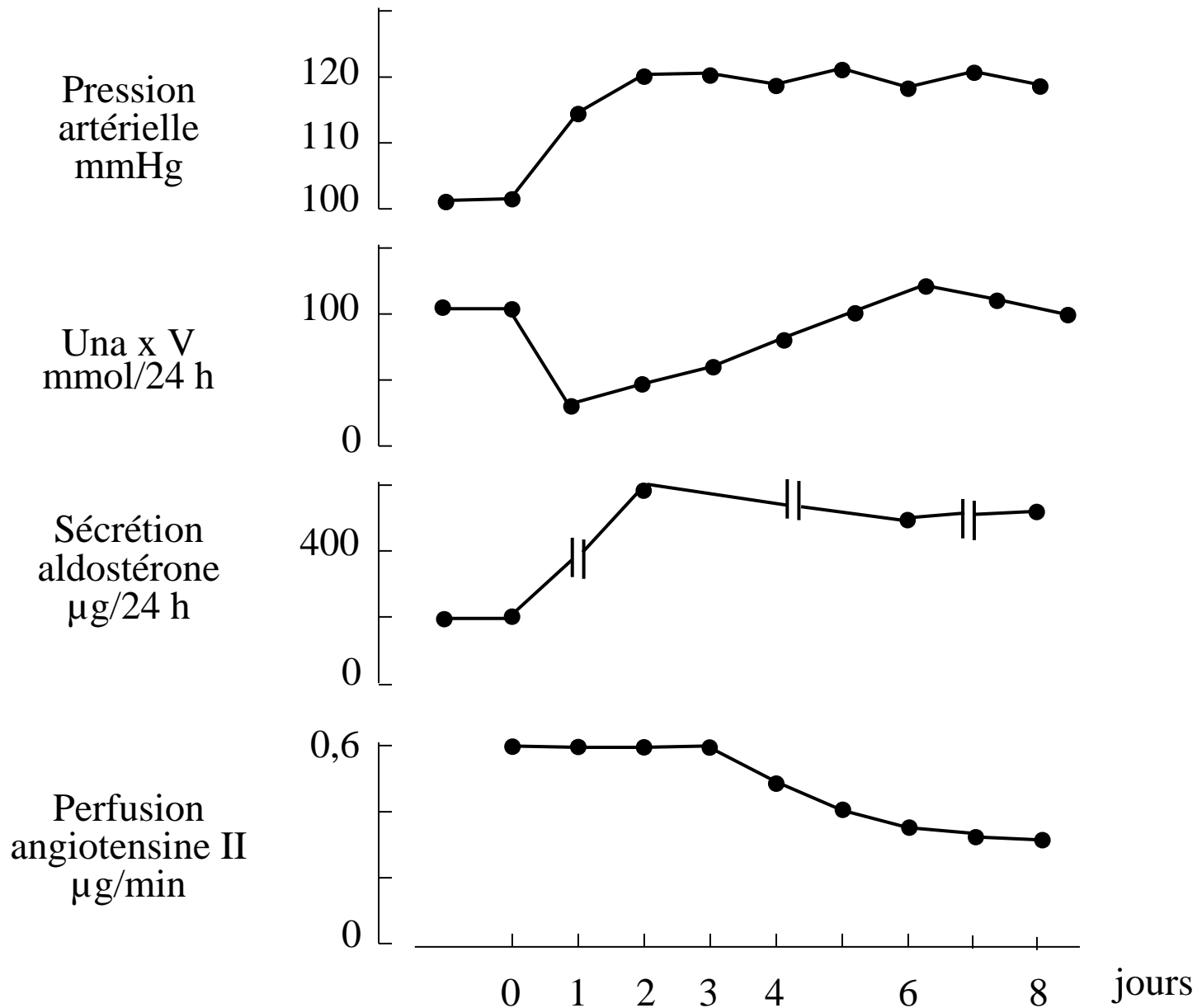
Approche environnementale

# L'hypertension artérielle suit le rein

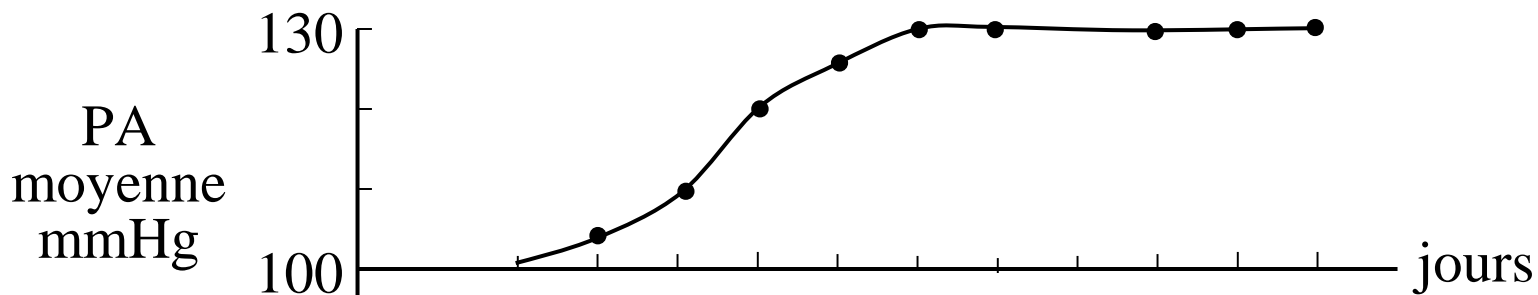
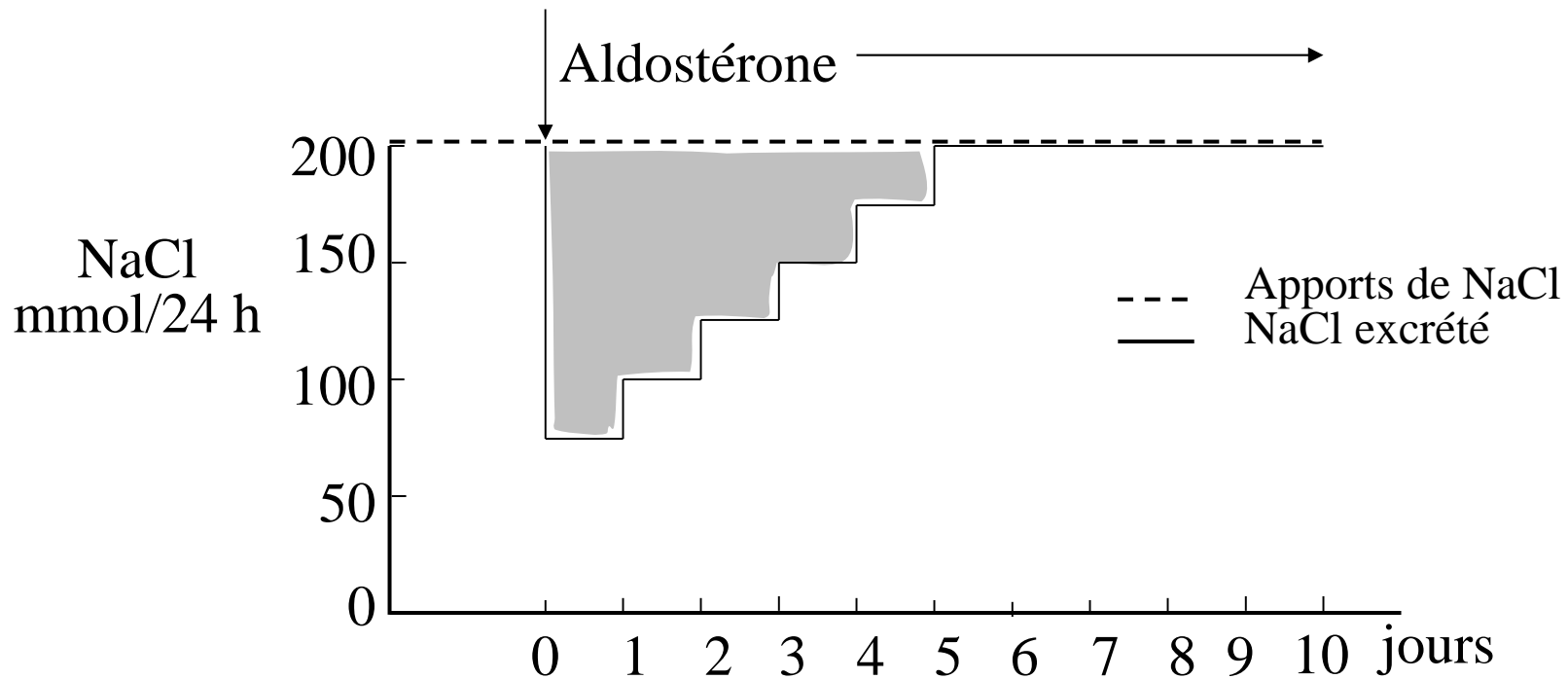


Dahl, Proc Soc Exp Biol Med 1972

# Effets de la perfusion continue d'angiotensine II

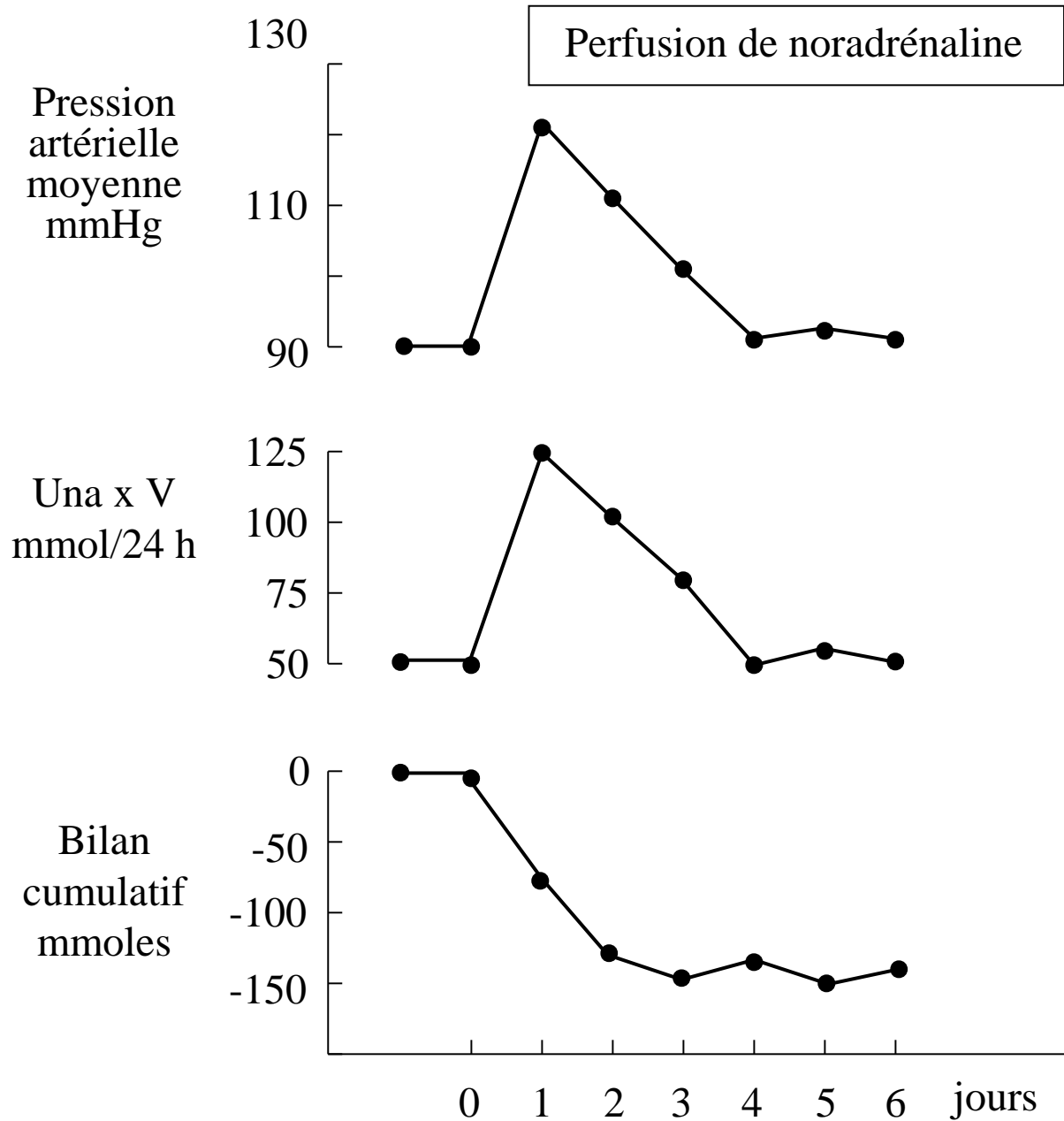


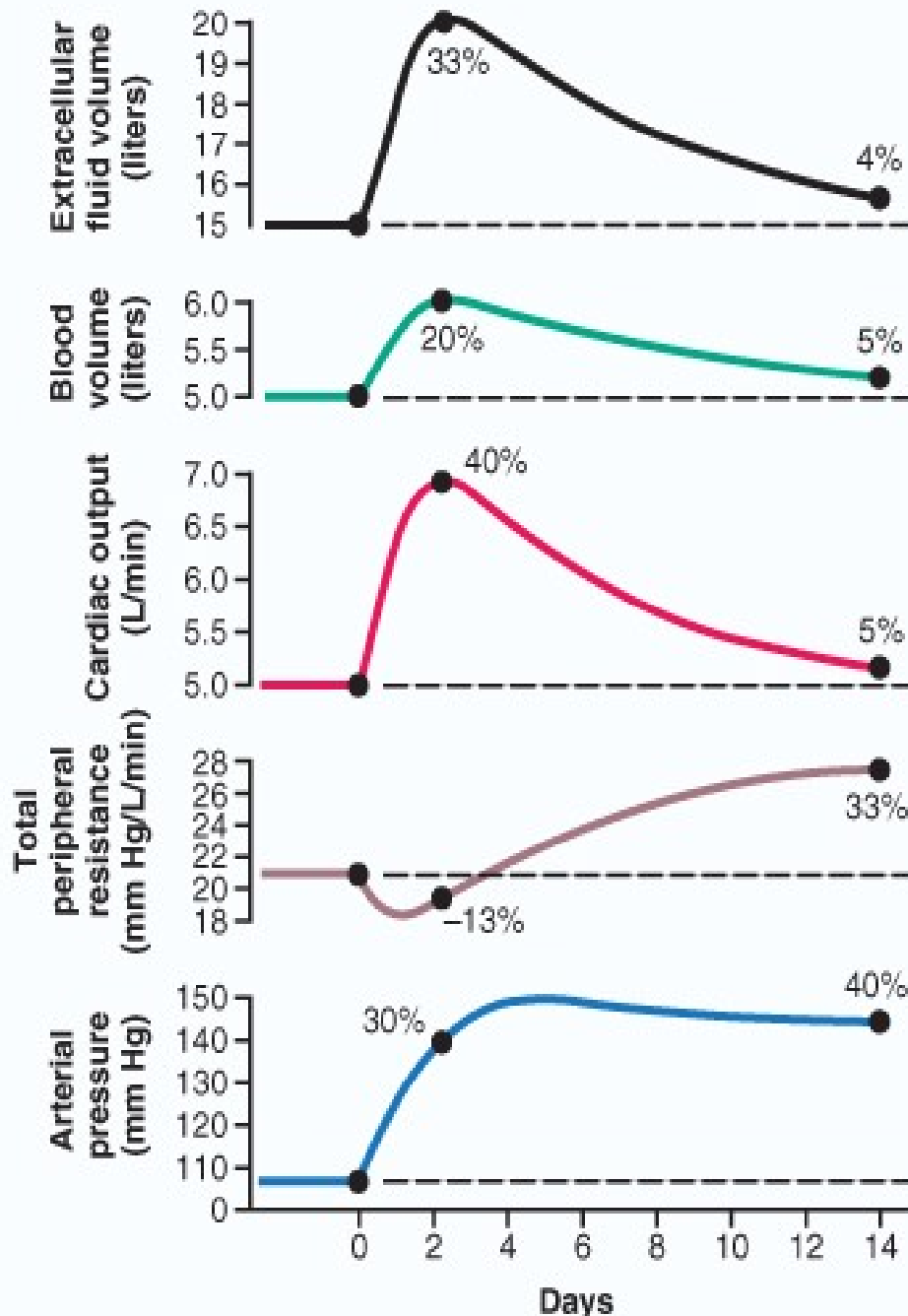
# Effets de la perfusion continue d'aldostérone



Bilan cumulatif de NaCl = 375 mmoles de NaCl  
Prise de poids = augmentation du VEC = 2,5 kg

# Effets de la perfusion continue de noradrénaline





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 : expliquer le rôle clé du rein dans l'HTA

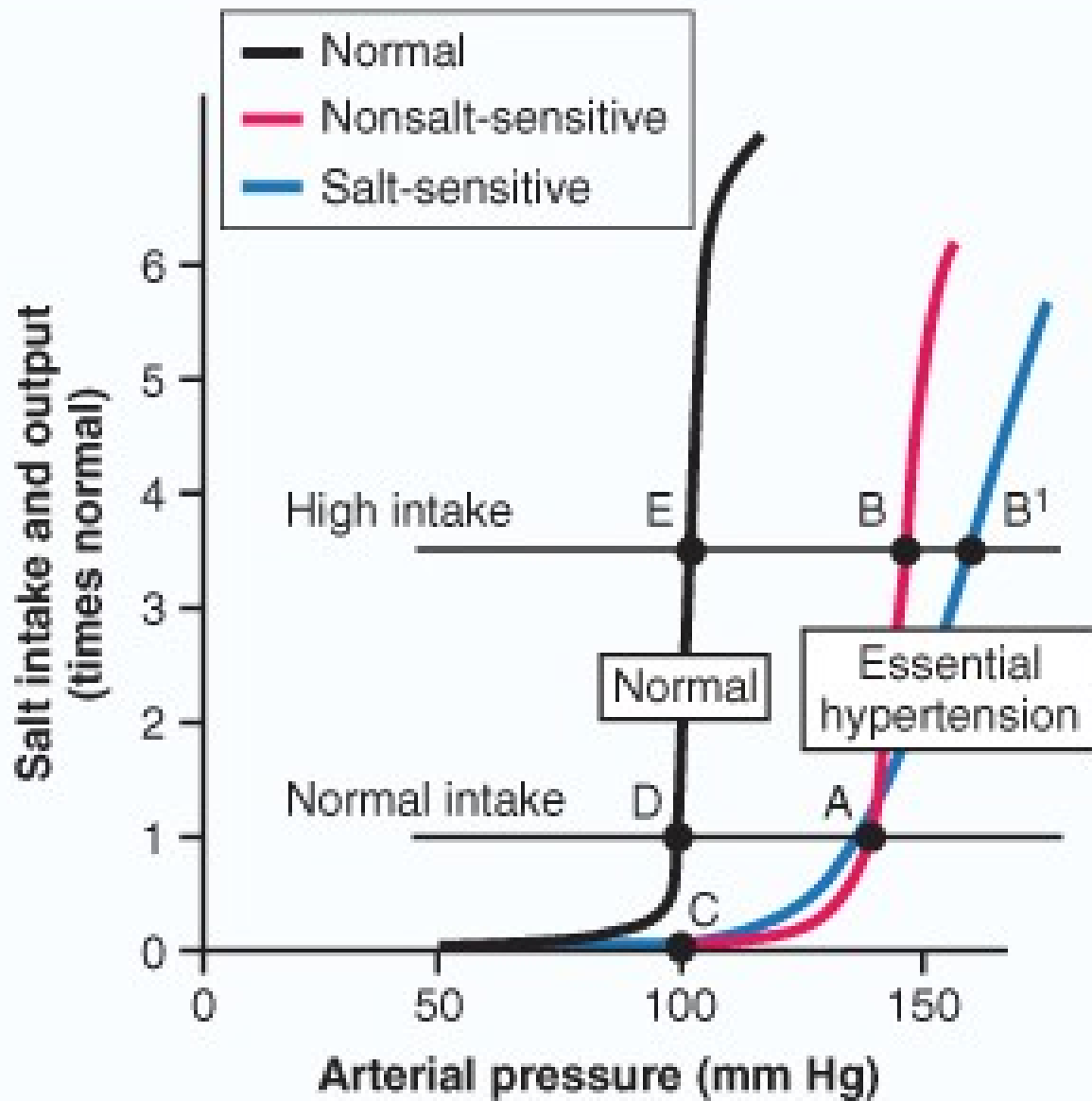
L'HTA suit le rein

La perfusion d'Angiotensine II ou d'aldostérone entraîne une HTA durable

La perfusion de noradrénaline entraîne une HTA transitoire

L'HTA persistante résulte forcément  
d'une diminution de l'excrétion rénale de Na

Un schéma à connaître →



# PLAN

## Physiologie

Transport de sodium et de potassium dans le néphron sensible à l'aldostérone

## Pathologie → Hypertension artérielle

Définition

Approche expérimentale

Approche génétique

Formes monogéniques

Approche environnementale

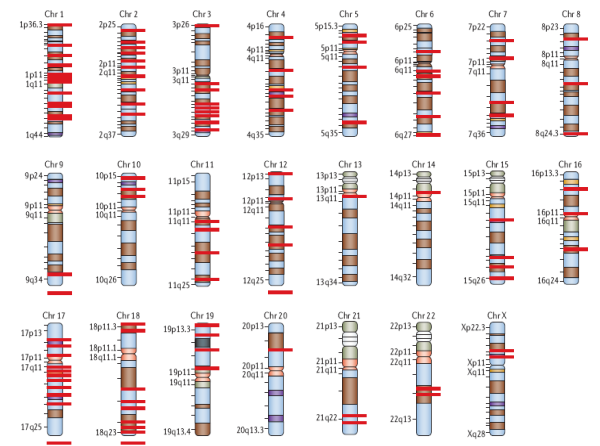
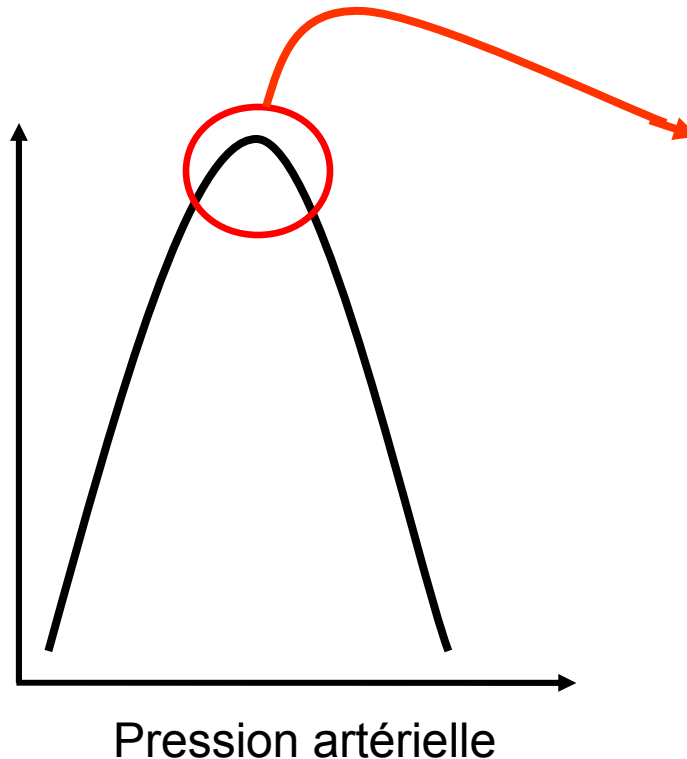
# Approche génétique = marqueurs de polymorphisme

Répétition de séquences d'ADN non codant (SNP)  
toutes les  $10^3$  paires de bases (sur  $10^{12}$  pb)

SNP : caractéristique de chaque chromosome, de chaque locus

Puces contenant 500.000 SNP

polymorphismes



Cowley, Nat Rev Genet, 2006



Aucun gène identifié !

# Caractères génétiques de l'HTA

HTA essentielle = polygénique

Epistasis : modulation de l'effet d'un gène par un autre

Influence de l'environnement dans la définition du phénotype

Hétérogénéité ethnique des populations = fond génétique

## Comment cerner les gènes de l'HTA ?

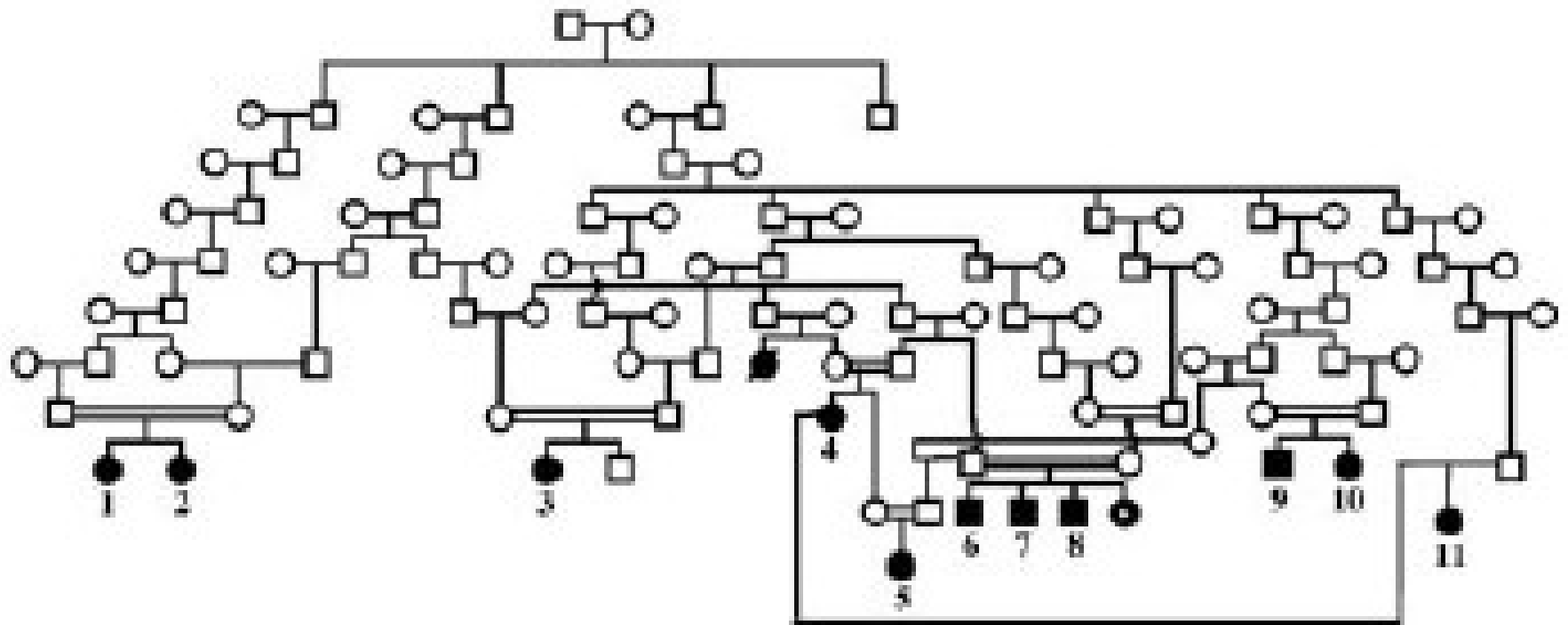
Analyse de liaison avec des SNP fonctionnels (stressed genotype)

Partir d'un phénotype héréditaire plus précis (HTA et complication)

Partir des formes monogéniques

# Etude des formes monogéniques d'hypertension

Simon, Science 1999



Exemple de transmission récessive

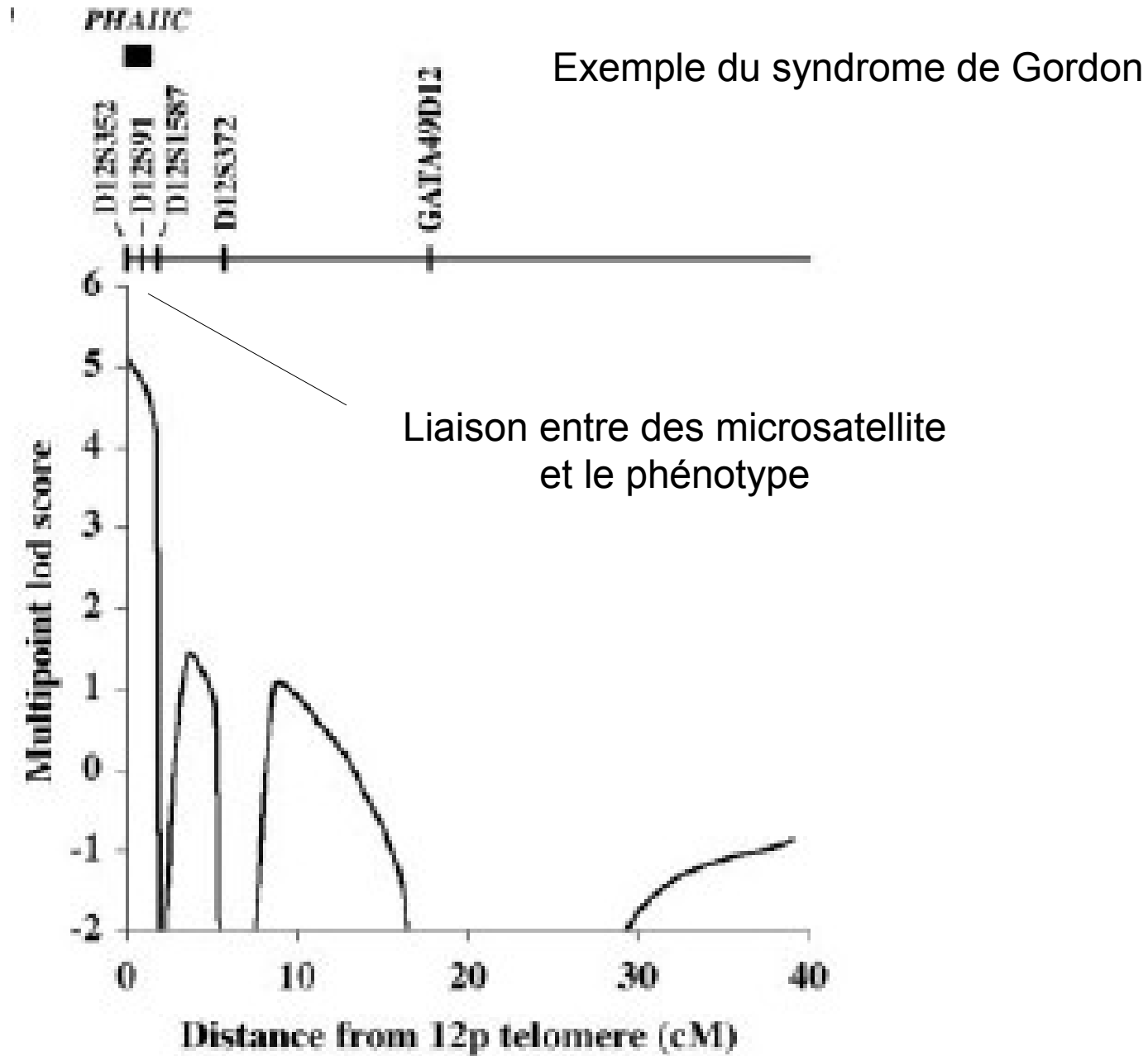
# Etude des formes monogéniques d'hypertension

Le génome est composé de séquences codantes et non codantes

Parmi les séquences non codantes,  
les microsatellites sont des fragments de 10 à 13 pb  
parfaitement localisés sur les chromosomes

La liaison entre un phénotype et des microsatellites  
permet de localiser le gène d'une maladie  
dans une région chromosomique

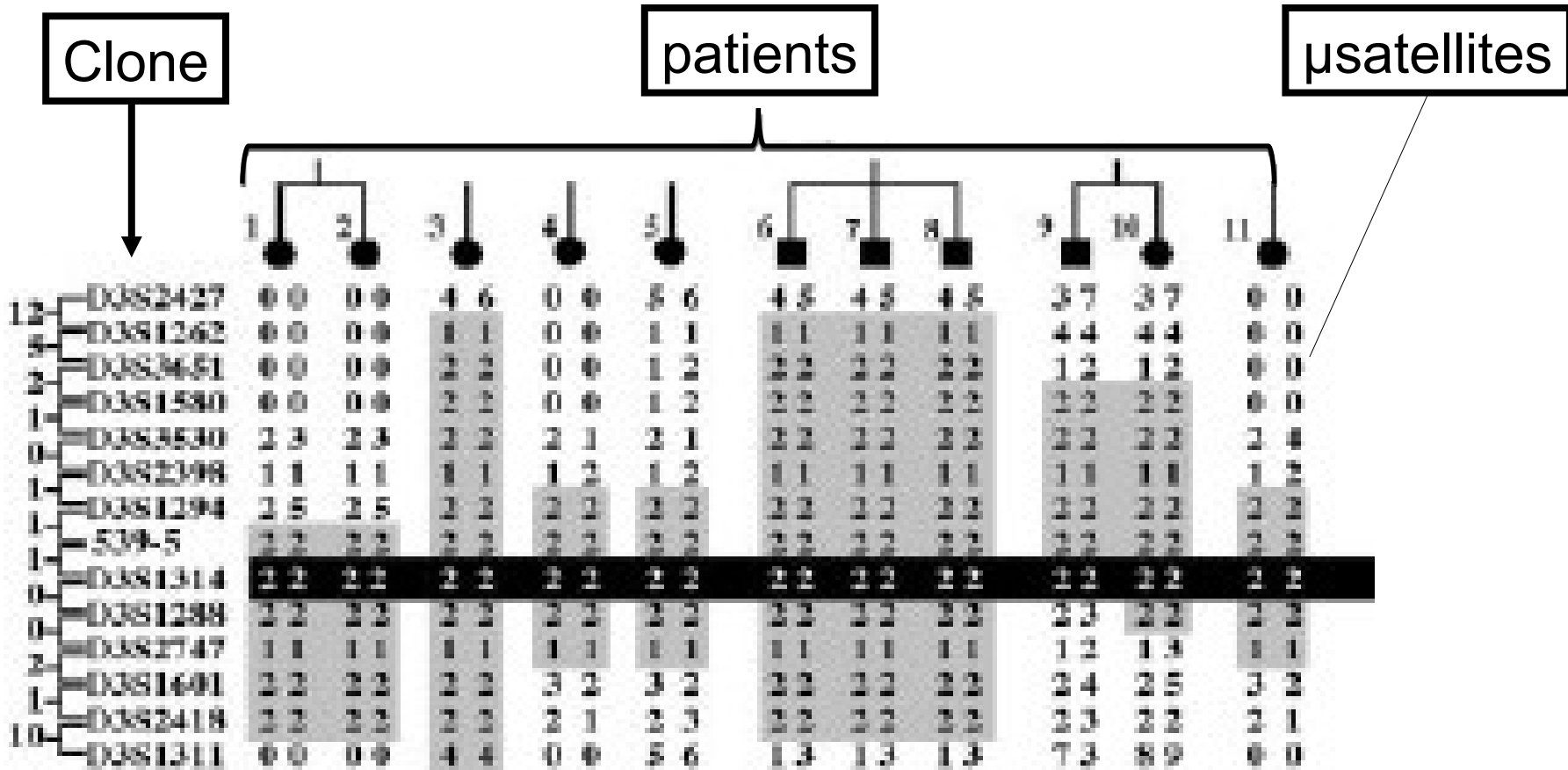
Sélection de 200 à 300 marqueurs situés le long du génome



# Localisation des microsatellites dans un clone

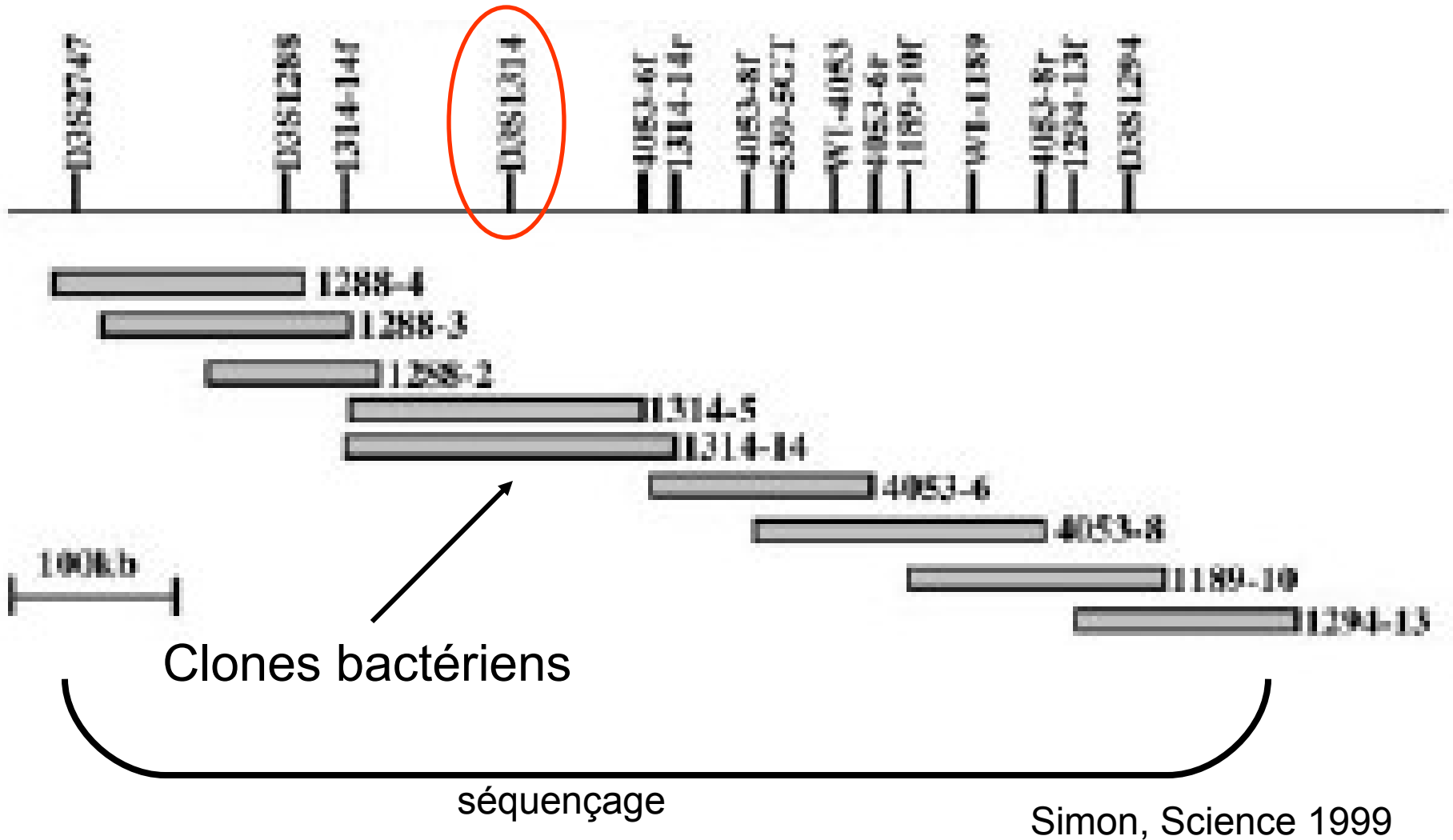
(sequence tagged site)

Simon, Science 1999



Homozygotie pour 539-5 et D381314 chez tous les sujets

# Analyse du clone



# Séquençage et localisation Simon, Science 1999

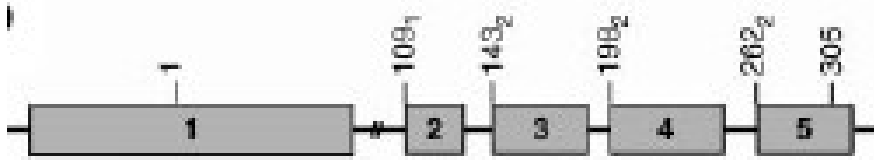
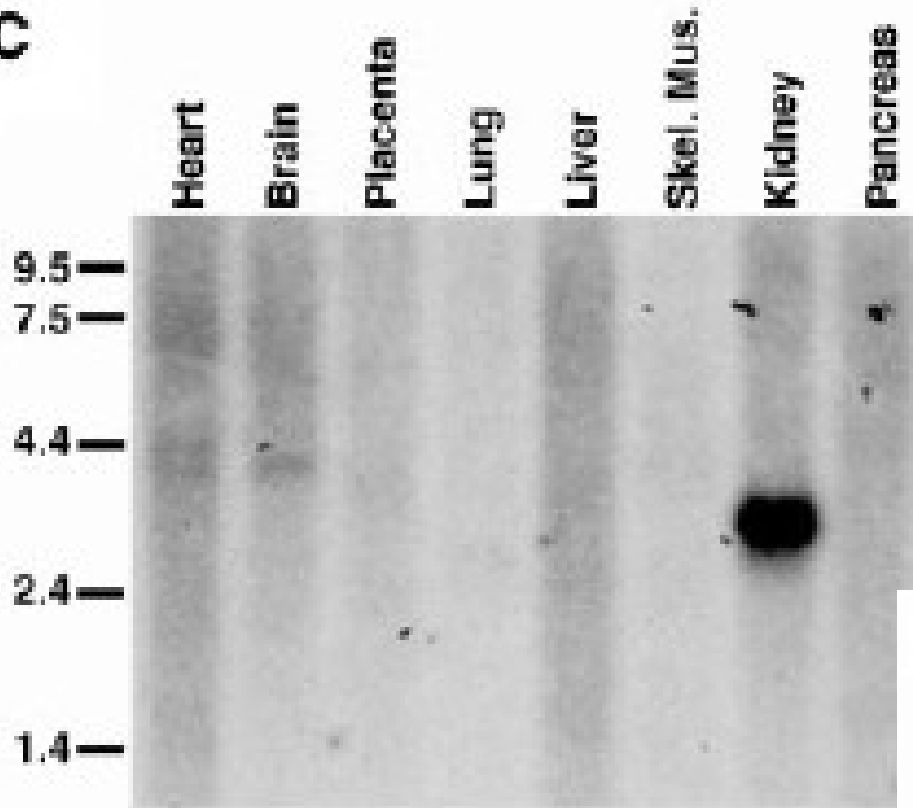


Schéma du gène  
(5 exons)

**C**



Northern-blot

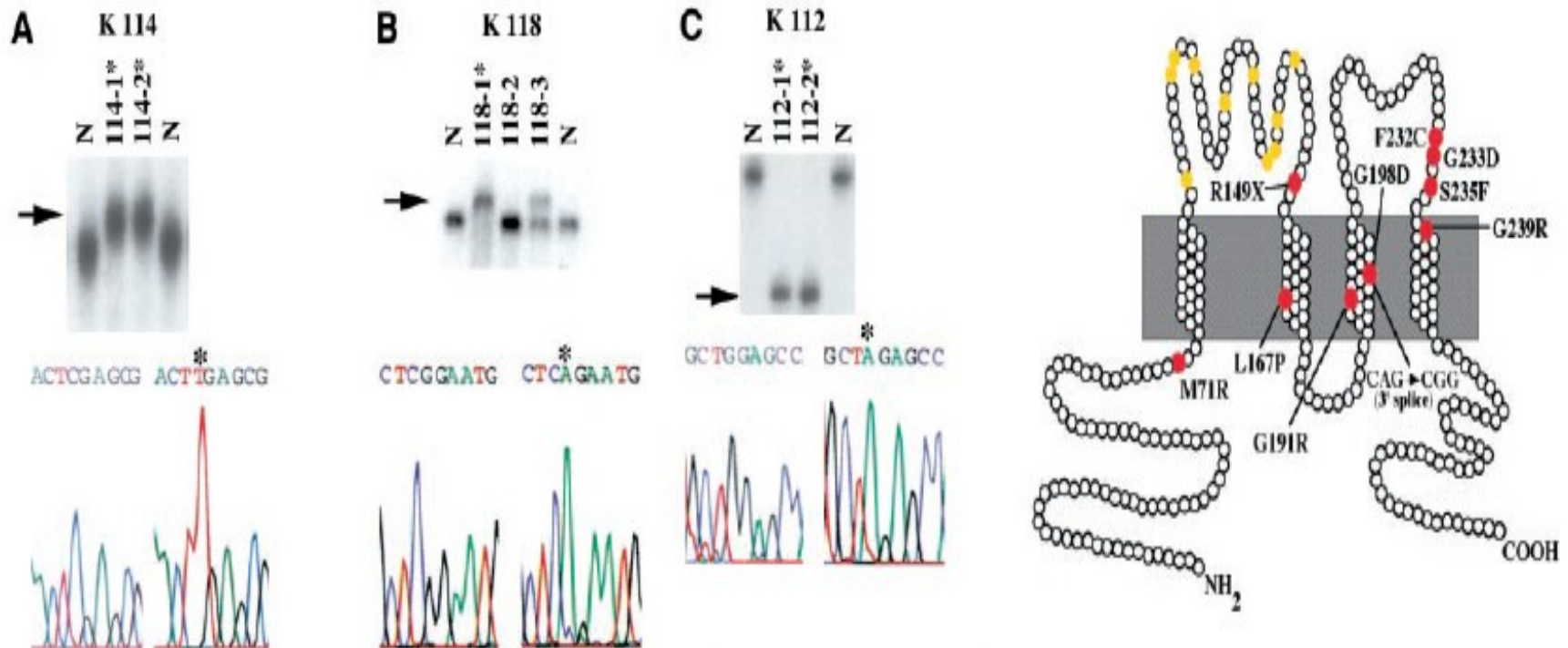
RT-PCR

# Phénotype avec l'expression du gène identifié

Injection de cDNA dans des cellules

Génération de souris transgénique  
à l'aide de plasmides

# Séquençage direct dans les diverses familles et chez des sujets normaux pour distinguer polymorphisme et mutations



# Objectif : savoir étudier une maladie monogénique

Description du phénotype et identification du caractère familial

Analyse de liaison : étude de marqueurs de polymorphisme chez des sujets malades apparentés

Identification du clone contenant le marqueur de polymorphisme

Séquençage du clone : structure évoquant un gène codant

Localisation de l'ARNm de ce gène dans les tissus (northern-blot)

Expression hétérologue du gène et analyse du phénotype sur un système cellulaire

Inactivation du gène et analyse du phénotype chez l'animal entier : compatibilité avec le phénotype des malades ?

Séquençage du gène chez l'homme et comparaison de séquence entre malades et sujets sains

# PLAN

## Physiologie

Transport de sodium et de potassium dans le néphron sensible à l'aldostérone

## Pathologie → Hypertension artérielle

Définition

Approche expérimentale

Approche génétique

Formes monogéniques

Approche environnementale

# 1<sup>e</sup> forme monogénique d'HTA

Biosynthèse et dégradation de  
l'aldostérone



3 causes d'HTA secondaire chez l'homme

# Aldostérone

Hormone stéroïde

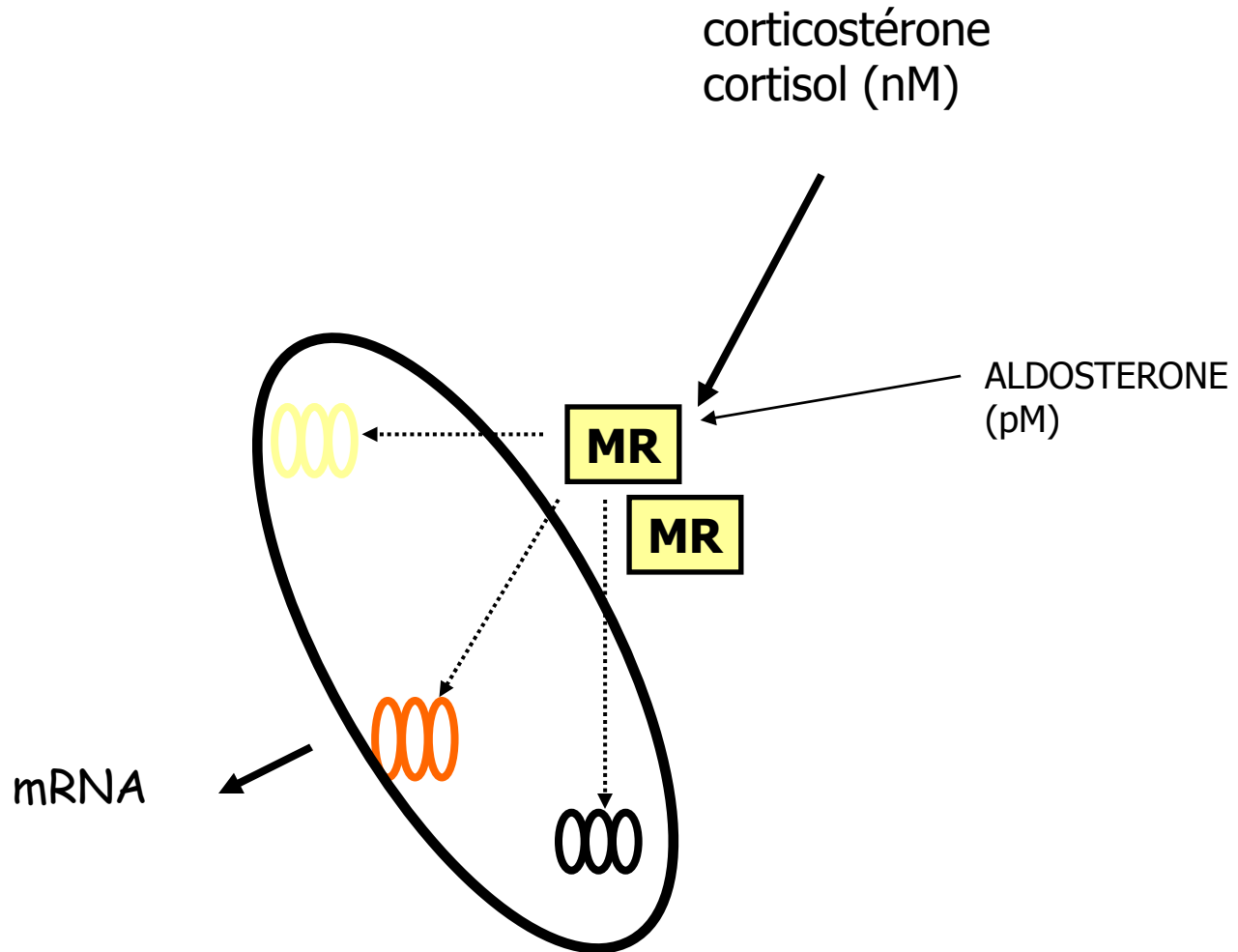
Structure découverte en 1953

Fixation à un récepteur cytosolique qui s'homodimérise dans le noyau

Le dimère possède une affinité pour l'ADN  
et induit la transcription de nombreux gènes

Exemple : ENaC, NCC, SGK1, Na,K-ATPase, WNK4

# Aldostérone cortisol et Minéralo-Récepteur (MR)

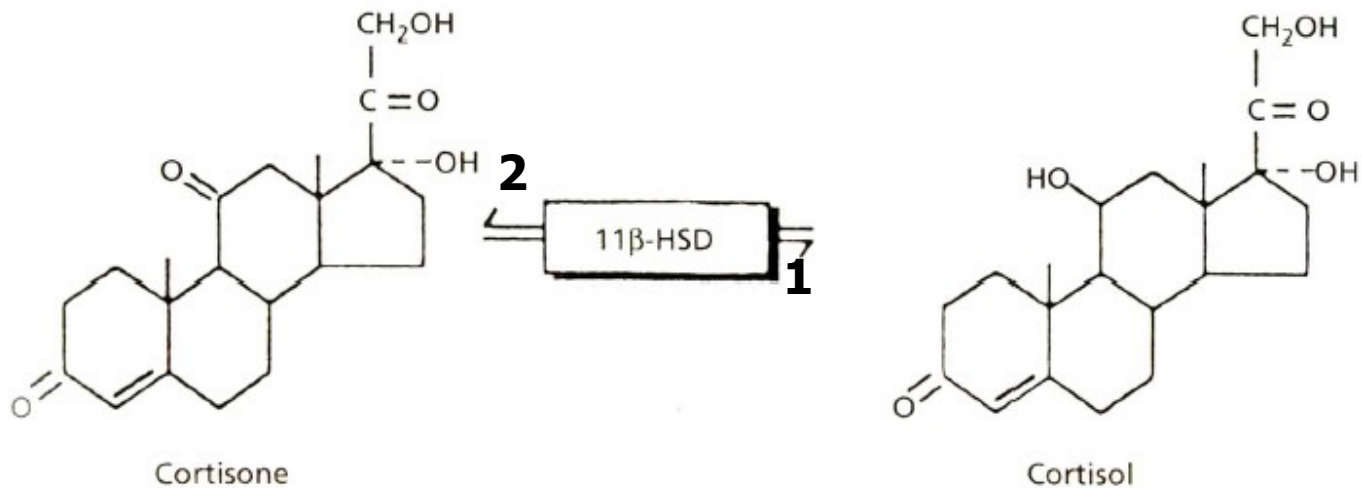


# Effet des 11 $\beta$ HSD 1 et 2

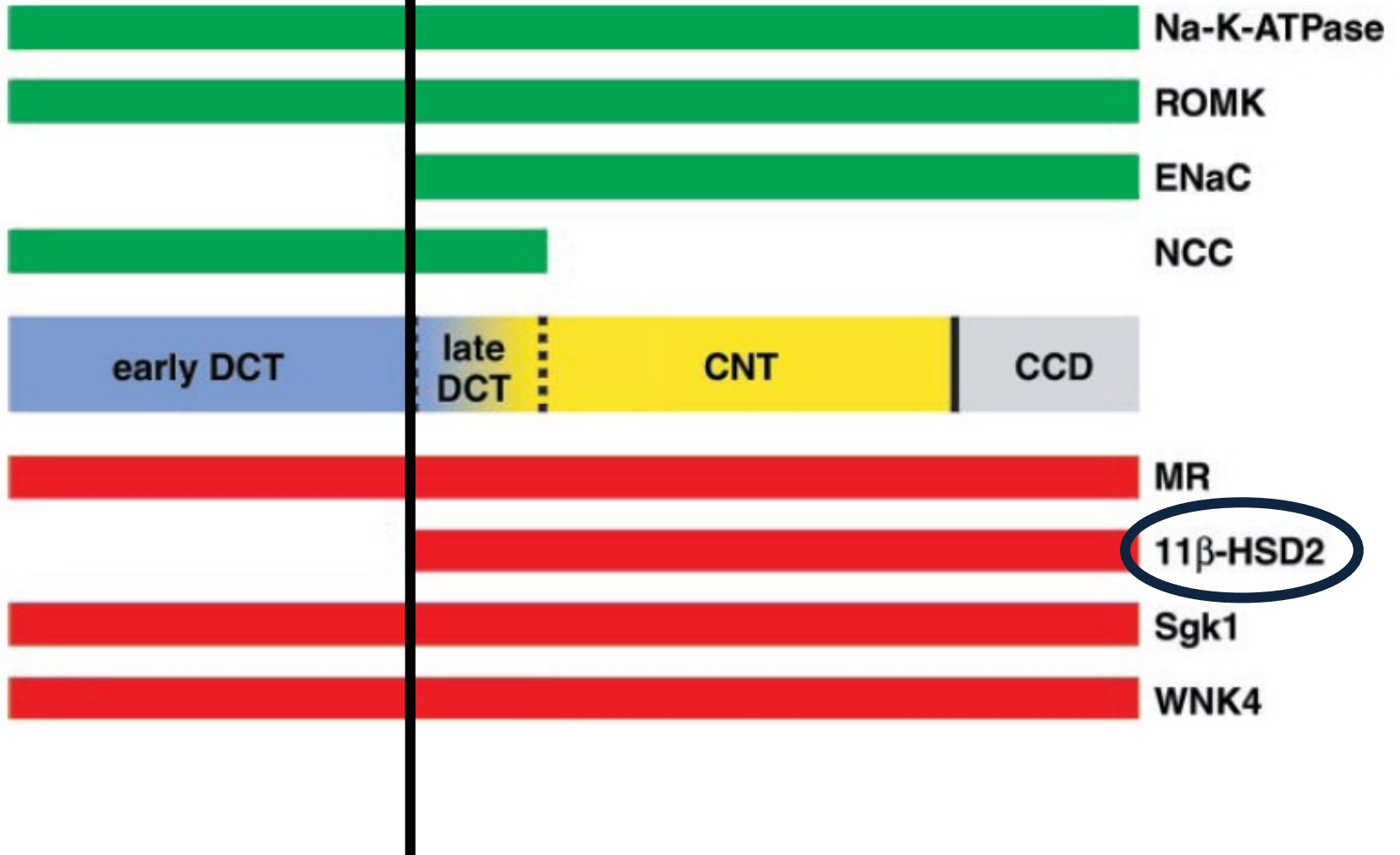
## Néphron sensible à l'aldostérone

Colon

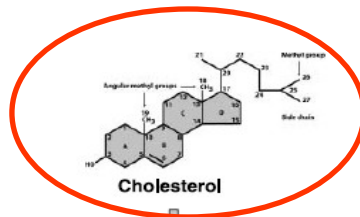
Glandes sudoripares



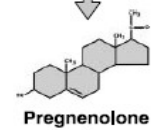
# Néphron sensible à l'aldostérone



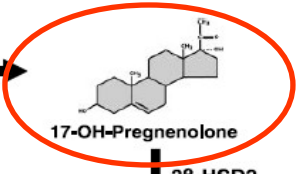
cholestérol



CYP11A1

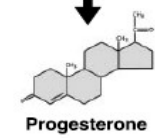


CYP17

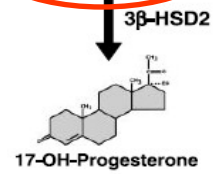


Androgènes  
surrénaux

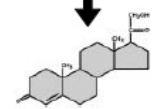
3β-HSD2



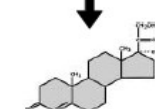
CYP17



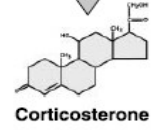
CYP21A



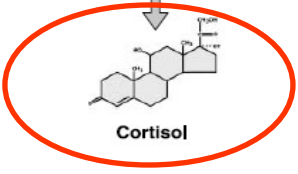
CYP21A



CYP11B1/  
CYP11B2

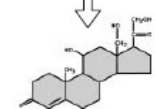


CYP11B1

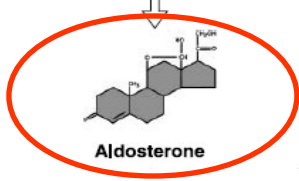


cortisol

CYP11B2



CYP11B2



aldostérone

Biosynthèse des  
hormones  
surrénales

Connell,  
journal of endocrinology,  
2005

# Cortico-surrénale

**ANGIO II**  
**Hyperkaliémie**

Zone glomérulée

désoxycorticostérone

11 $\beta$  hydroxylase

corticostérone

aldostérone synthase

aldostérone

**ACTH**

Zone fasciculée

désoxycorticostérone

11 $\beta$  hydroxylase

corticostérone

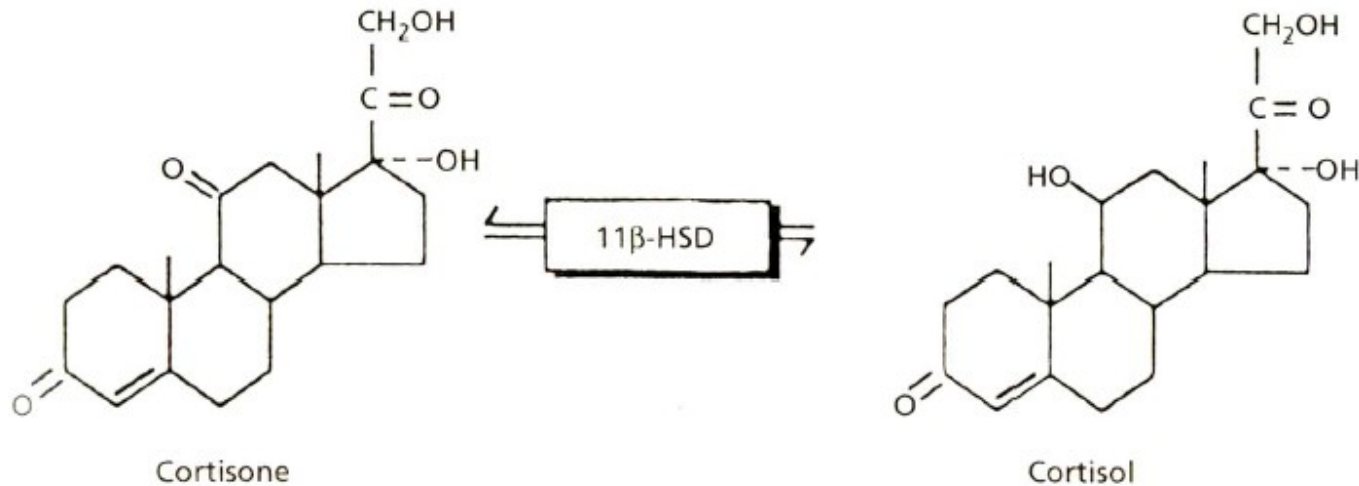
cortisol

Zone réticulée

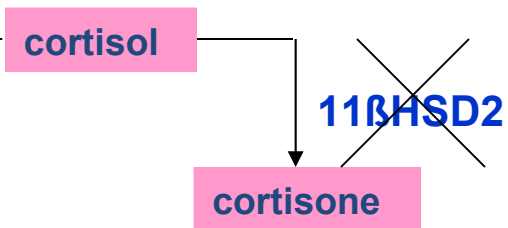
17 OH-prégnénolone

androsténedione

# Syndrome d'excès apparent de minéralo-corticoïde



corticostérone



Inactivation de la 11βHSD2  
(effet de la réglisse)

HTA, hypokaliémie

tétrahydrocortisol

tétrahydrocortisone

# Hyperplasie congénitale des surrénales

**ANGIO II**  
**Hyperkaliémie**

Zone glomérulée

désoxycorticostérone

↓ ~~11 $\beta$  hydroxylase~~

corticostérone

↓ aldostérone synthase

aldostérone

**ACTH**

Zone fasciculée

désoxycorticostérone

↓ ~~11 $\beta$  hydroxylase~~

corticostérone

↓

cortisol

Zone réticulée

17 OH-prégnénone

↓

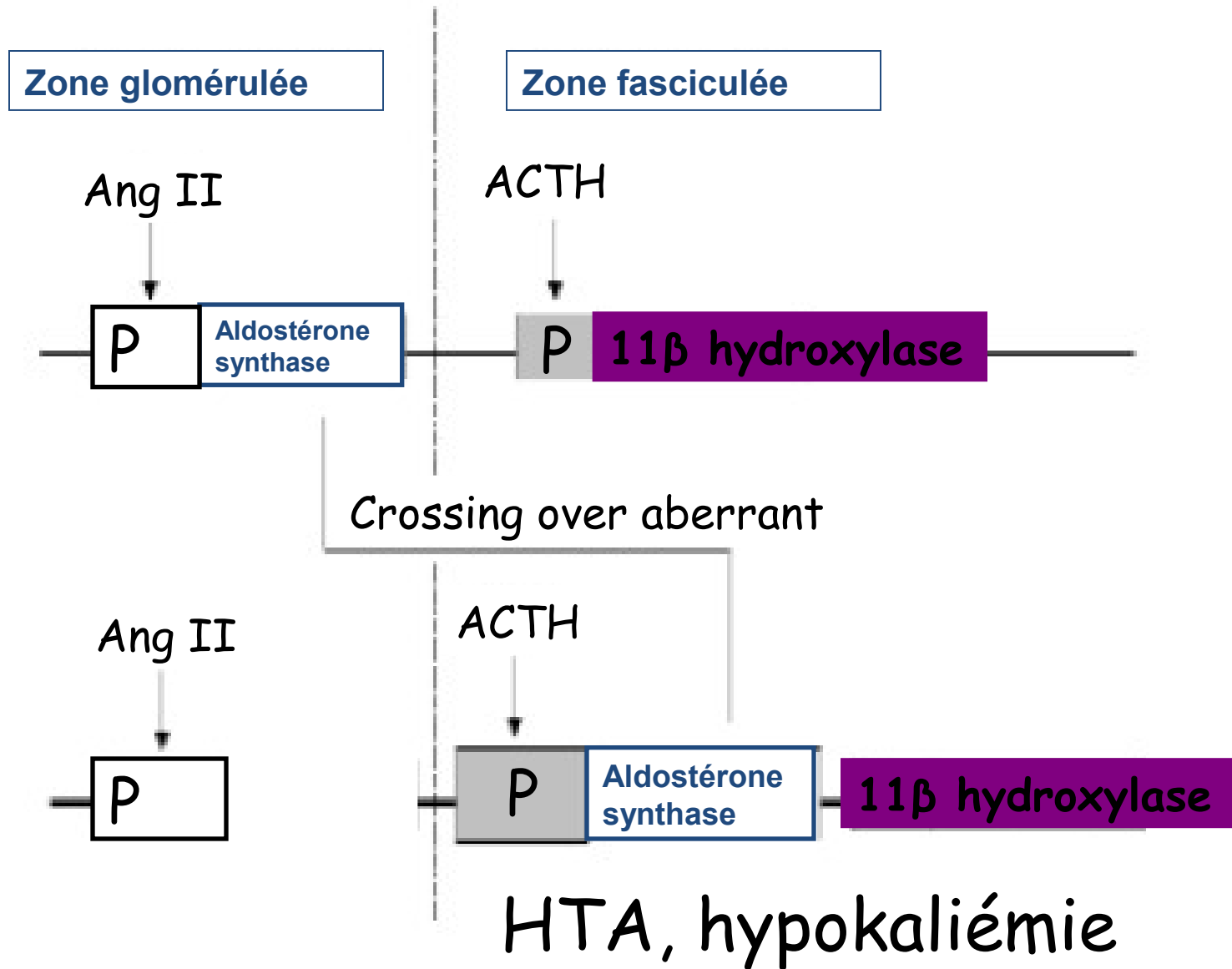
androsténone

↓

HTA, hypokaliémie

Virilisation

# Hyper-aldostéronisme sensible aux glucocorticoïdes



Objectif : principaux effets rénaux de l'excès d'aldostérone

HTA par excès de réabsorption de Na

Hypokaliémie d'origine rénale

Rôle de la  $11\beta$ HSD2 dans le NSA

Objectif : citer 3 causes d'HTA en rapport avec l'aldostérone

Syndrome d'excès apparent de MC : diagnostic par dosage  
des dérivés urinaires de l'aldostérone (4-hydrocortisol >> 4-hydrocortisone)

Hyperaldostéronisme sensible aux gluco-corticoïdes

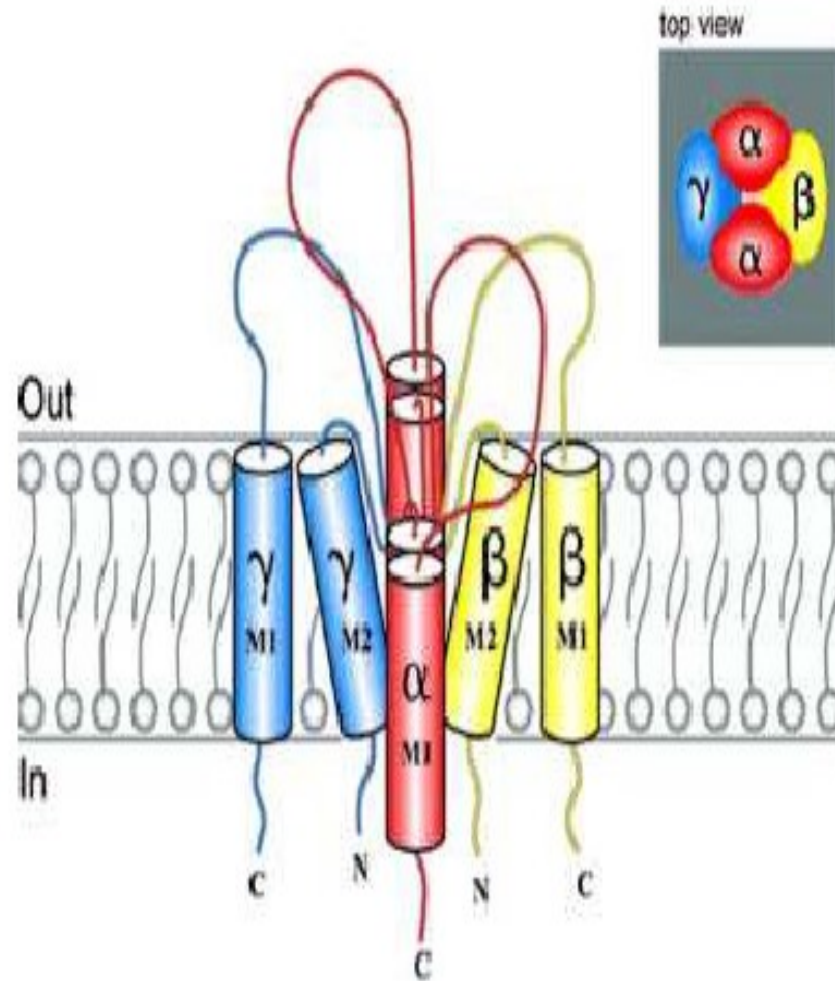
Hyperplasie bilatérale des surrénales

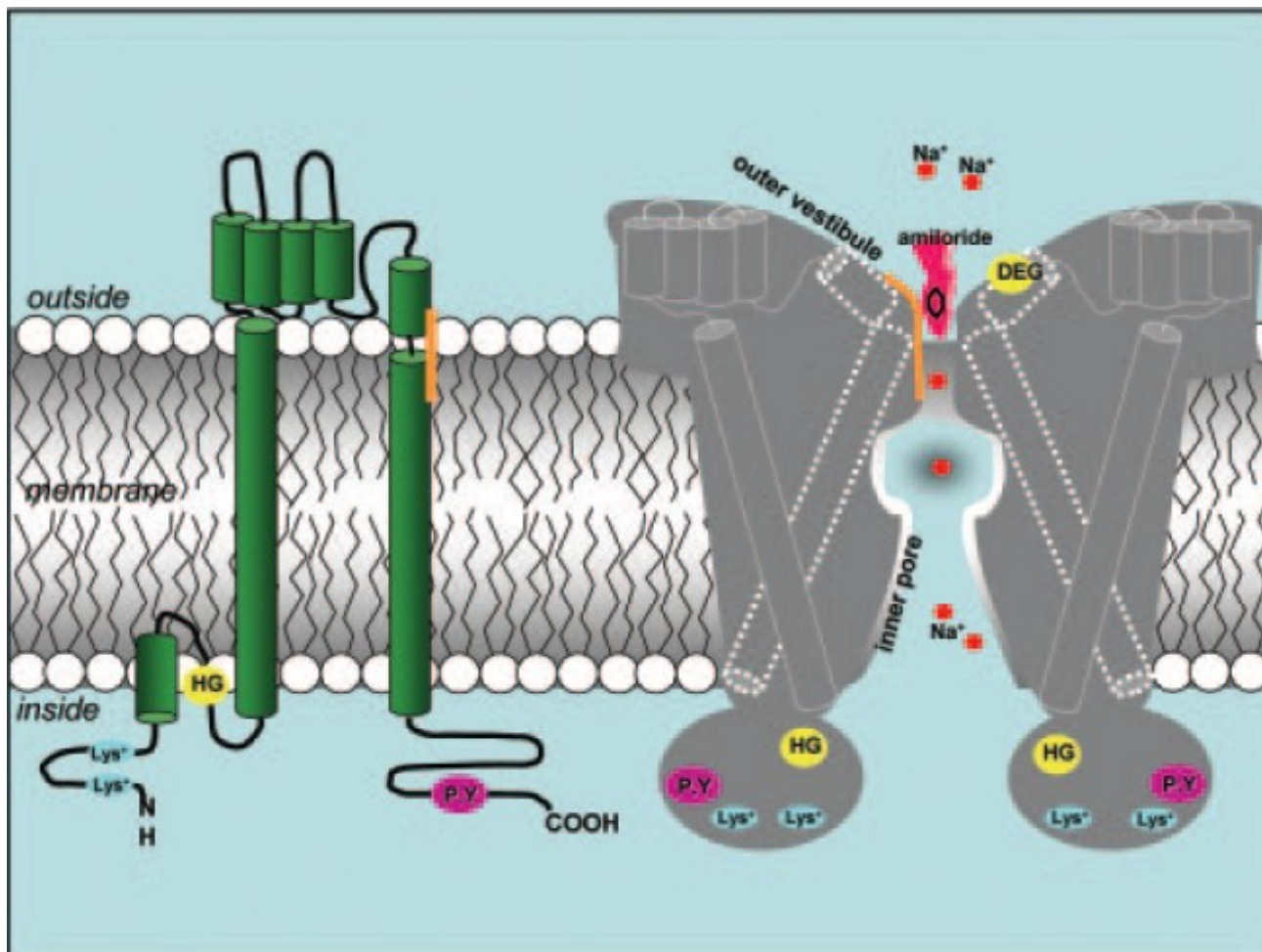
# 2<sup>e</sup> forme monogénique d'hypertension artérielle



Le canal sodique épithélial

# Canal sodique épithérial (ENaC)



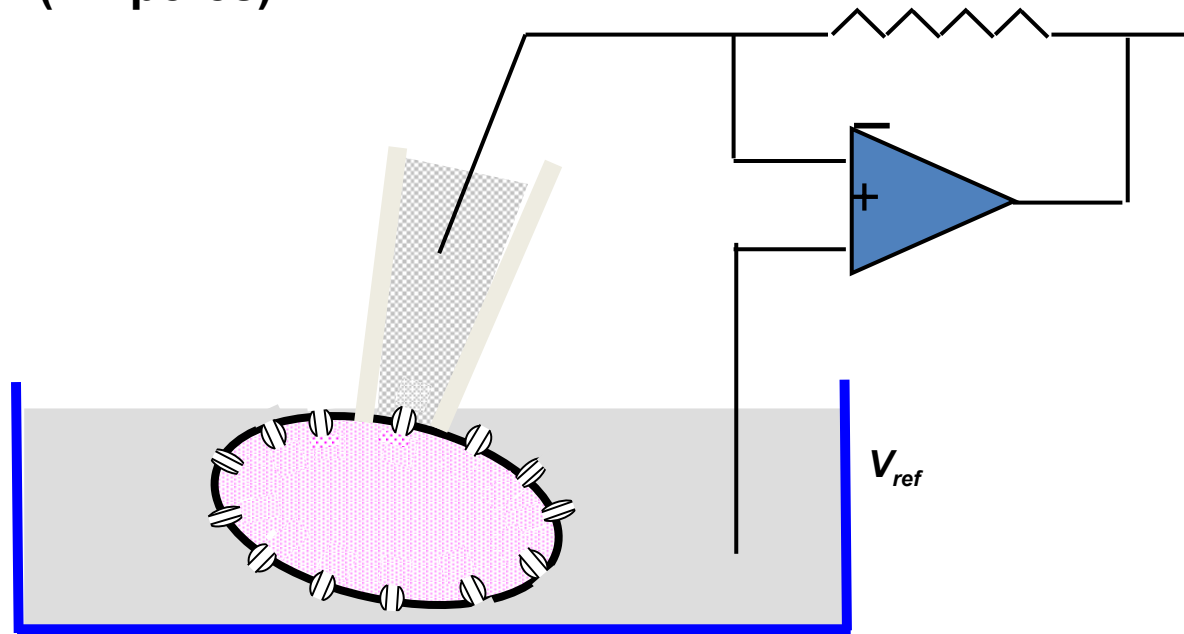


Loffing, JASN, 2005

# PATCH-CLAMP ET CANAUX IONIQUES

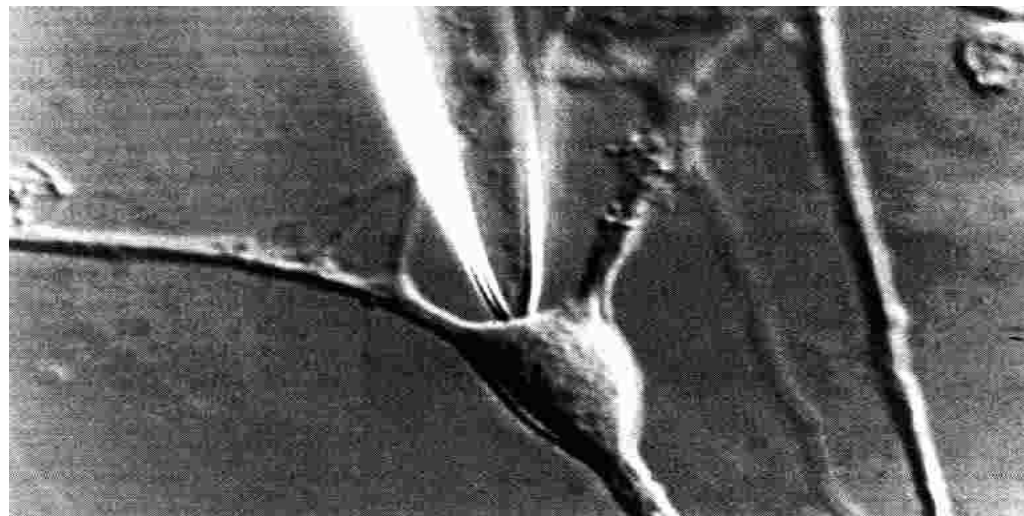
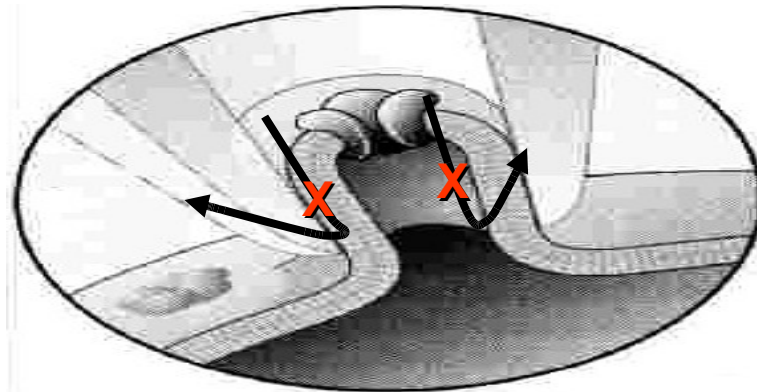
Loi d'Ohm

$$V_{\text{imposé}} \text{ (Volts)} = R_{\text{calculé}} \text{ (Ohms)} \cdot i_{\text{mesuré}} \text{ (Ampères)}$$



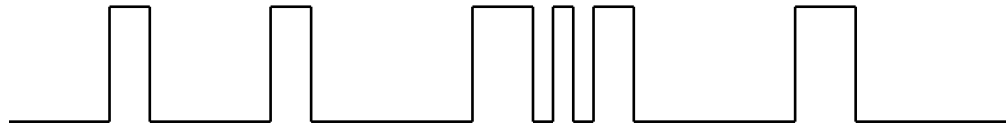
**On impose des potentiels et on recueille les courants correspondants**

# SCELLEMENT SUR LA MEMBRANE PLASMIQUE

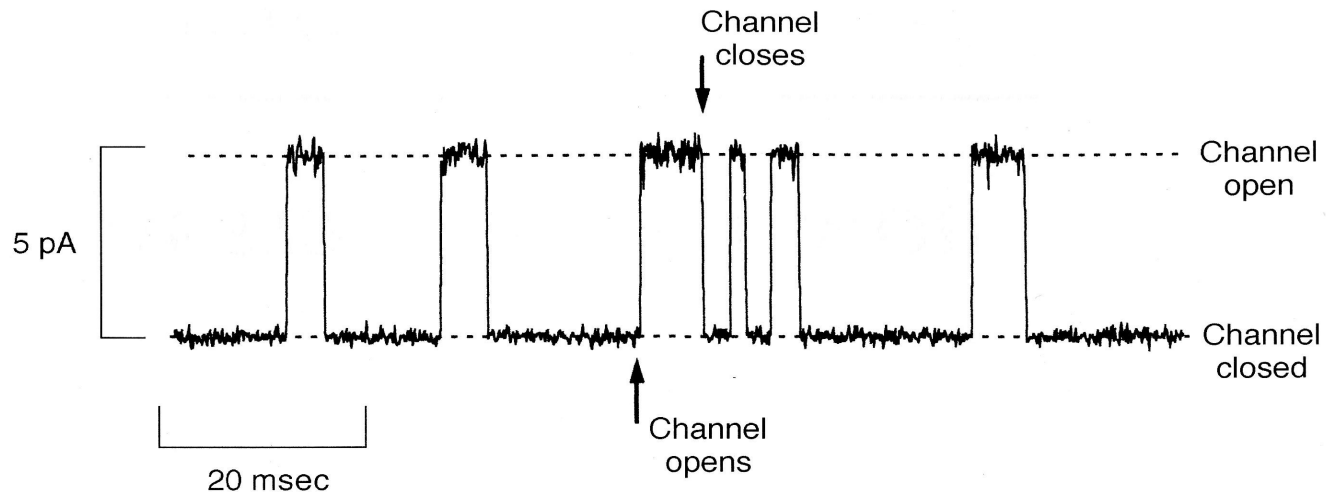


# Un seul canal actif sous la pointe de la pipette

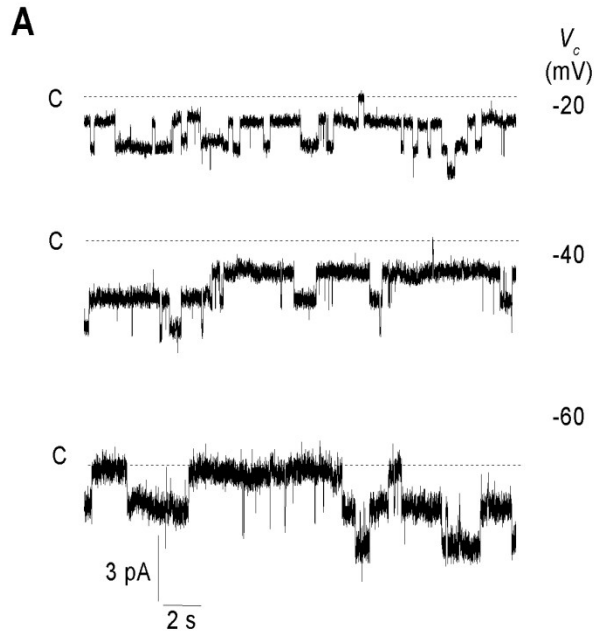
Enregistrement théorique :



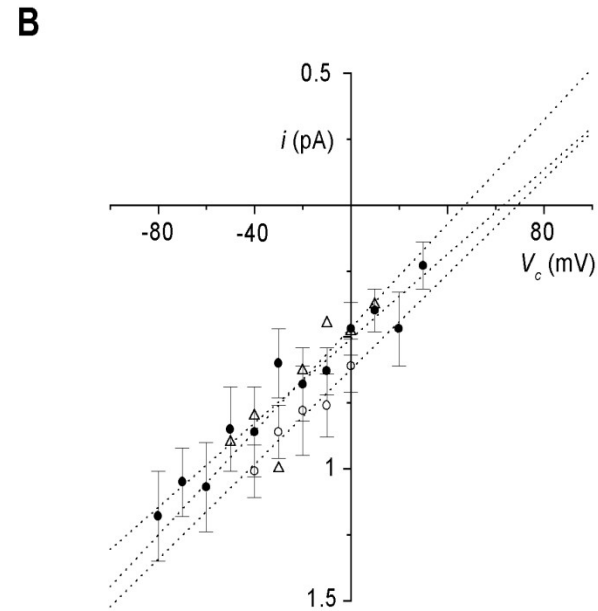
Enregistrement pratique :



# Plusieurs canaux sous la pipette



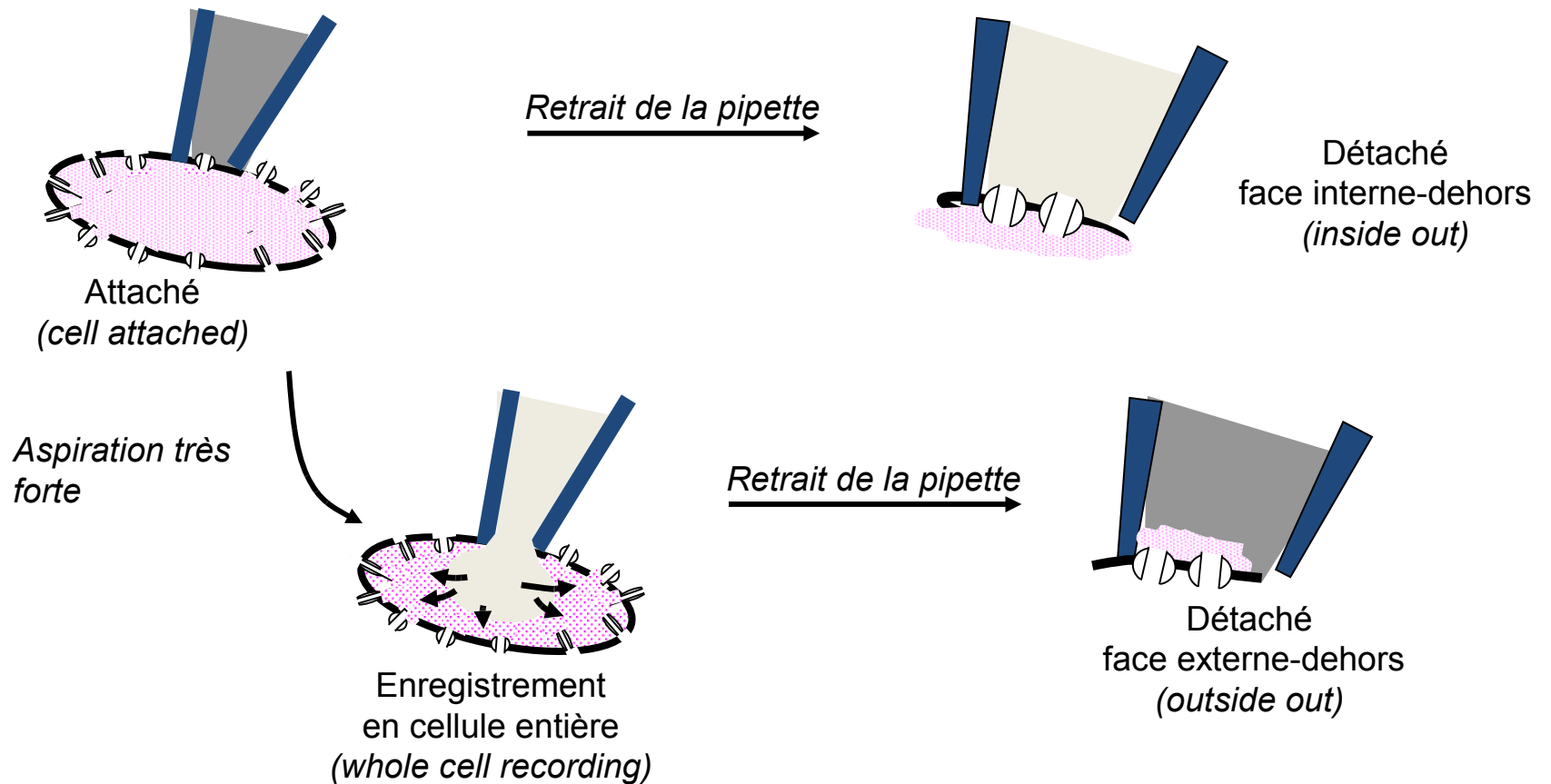
Voltage constant



Relation intensité/voltage

Exemple du canal sodique épithélial (ENaC)

## LES CONFIGURATIONS DE BASE DU PATCH-CLAMP



Ces configurations de patch-clamp permettent d'étudier les canaux ioniques sous trois aspects :

- pore (conductance)
- sélectivité ionique
- régulation de l'activité

# ENaC (Epithelial Na Channel)

Probabilité d'ouverture 0,5

Peu sensible au voltage et au  $[Ca]_i$

Sensible au pH

Durée d'ouverture 1 sec

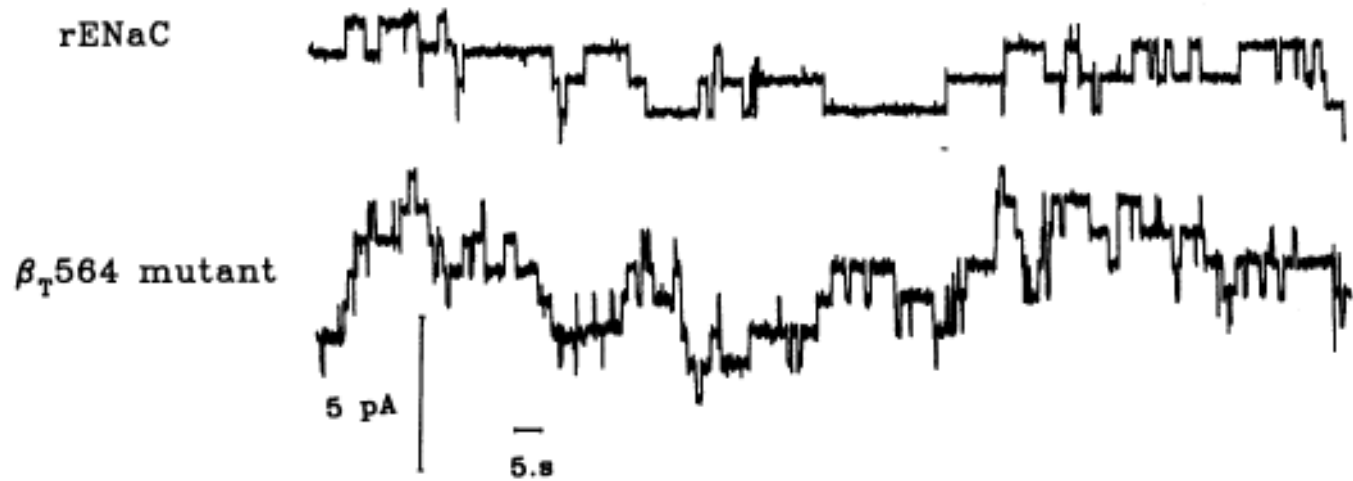
Conductance sodique 4 à 5 pS

Conductance au lithium 9 à 10 pS

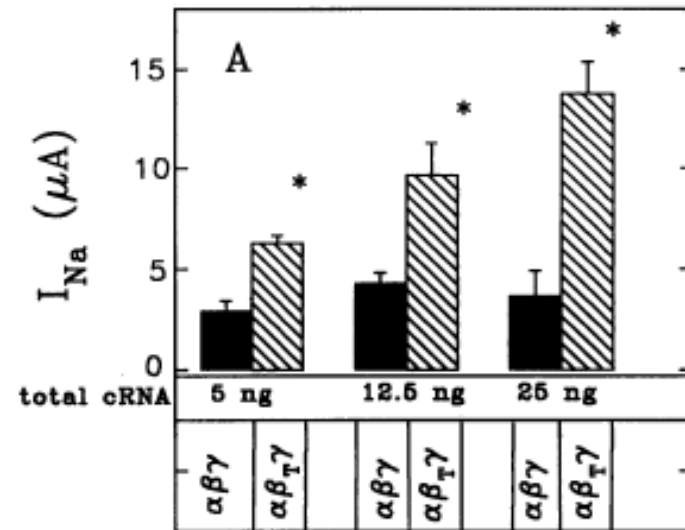
Demi-vie = 1 heure

Inhibition par l'amiloride

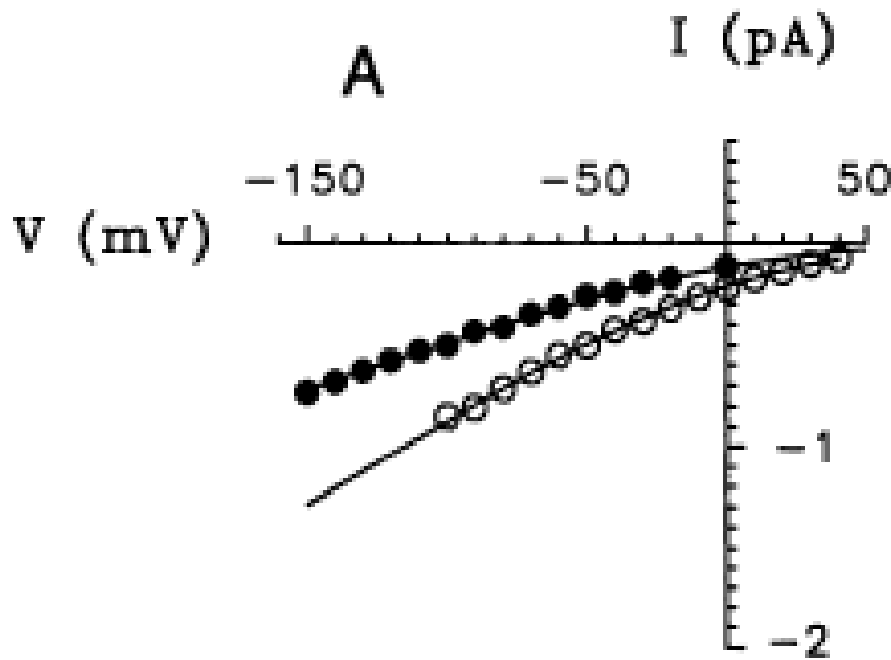
# Expression hétérologue et patch-clamp



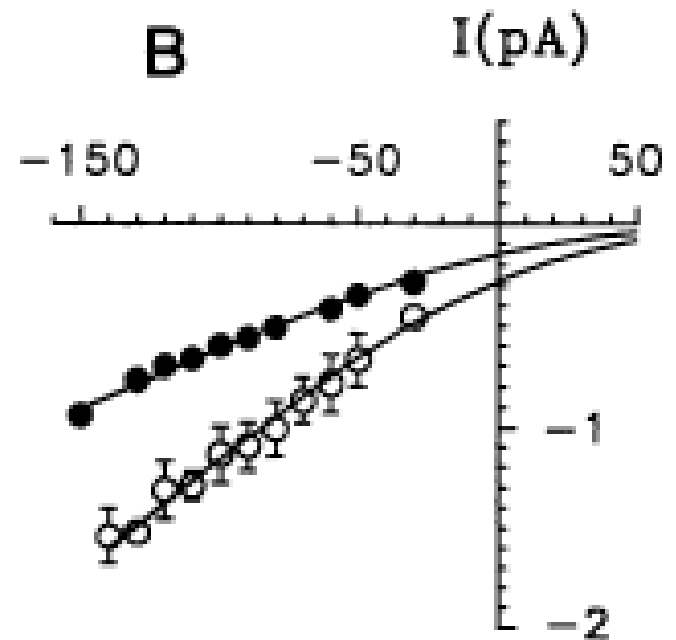
Schild, PNAS 1995



## ENaC normal



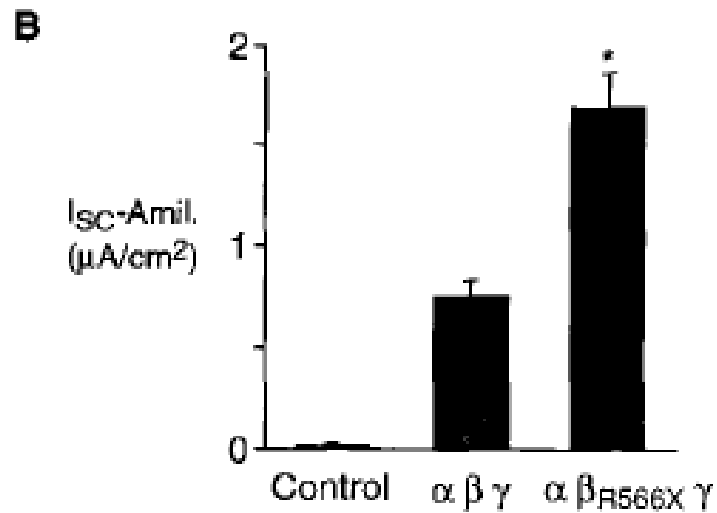
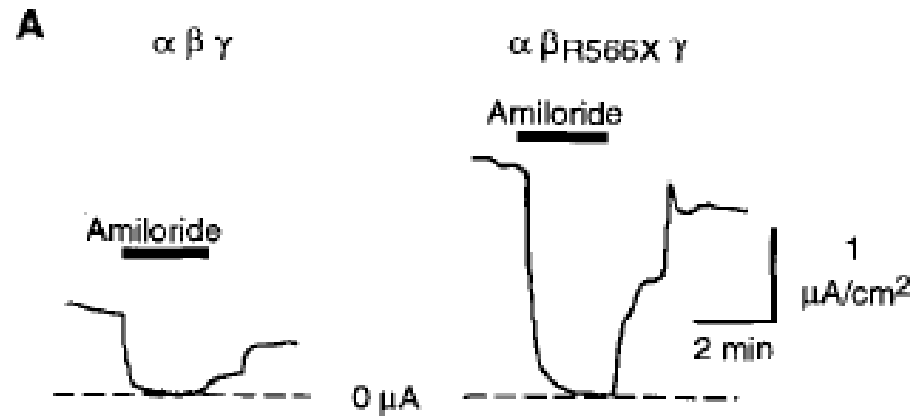
## ENaC muté



- sodium
- lithium

Schild, PNAS 1995

# Expression de $\beta$ ENaC sans extrémité C-ter



# 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

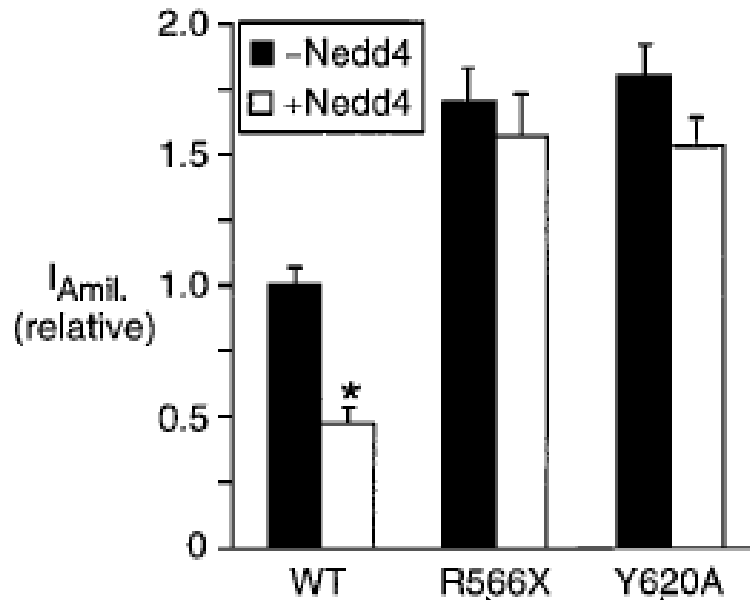


Séquence de 38 AA contenant 2 résidus tryptophane (WW)

Noyau hydrophobe avec 1 feuillet  $\beta$  de chaque côté

**Affinité prédite pour le motif PPPPY**

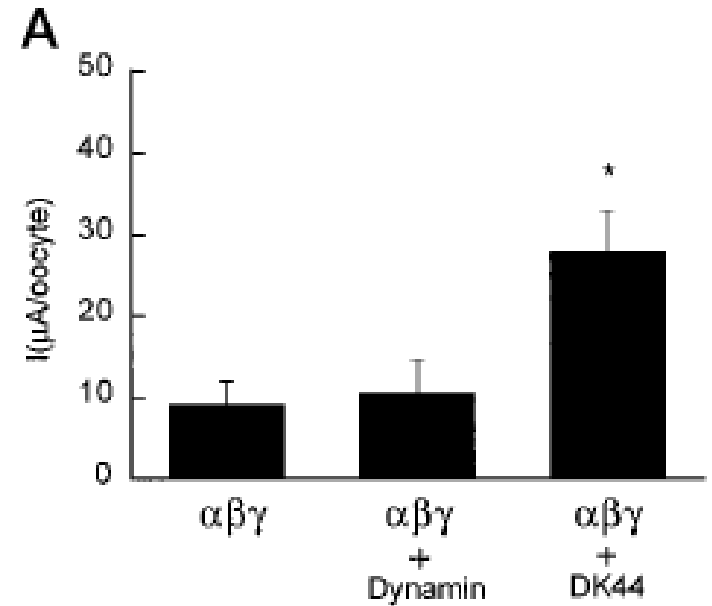
# Rôle de Nedd4-2



Snyder, Cell 1995

Délétion de C.  
sur ENaC

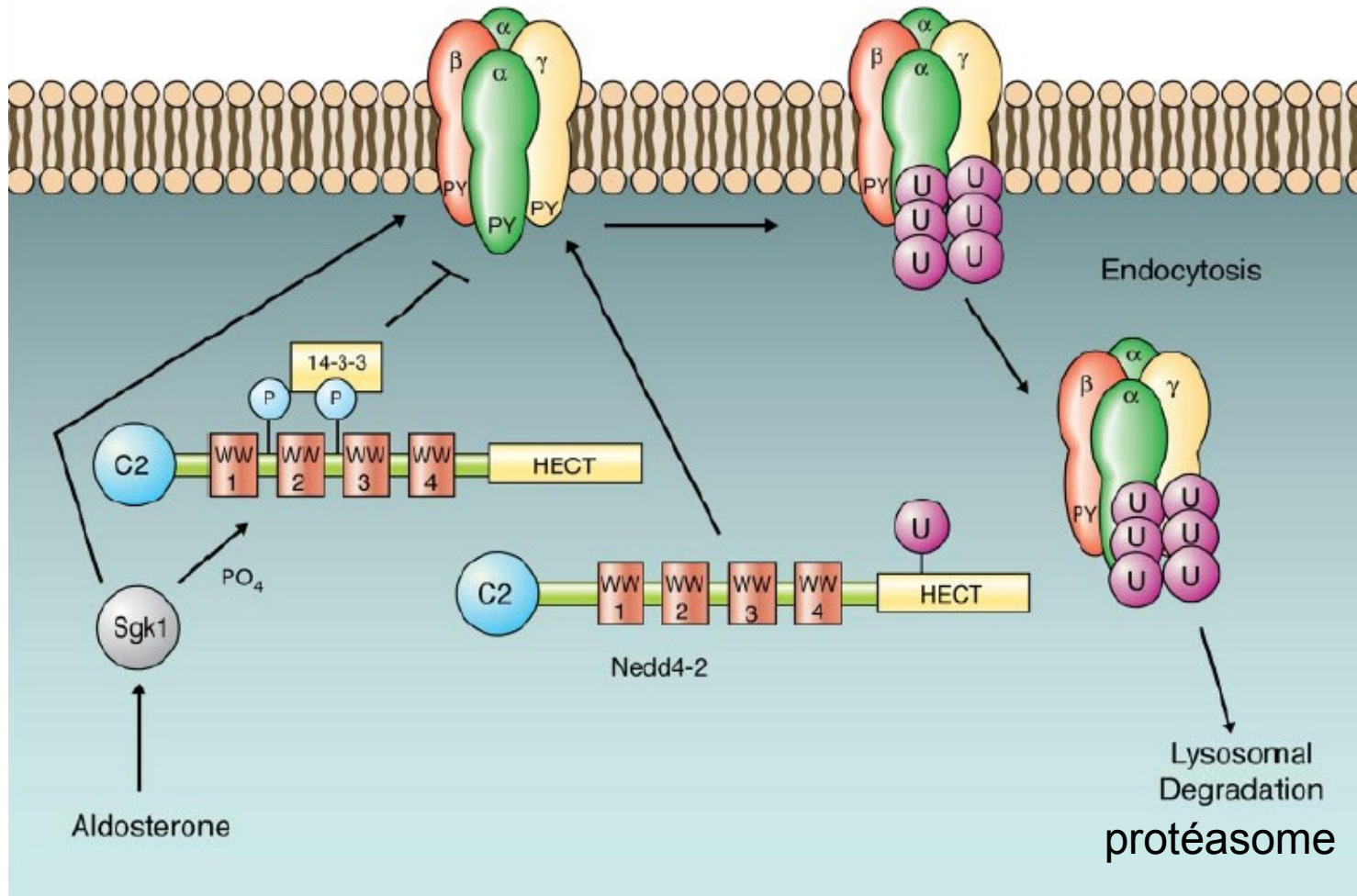
Formation de puits de clathrine



Shimkets, JBC 1997

# Contrôle de l'expression membranaire d'ENaC

Régulation de Nedd4-2 par SGK-1



# Syndrome de Liddle

Mutation sur les boucles intra-cellulaires  
des sous-unités  $\beta$  et  $\gamma$  d'ENaC

Augmentation de l'expression membranaire  
(absence d'internalisation après liaison à Nedd4-2)

# Rôle d'ENaC dans l'HTA essentielle ?

Chez 400 patients hypertendus :  
une mutation de  $\beta$  ENaC retrouvée dans 7 cas



Expression hétérologue (œuf de xénope)



Pas d'effet...

Idem pour  $\alpha$  et  $\gamma$ ENaC

# Objectif : décrire le syndrome de Liddle

Hypertension artérielle monogénique par mutation d'ENaC

ENaC : canal sodique formé de 4 sous-unités codés par 3 gènes différents

ENaC est localisé dans le néphron sensible à l'aldostérone

Absence d'interaction entre ENaC et Nedd4-2

Réabsorption de Na permanente et inadaptée à la pression artérielle

Pseudo-hyper-aldostéronisme car rénine plasmatique et aldostéronémie basses

## 3<sup>e</sup> Forme monogénique d'HTA

Les kinases sans lysine (WNK)

WNK : With No K (K = lysine)

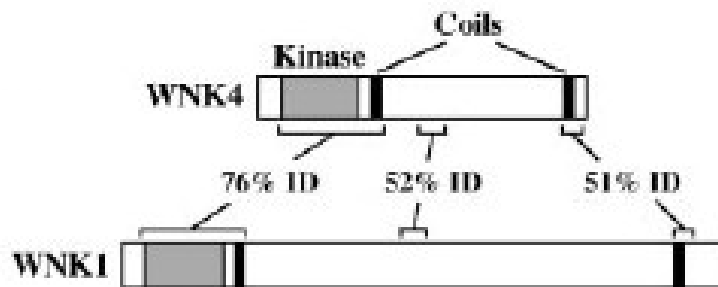


Syndrome de Gordon

# WNK : With No K (K = lysine)

WNK : sérine/thréonine protéine kinase (1-4)

Absence d'un résidu lysine très conservé sans perte de fonction catalytique

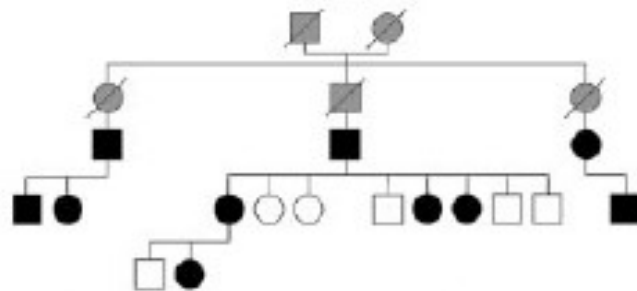


WNK4 chromosome 17 (homme)

WNK1 chromosome 12 (homme)

# Syndrome de Gordon

HTA, hyperkaliémie, acidose métabolique, rénine basse et aldostéronémie inadaptée



Autosomique dominant

# Sensibilité aux diurétique thiazidiques dans le syndrome de Gordon

25 mg d'hydrochlorothiazide

**WNK4**

PAS : ↘ 45 mm Hg

PAD : ↘ 25 mm Hg



très efficace

**WNK1**

PA < 140/90mm Hg  
1 fois sur 3

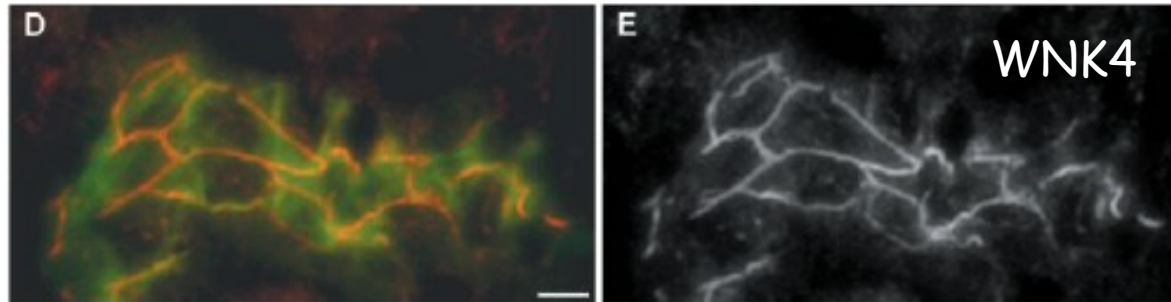


peu efficace

# Immuno-histochimie et microscopie confocale

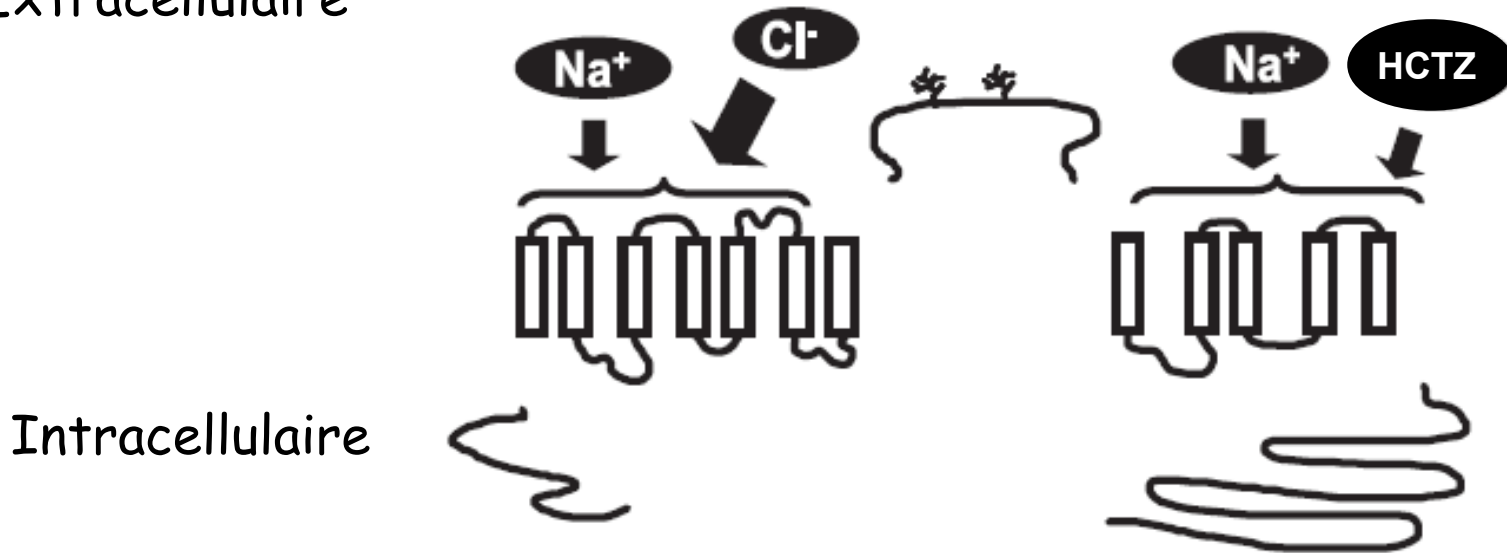
NCC = vert  
WNK4 = rouge

DCT



# Na-Cl cotransporter (NCC)

Extracellulaire

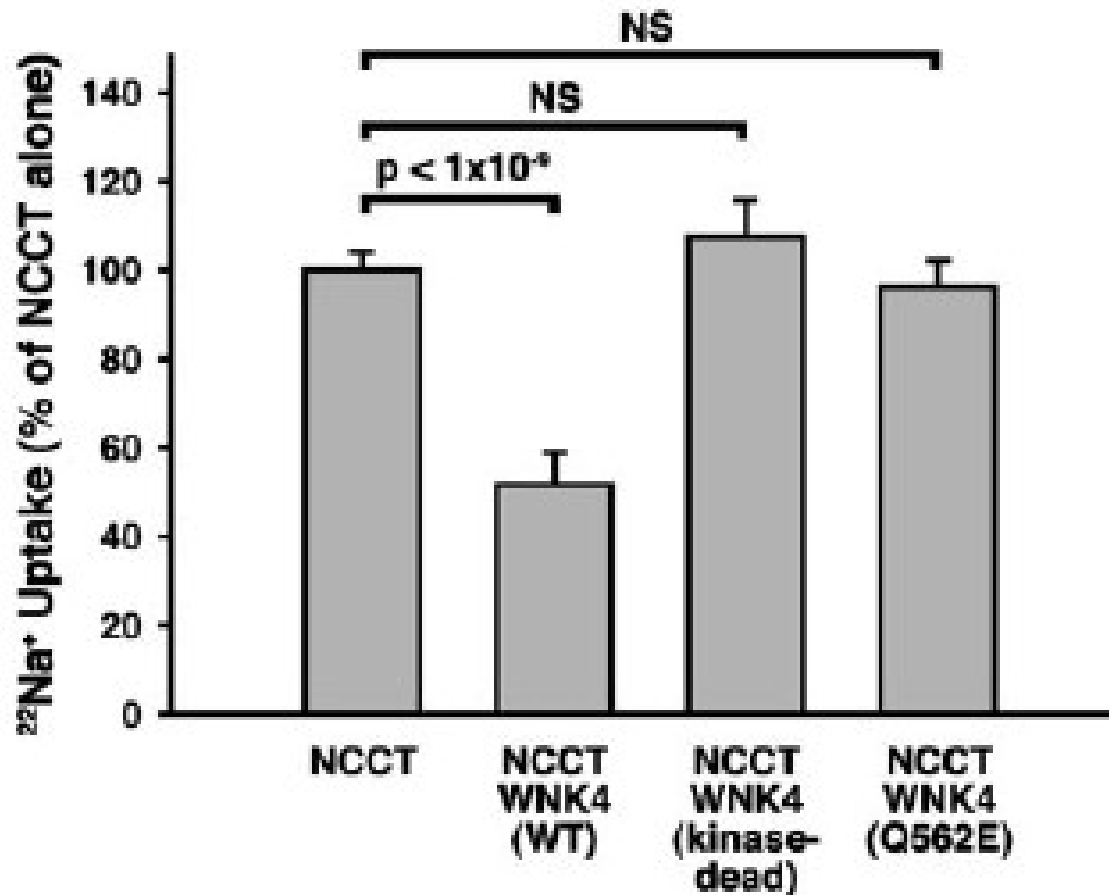


Intracellulaire

Régulation par adressage membranaire  
Perte de la glycosylation = 95 % d'inhibition  
Sensibilité aux thiazides (HCTZ)

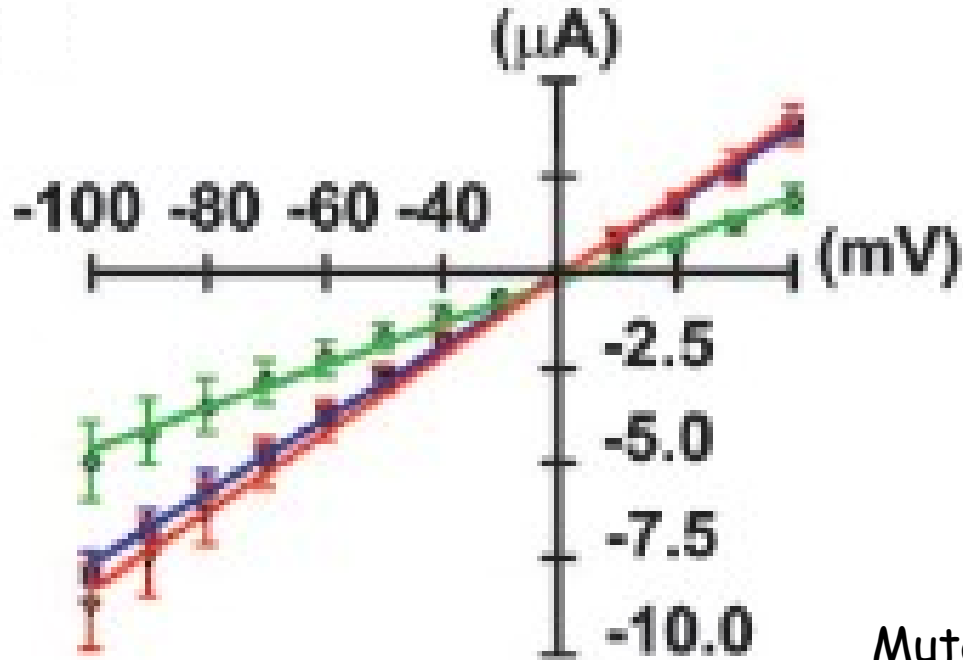
# NCC et WNK4 muté

Expression hétérologue dans l'œuf de xénope



# ENaC et WNK4 muté

Expression hétérologue dans l'œuf de xénope

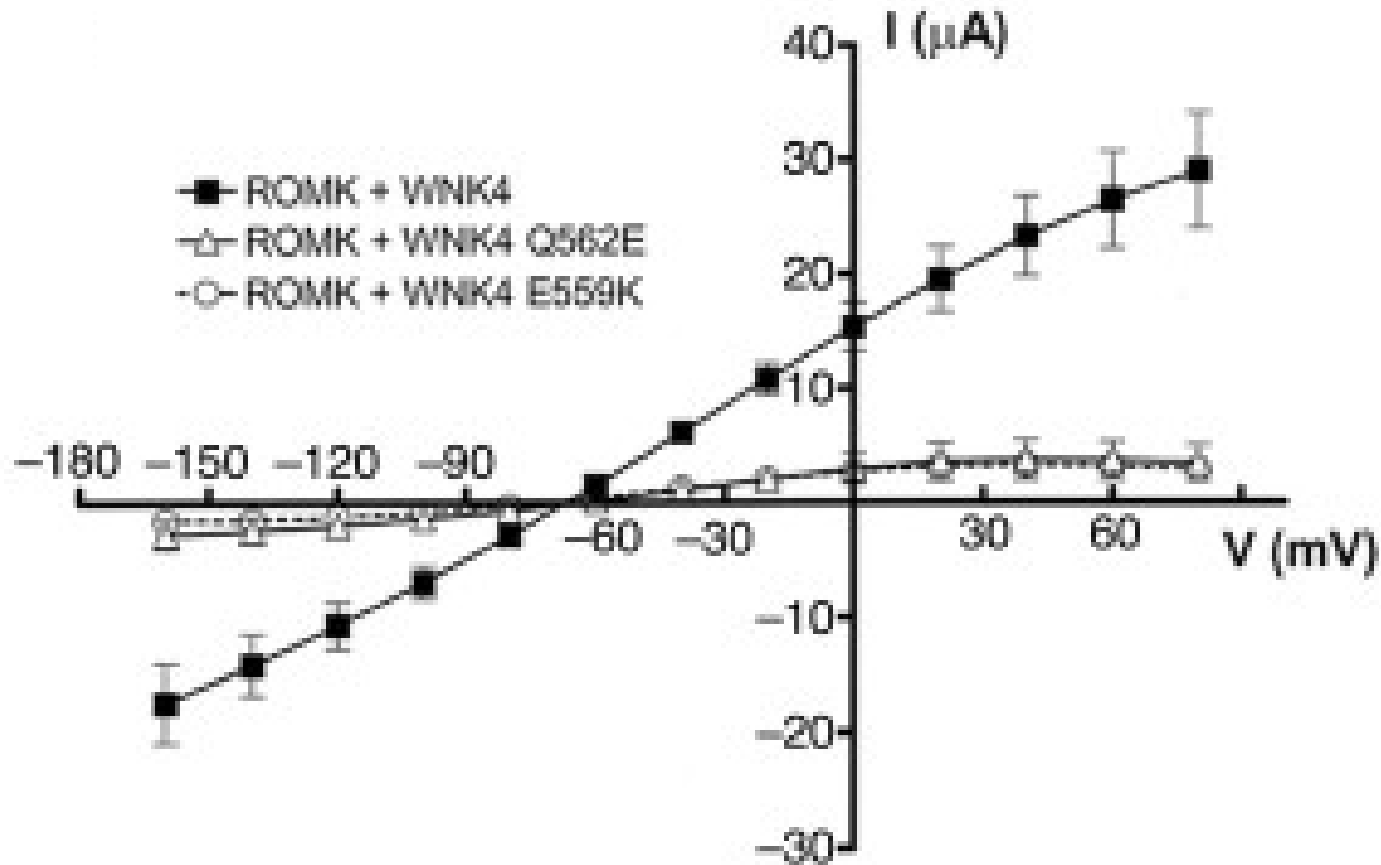


Mutation de WNK4 :  
perte d'effet inhibiteur d'ENaC

- ENaC
- ENaC + WNK4
- ▼ ENaC + WNK4 (Q562E)

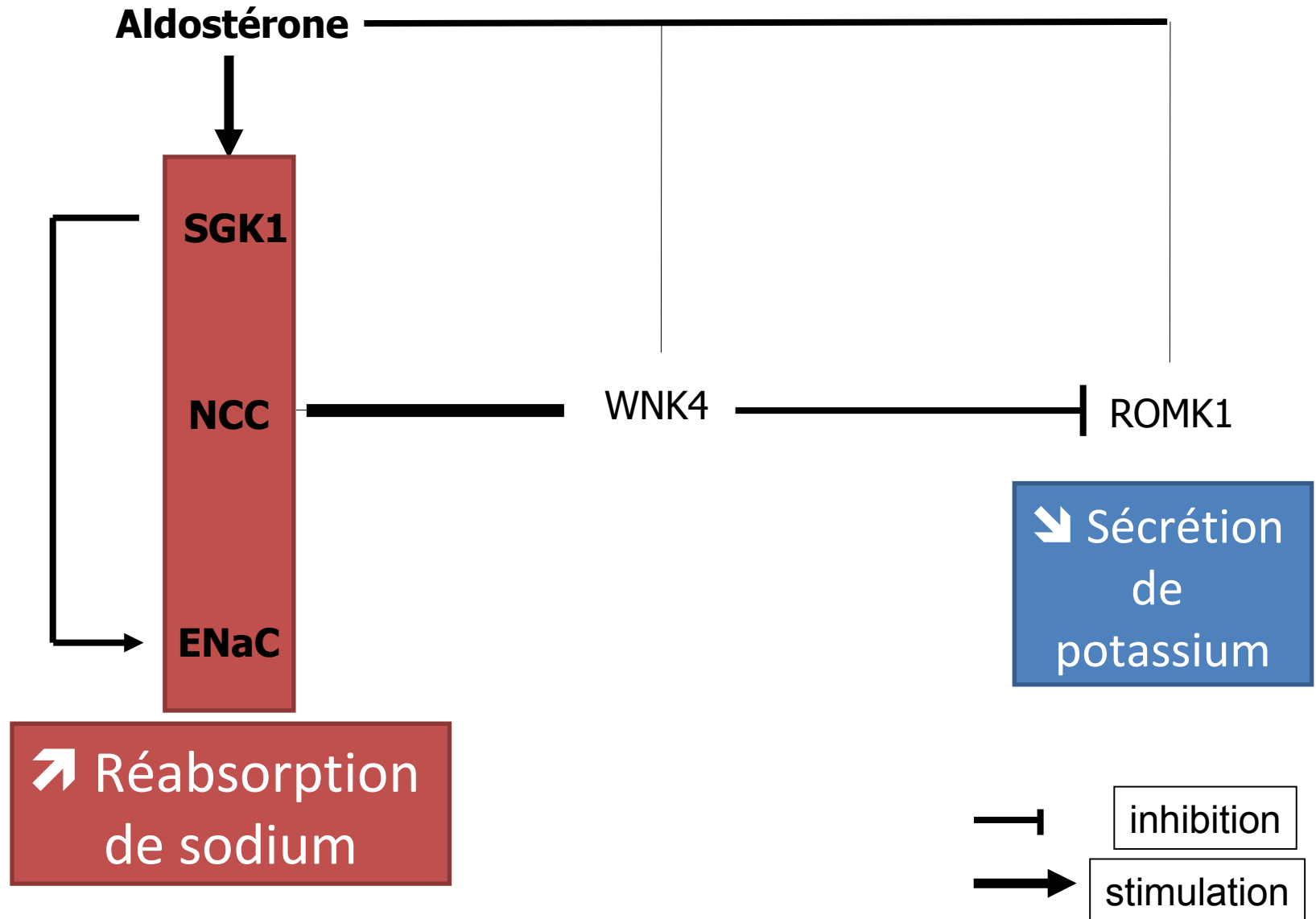
# ROMK et WNK4 muté

Expression hétérologue dans l'œuf de xénope



Mutation de WNK4 = inhibition de ROMK

# Syndrome de Gordon lié à WNK4



Ojectif: décrire le syndrome de Gordon lié à WNK4

HTA, hyperkaliémie, rénine basse et aldostéronémie inadaptée

Inhibition de la sécrétion de potassium par ROMK

Augmentation de la réabsorption de sodium et de chlore par NCC

Rôle physiologique de WNK :  
Découplage des flux de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  et de  $\text{K}^+$  dans le NSA

La carence alimentaire en  $\text{Na}^+$  induit un hyperaldostéronisme  
sans hypokaliémie

L'hyperkaliémie induit un hyperaldostéronisme  
sans hypervolémie

# PLAN

## Physiologie

Transport de sodium et de potassium dans le néphron sensible à l'aldostérone

## Pathologie → Hypertension artérielle

Définition

Approche expérimentale

Approche génétique

Formes monogéniques

Approche environnementale

# Approche alimentaire de l'HTA

Kempner, 1948

Alimentation riche en fruits et en riz

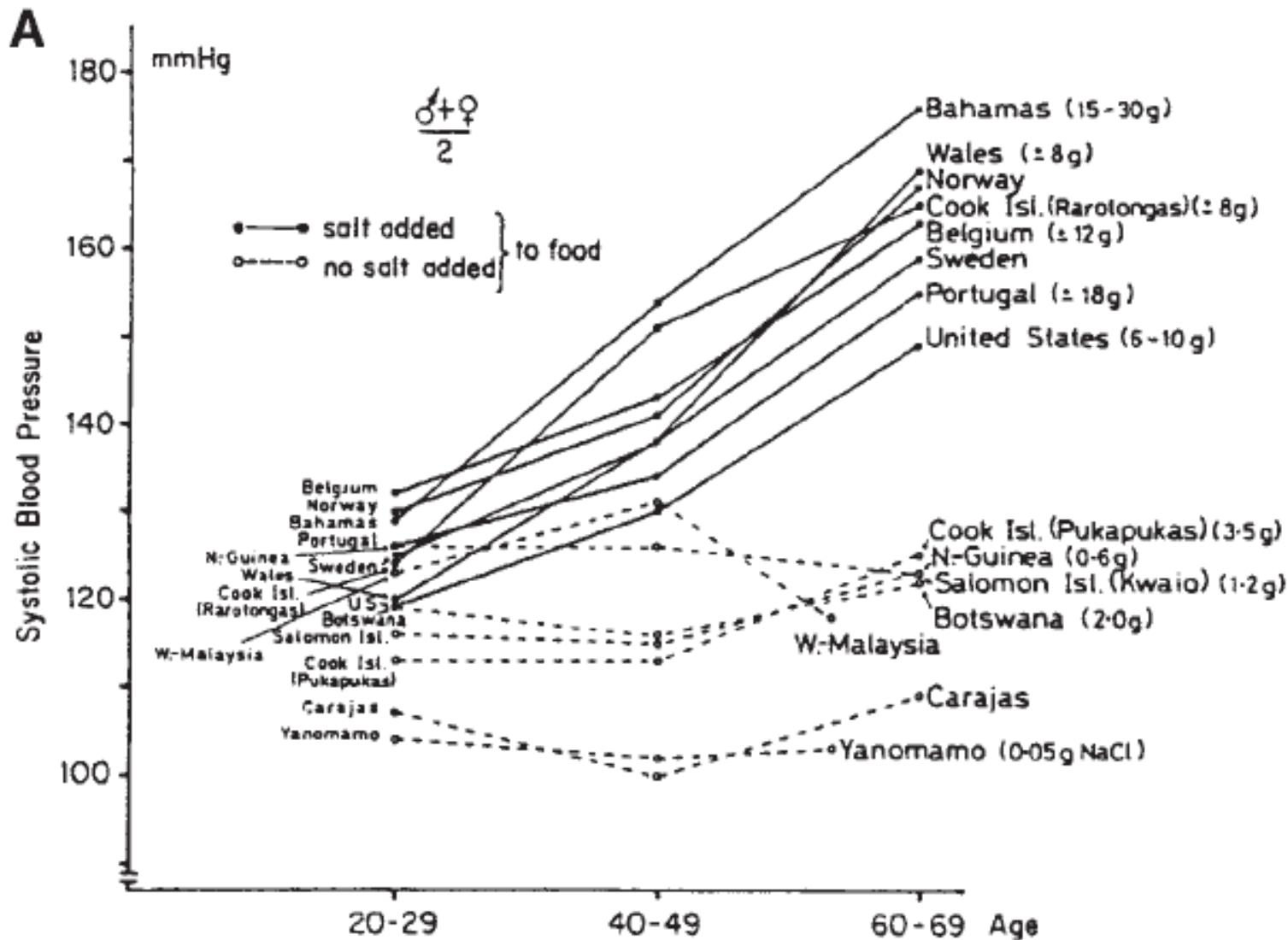
Protéines 20 g/j

NaCl < 0,5 g/j

500 patients hypertendus

↘ de plus de 20 mm Hg dans 62%

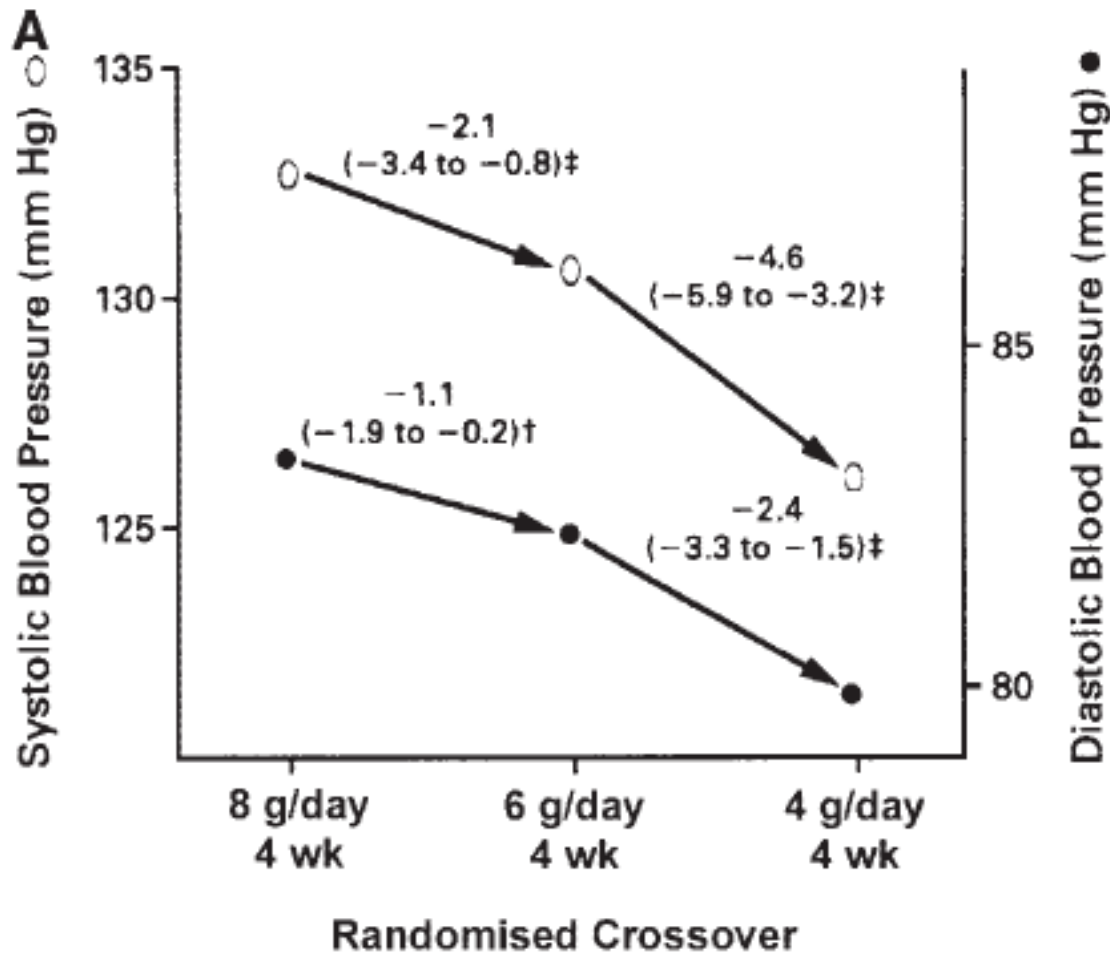
↘ rétinopathie, taille du cœur, onde T



52 centres  
n = 10079  
Urines de 24h  
Mesure de PA

Corrélation inverse entre TA et kaliurèse indépendamment de la natriurèse

DASH study (dietary approach to stop HTA)  
Effet de la réduction des apports sodés



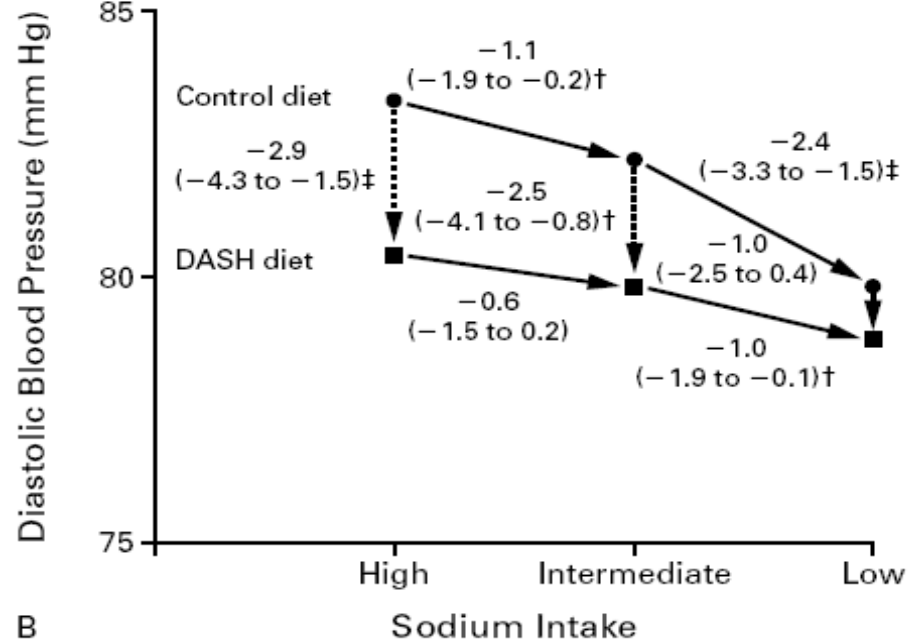
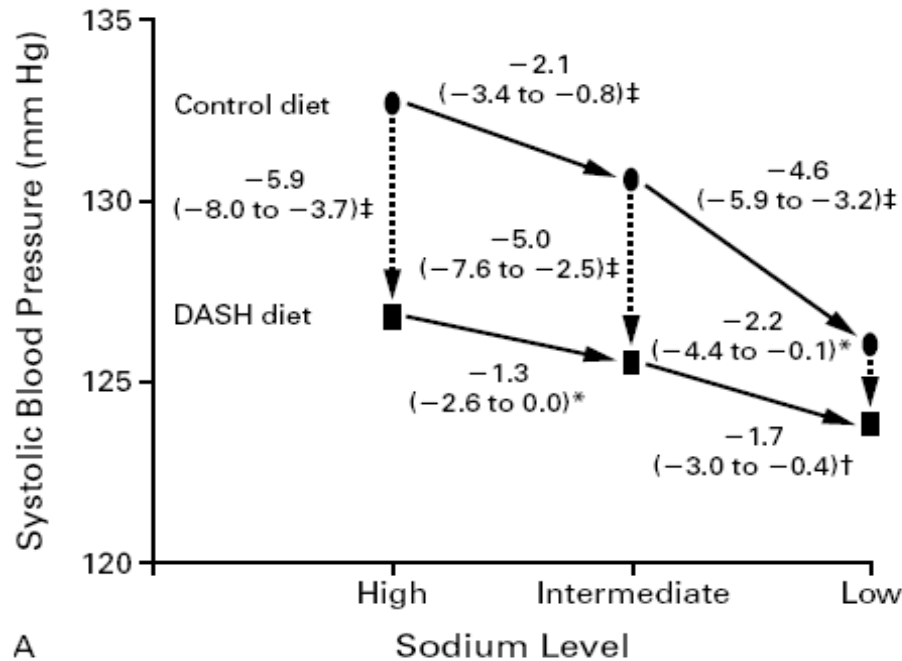
n = 204  
120 < PAS < 159  
80 < PAD < 95  
H/F = 1  
noirs/blancs = 1

# DASH study (dietary approach to stop HTA)

## Effet de la réduction des apports sodés et de la supplémentation potassique

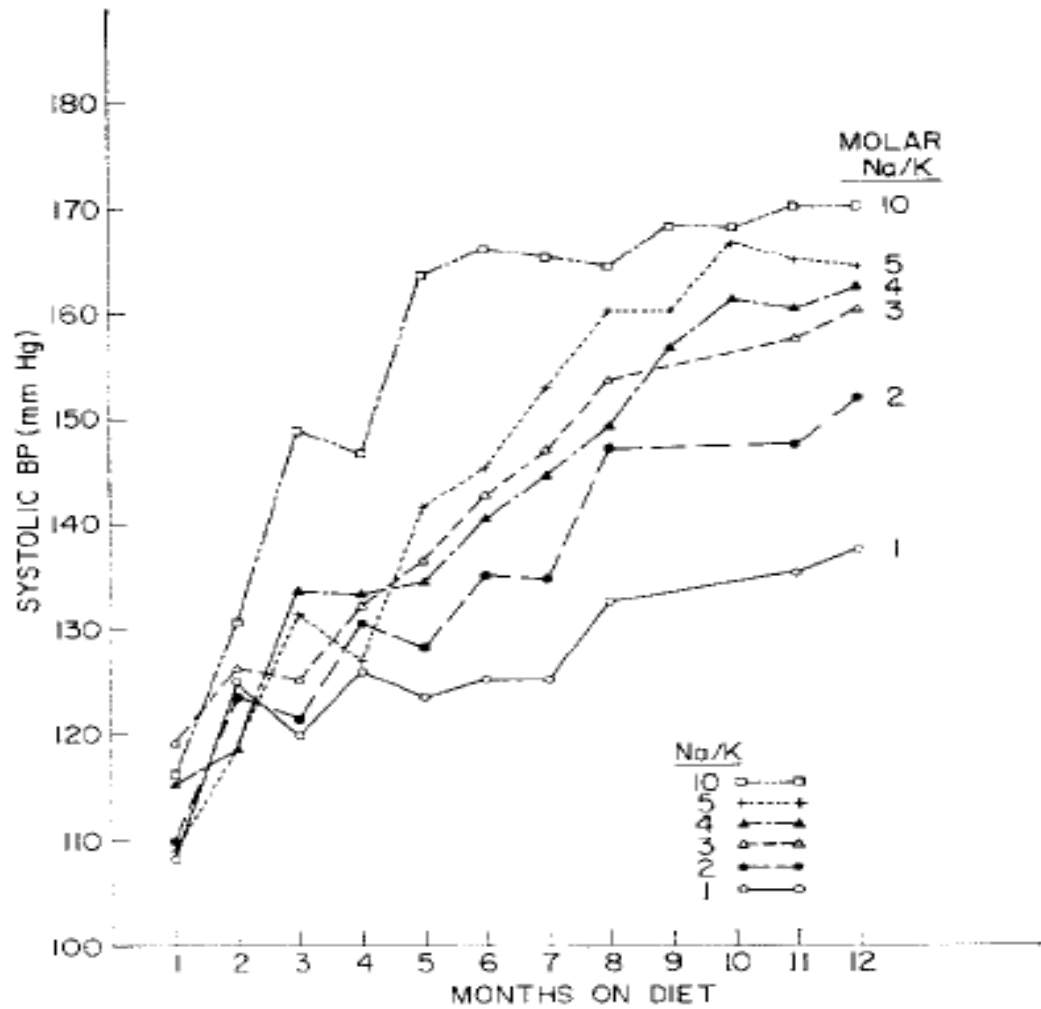
Control diet, n = 204

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

# Modifications NaCl et KCl chez le rat



Dahl, J Exp Med 1972

# Le sel est-il dangereux ?

Janvier 2008



Pierre Meneton (DR INSERM) et son avocat,  
lors d'un procès en diffamation  
à l'initiative du comité des salines de France  
pour l'article « sel, le vice caché »

# Objectif : déterminants environnementaux de l'HTA

Le chlorure de sodium est hypertenseur

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



LA  
RECHERCHE  
N'AVANCERAIT-  
ELLE PAS  
PLUS VITE

SI  
AU LIEU DE  
RECRUTER  
DES  
CHERCHEURS

ON  
ENGAGEAIT  
DES  
TROUVEURS  
?

# Maintien du volume extracellulaire: sodium et eau

Le SRAA contrôle le contenu en sodium de l'organisme

Hypovolémie ou déficit en sodium = ↗ [AII] et [aldostérone]

Hypervolémie ou excès de sodium = ↘ [AII] et [aldostérone]

L'hormone anti-diurétique (HAD) contrôle le contenu en eau de l'organisme

↗ Osmolarité efficace = ↗ Hormone anti-diurétique

↘ Osmolarité efficace = ↘ Hormone anti-diurétique

Lien entre HAD et volémie

Hypovolémie : ↗ gain de la relation entre l'HAD et l'osmolarité efficace

Hypovolémie : sécrétion d'HAD pour une osmolarité efficace normale