

## Résumé • Summary

Les canaux potassiques jouent un rôle important dans divers aspects du fonctionnement rénal. Ainsi, ils jouent un rôle dans la génération d'un potentiel négatif de membrane dans toutes les cellules rénales, et ils participent de façon importante au fonctionnement de la branche large ascendante de l'anse de Henle et des cellules principales des tubules collecteurs. Dans la branche large ascendante, les canaux potassiques médient le recyclage des ions potassium au travers de la membrane apicale, régulant ainsi le turn over du cotransporteur Na/K/2Cl. Dans la cellule principale du tubule collecteur, les canaux potassiques jouent un rôle-clé dans la sécrétion de potassium. Les canaux potassiques de la branche large et du collecteur cortical ont été clonés, et leurs propriétés fonctionnelles sont semblables. Des anomalies héréditaires de ces canaux potassiques sont responsables de perte de sel. De plus, la charge sodée intratubulaire est un élément déterminant de la sécrétion du potassium dans le segment terminal du néphron.

**Mots clés:** Canaux potassiques – Patch clamp – Branche large ascendante de l'anse de Henle – Cellule principale.

Potassium channels play an important role in several renal functions. These include the generation of a cell negative potential in all kidney cells, and potassium channels also participate importantly in the function of the thick ascending limb of Henle's loop and in principal tubule cells of collecting ducts. In the thick ascending limb (TAL), potassium channels mediate recycling of potassium ions across the apical membrane, thereby modulating the turnover of the Na/K/2Cl cotransporter. In the principal tubule cell, potassium channels play a key role in the secretion of potassium. The K channels in both the TAL and cortical collecting duct (CCD) have been cloned, and their functional properties are similar. Hereditary abnormalities of these K channels have been shown to lead to salt loss. Moreover, the delivery of sodium can be shown to be a key determinant of potassium secretion in the terminal nephron segment.

**Key words:** Potassium channels – Patch clamp - Thick ascending limb – Principal cell.

## ■ Physiologie et physiopathologie des canaux à potassium

En termes très généraux, les canaux à potassium remplissent deux fonctions principales.

1. En coopération avec l'accumulation active de potassium par la Na,K-ATPase, ils déterminent le potentiel de repos des tissus excitables tels que le nerf ou le muscle. Plusieurs maladies d'origine génétique ont été récemment attribuées à une dysfonction de certains types de canaux à potassium (tableau I).

Ces maladies ont en commun des anomalies dans la polarisation électrique des membranes. Ces anomalies résultent en divers troubles graves de l'excitabilité dans le cerveau, le cœur ou le muscle, ou des perturbations de la libération d'hormones par les cellules  $\beta$  du pancréas.

2. La seconde fonction des canaux à potassium est la sécrétion du potassium qui est exprimée dans le rein et dans l'intestin (fig. 1).

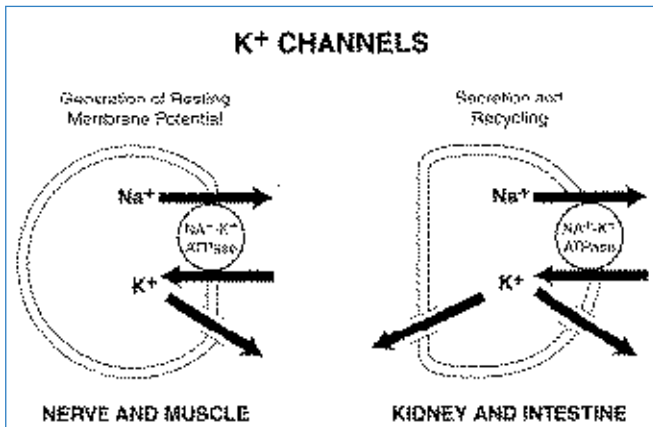
Trois processus contribuent à l'excrétion rénale du potassium et en règlent l'intensité: la filtration glomérulaire, une réabsorption extensive le long du tube proximal et de l'anse de Henle, et une sécrétion finement réglée dans le tube collecteur cortical. Je

**Tableau I:** Canaux potassiques.

<b>1. Potentiel de membrane</b>
• Rôle dans l'excitation nerveuse et musculaire striée ou cardiaque
• physiopathologie: anomalies génétiques des canaux potassiques, ataxie, épilepsie, migraine, surdité, myotonie, arythmie car-
<b>2. Sécrétion de potassium</b>
• Tube digestif
• Rein

ne parlerai pas du processus de recyclage médullaire du potassium, ni d'un autre phénomène (l'échange potassium-hydrogène). Mon analyse va se concentrer sur le rôle des canaux à potassium dans la régulation du transport dans l'anse ascendante et le tube collecteur cortical.

La figure 2 représente une cellule de l'anse ascendante large de Henle. Du côté basolatéral on trouve la Na,K-ATPase qui accumule activement le potassium dans la cellule et transporte le sodium vers l'extérieur ainsi que plusieurs voies de sortie du potassium. Le système de cotransport électroneutre Na-K-2Cl et deux types de canaux à potassium sont localisés à la membrane apicale. ROMK est l'abréviation de «renal outer medullary K



**Fig. 1 :** Les deux fonctions principales des canaux à potassium.

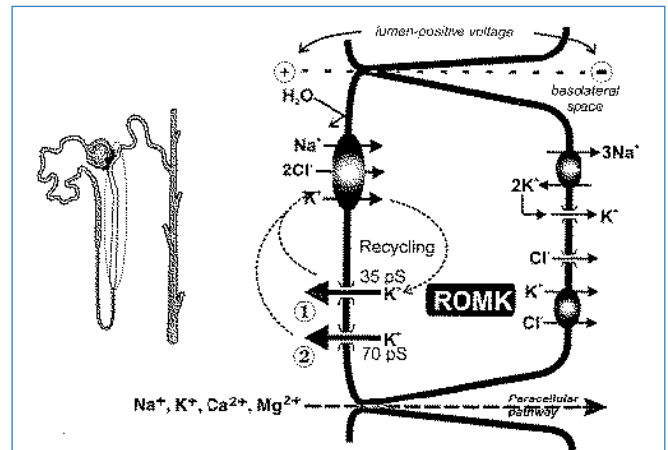
A gauche, dans une cellule symétrique, la Na,K-ATPase accumule le potassium dans la cellule et le canal à potassium permet la sortie passive du potassium suivant son gradient électrochimique. Ce mouvement de sortie du potassium génère le potentiel intracellulaire négatif, essentiel pour l'excitabilité du nerf ou du muscle. A droite, le schéma montre une cellule épithéliale typique. Dans cette cellule, les pompes ioniques et les canaux ioniques sont disposés de manière asymétrique. Cet arrangement résulte en un processus de sécrétion à deux étapes, qui commence par une accumulation active de potassium d'un côté de la cellule et une diffusion passive de l'autre côté. Le résultat est un transport vectoriel de potassium. Il est évident que les canaux à potassium jouent un rôle-clé dans la modulation de la sécrétion du potassium.

channel», c'est-à-dire le canal à potassium de la medulla externe du rein. Ce canal à potassium a été cloné et il est considéré comme l'un des deux canaux à potassium de la membrane apicale.

Ces deux canaux à potassium ont deux fonctions importantes :

1. Ils permettent la recirculation extensive du potassium. La concentration du potassium dans le fluide tubulaire entrant dans l'anse ascendante, deux millimolaires, est assez basse en comparaison avec celles du sodium ou du chlorure, 50 à 70 millimolaires. Cette concentration de potassium serait insuffisante pour permettre la réabsorption du sodium à un taux physiologique. Ce n'est que grâce à la recirculation du potassium vers la lumière qu'un transport adéquat de sodium peut avoir lieu. En conséquence, la fermeture des canaux à potassium diminue la réabsorption du chlorure de sodium alors qu'une augmentation de leur activité augmente la réabsorption de chlorure de sodium.
2. Leur rôle dans la génération du potentiel luminal positif. La voie paracellulaire est perméable au sodium, au potassium, au calcium et au magnésium, et ainsi le transport de ces ions chargés positivement dépend du potentiel électrique. Il a été démontré qu'une diminution de la perméabilité apicale au potassium, non seulement abaisse le potentiel luminal positif mais a aussi pour conséquence de réduire la réabsorption d'une quantité substantielle de sodium, de chlorure, de calcium et de magnésium.

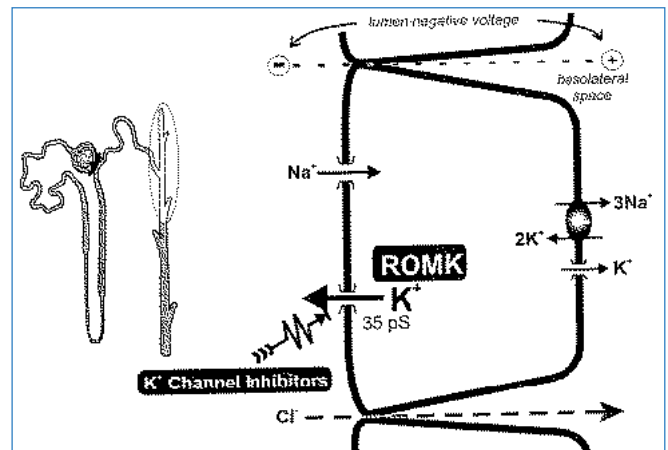
Les mécanismes sont un peu différents dans les cellules principales du tube collecteur cortical, le segment principalement responsable de la sécrétion de potassium (fig. 3). Les ions potassium sont tout d'abord accumulés dans la cellule à travers la membrane basolatérale. C'est un phénomène actif, consommateur d'énergie, qui est réalisé par l'activité de la Na,K-ATPase et



**Fig. 2 :** Schéma d'une cellule de la branche large ascendante de l'anse de Henle.

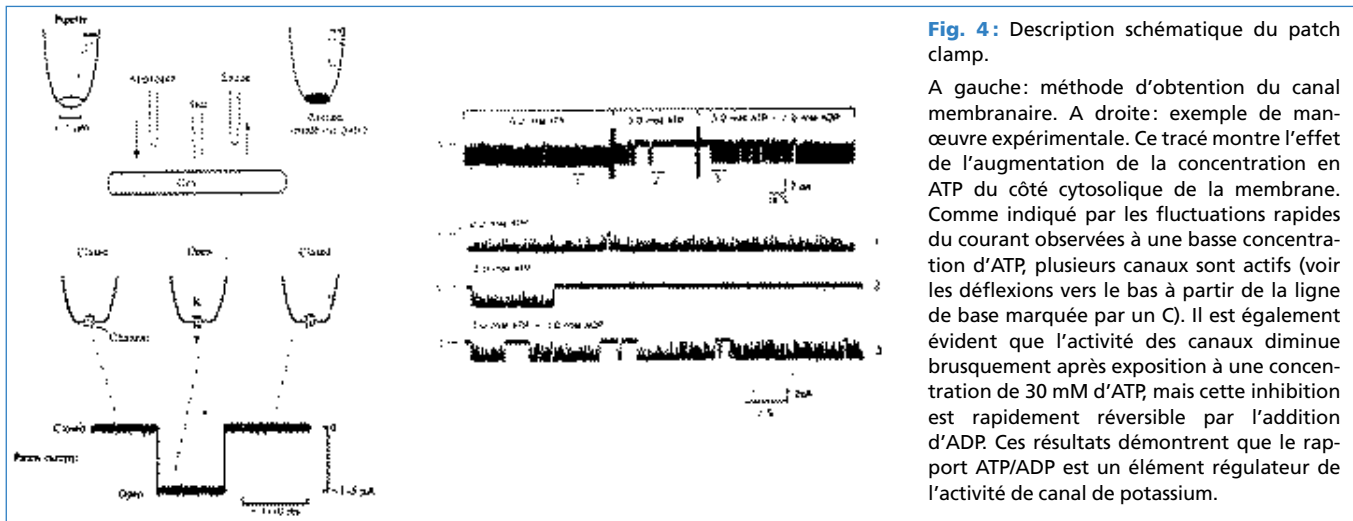
La membrane apicale contient le cotransporteur électroneutre Na/K/2Cl et deux canaux potassiques avec des conductances différentes. Le canal à faible conductance a été cloné (Rom K pour renal outer medullary K channel). La membrane basolatérale est le site de l'échangeur sodium-potassium, des canaux potassium et chlore, et du cotransporteur K/Cl. Le potassium est recyclé à travers la membrane apicale et basolatérale. La branche large ascendante a une perméabilité paracellulaire aux cations assez élevée, et le potentiel positif de la lumière est responsable d'une réabsorption passive d'une quantité importante de Na, K, Ca<sup>++</sup> et Mg<sup>++</sup> (d'après la Réf. 6).

nous voyons qu'une partie du potassium qui est entré dans la cellule retourne dans le fluide périlitubulaire. Cependant, une fraction importante quitte la cellule vers la lumière tubulaire, à travers les canaux à potassium de la membrane apicale. Ce processus est évidemment dépendant de l'état d'activation de ces canaux à potassium et comme cela sera discuté plus tard, aussi de l'activité du canal à sodium de la membrane apicale. Une conclusion importante est que la sécrétion de potassium dépend non seulement des canaux à potassium mais est également associée et dépendante du transport du sodium.



**Fig. 3 :** Schéma d'une cellule principale du tubule collecteur cortical.

La membrane apicale contient des canaux potassium et sodium qui sont régulés. La membrane basolatérale est le site de la Na,K-ATPase et d'un canal potassium. Noter que la lumière est électro-négative. Une sécrétion nette de potassium résulte de la captation active de K<sup>+</sup> par la membrane basolatérale et de la diffusion passive de la cellule vers la lumière (d'après la Réf. 6).



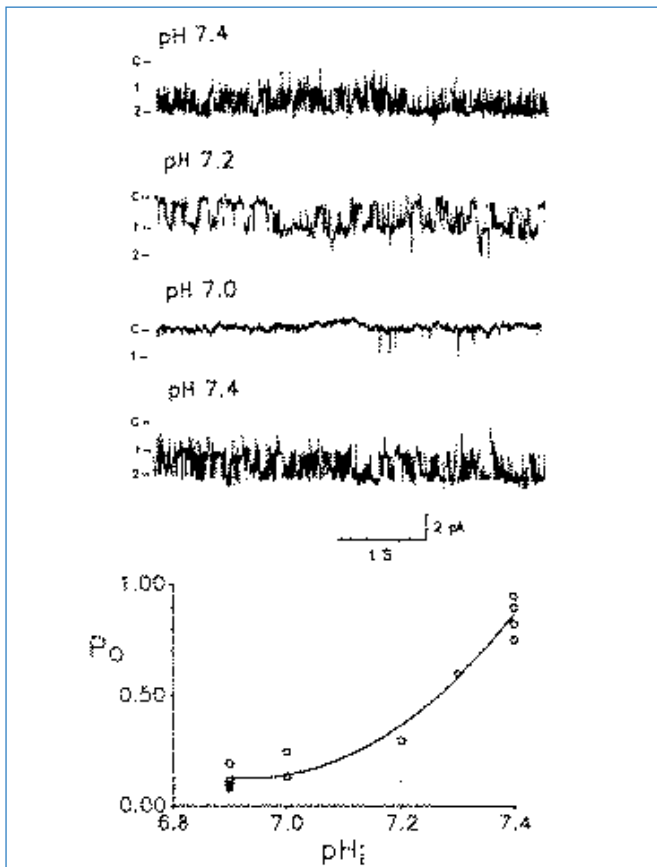
**Fig. 4 :** Description schématique du patch clamp.

À gauche: méthode d'obtention du canal membranaire. À droite: exemple de manœuvre expérimentale. Ce tracé montre l'effet de l'augmentation de la concentration en ATP du côté cytosolique de la membrane. Comme indiqué par les fluctuations rapides du courant observées à une basse concentration d'ATP, plusieurs canaux sont actifs (voir les déflexions vers le bas à partir de la ligne de base marquée par un C). Il est également évident que l'activité des canaux diminue brusquement après exposition à une concentration de 30 mM d'ATP, mais cette inhibition est rapidement réversible par l'addition d'ADP. Ces résultats démontrent que le rapport ATP/ADP est un élément régulateur de l'activité de canal de potassium.

Les canaux à potassium de la membrane apicale dans l'anse ascendante large et le tubule collecteur cortical ont beaucoup de caractéristiques en commun et sont en fait assez semblables. Tous les deux sont réglés par des facteurs métaboliques tels que des changements de la concentration cellulaire en ATP, et du pH. La sensibilité à l'action inhibitrice de l'ATP permet de définir ces canaux comme « canaux à potassium sensibles à l'ATP ». Le status acido-basique affecte également les canaux à potassium de la membrane apicale: l'acidose intracellulaire abaisse et l'alcalose augmente l'activité du canal. Plusieurs hormones modulent également ces canaux, comme démontré par les effets de la vasopressine, qui augmente l'activité du canal. Cet effet a lieu par l'intermédiaire de changements de l'état de phosphorylation du canal par un équilibre entre les processus de phosphorylation et de déphosphorylation. Des études récentes ont prouvé qu'une augmentation du calcium extracellulaire a comme conséquence une inhibition importante du canal à potassium apical, un processus qui est réalisé par la production d'acide arachidonique et de ses métabolites générés par le cytochrome P-450. Par leurs effets sur la recirculation apicale du potassium, les changements de l'activité des canaux à potassium apicaux ont des effets sur la réabsorption du sodium et du chlorure, ainsi que sur le transport des autres cations.

Autre conséquence de la sensibilité métabolique des canaux à potassium apicaux: il semble exister une relation fonctionnelle entre la concentration des cellules en ATP et l'activité du canal à potassium apical; or l'activité de la Na,K-ATPase basolatérale peut influencer la concentration d'ATP. Une augmentation d'activité de la Na,K-ATPase peut abaisser la concentration d'ATP et par conséquent augmenter l'activité du canal à potassium apical, parce que l'effet inhibiteur de l'ATP diminue. En revanche, une diminution de l'activité de la Na,K-ATPase résulte en une augmentation de la concentration cytosolique en ATP, ce qui a pour résultat une diminution de l'activité des canaux à potassium. Un tel mécanisme par lequel sont coordonnées l'accumulation basolatérale de potassium par la pompe et l'activité du canal à potassium apical peut être nécessaire pour maintenir l'homéostasie du potassium intracellulaire en dépit de changement d'activité de la pompe à sodium.

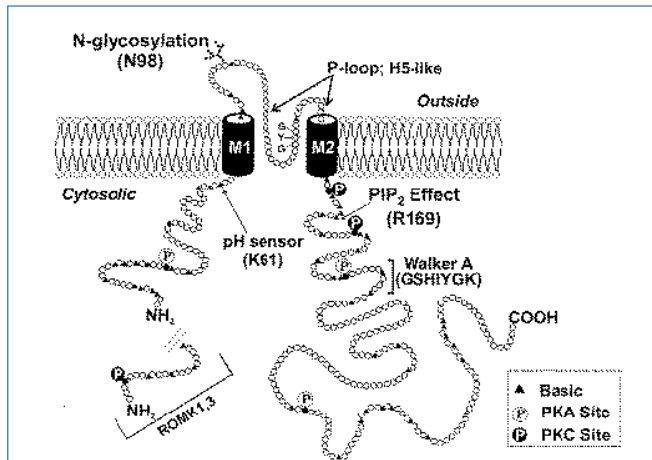
La technique du patch clamp permet l'enregistrement de courant d'un canal à potassium isolé (fig. 4). Un patch de membrane



**Fig. 5 :** Exemple d'un enregistrement de canal isolé de la membrane apicale d'une cellule principale.

Il s'agit aussi d'un enregistrement à partir d'un patch de membrane excisé, dont la face interne, cytosolique, a été exposée à des solutions de pH différents. Deux canaux sont actifs à un pH de 7,4. Cette activité diminue brusquement avec une augmentation modeste de l'acidité comme démontré par l'arrêt presque complet de l'activité du canal à pH 6,8. Le canal reprend promptement son activité avec la restauration de la valeur du pH à 7,4. La sensibilité au pH du canal à potassium apical est concordante avec l'observation que l'alcalose métabolique induit souvent des pertes de potassium, tandis que l'acidose métabolique peut mener à une chute de l'excrétion de potassium pour autant que le débit urinaire et la charge en sodium demeurent inchangés.

est obtenu en s'approchant de la surface de la cellule avec une micropipette spéciale. L'application d'une pression négative par aspiration mène alors à la formation d'un contact étroit entre la membrane et la paroi intérieure de la pipette de sorte qu'une zone minuscule de membrane, un « patch » est électriquement isolée du reste de la membrane cellulaire. Le patch de membrane peut être excisé et exposé *in vitro* à diverses solutions expérimentales.



**Fig. 6 :** Structure du canal responsable de la sécrétion du potassium dans le tube collecteur cortical et canaux à potassium apicaux à basse conductance de l'anse ascendante de Henle.

Le canal à potassium a deux segments transmembranaires, M1 et M2, et entre les deux, une boucle qui formerait le pore du canal. Avec l'apparition d'information concernant la structure tridimensionnelle de certains canaux à potassium, on peut prévoir que l'information concernant la structure moléculaire des canaux à potassium de l'épithélium rénal sera bientôt également disponible.

tales. Un potentiel électrique est alors imposé, ce qui a comme conséquence l'apparition de niveaux discrets de courant qui représentent l'ouverture et la fermeture de canaux ioniques isolés. Des changements du potentiel imposé, de la composition des solutions de chaque côté de la membrane, ou l'addition de substances pharmacologiquement actives ou d'hormones permettent alors une caractérisation moléculaire des propriétés des canaux à potassium (fig. 4 et 5).

Le canal sécréteur de potassium a été cloné il y a plusieurs années dans le laboratoire du Dr Hebert (fig. 6). C'est un membre du groupe de canaux identifiés comme canaux à potassium sensibles à l'ATP et sa localisation principale est la membrane apicale des cellules principales du tubule collecteur cortical.

Le canal qui a été cloné présente presque toutes les caractéristiques des canaux sécréteurs à potassium : la conductance unitaire, la sensibilité à l'ATP, au pH et à divers inhibiteurs, et la modulation par des kinases et des phosphatases, qui reflète les effets de processus de phosphorylation et de déphosphorylation. Le canal a des domaines amino- et carboxy-terminaux, identifiés dans le modèle par « NH<sub>2</sub> » et « COOH ». Il y a plusieurs isoformes du canal avec des localisations spécifiques dans le néphron distal. Plusieurs sites d'action des protéine-kinases A et C ont été identifiés, de même que des sites responsables pour la sensibilité au pH, un site responsable pour les effets du phosphatidyl-inositol biphosphate, et un motif « Walker » qui serait important pour la liaison de l'ATP et l'inhibition. Il est évident qu'une telle connaissance de la relation structure-fonction per-

met des progrès importants dans la compréhension des mécanismes par lesquels l'activité du canal est réglée.

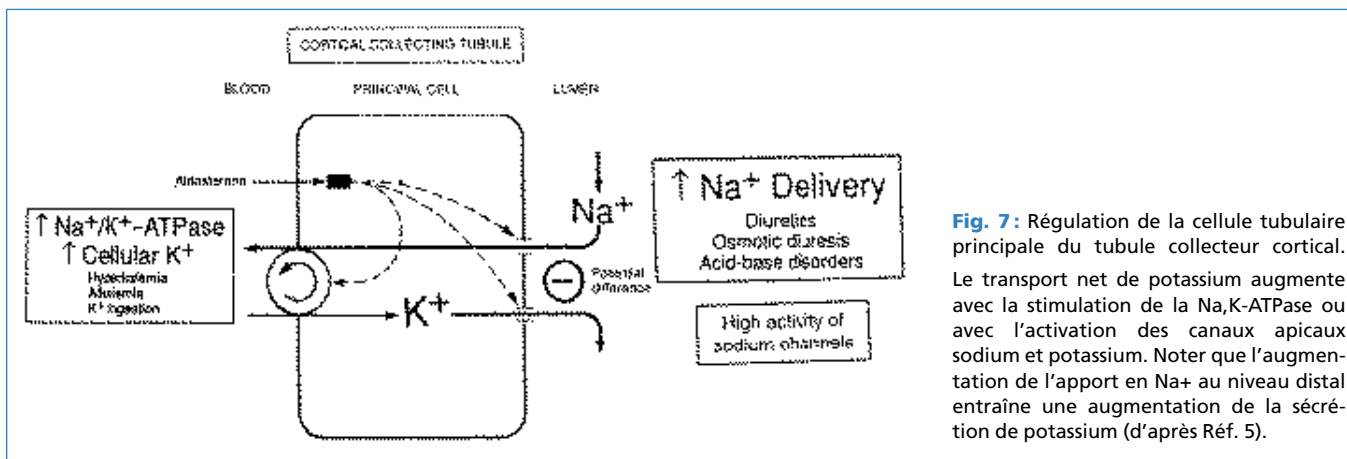
Un aspect intéressant de telles investigations est la démonstration que certains sites spécifiques de phosphorylation changent le comportement cinétique du canal – c'est-à-dire modulent la durée des états ouverts et fermés – alors que la phosphorylation d'autres sites provoque l'insertion de nouveaux canaux dans la membrane. En d'autres termes, ces derniers sites modulent non pas l'activité des canaux mais leur densité dans la membrane. Pour conclure ces considérations à propos de la structure de canal, je devrais mentionner qu'il est probable qu'un canal fonctionnel est constitué de l'assemblage de quatre sous-unités différentes. En outre, il y a des évidences préliminaires que le comportement du canal est également affecté par interaction avec d'autres protéines de la membrane. Un exemple représentatif est le « SUR », le récepteur aux sulfonylurées, et le CFTR, le régulateur des canaux associé à la conductance chlorure. Tous les deux sont exprimés dans le rein et il a été démontré qu'ils induisent des changements subtils dans la fonction du canal à potassium cloné.

## ■ Altérations fonctionnelles rénales associées à la fonction anormale de canaux ioniques

1. La première de ces altérations concerne le syndrome de Bartter, un désordre héréditaire de l'homéostasie électrolytique assez rare qui se manifeste par une hypovolémie, des pertes de chlorure de sodium, de potassium et une alcalose métabolique. La meilleure explication est qu'une réduction de la réabsorption de chlorure de sodium et de potassium le long de l'anse de Henle mène à une augmentation massive de la quantité de ces solutés qui parviennent dans l'urine finale. Cette quantité excède la capacité des segments du néphron à réabsorber l'eau et les chlorures de sodium et de potassium. L'hypovolémie sévère active l'axe rénine-angiotensine-aldostérone, ce qui peut contribuer au développement de l'alcalose métabolique. Cette dernière anomalie sera encore aggravée par la perte de potassium et l'hypokaliémie.

Les investigations basées sur des études génétiques de liaison par Lifton, Simon et leurs associés ont identifié trois altérations spécifiques des systèmes de transport associées au phénotype de la maladie de Bartter. Celles-ci incluent des mutations structurales du cotransporteur Na-K-2Cl, du canal à chlorure basolatéral, et, ce qui nous importe, du canal apical sécréteur de potassium, ROMK. Les lésions structurales du canal comprennent des anomalies des sites de phosphorylation, interférence avec la sensibilité normale au pH qui ont comme conséquence la fermeture du canal, même à pH cellulaire normal, et des modifications qui empêchent l'adressage et la mise en place appropriée du canal dans la membrane apicale. Ces études soulignent le fait que la réabsorption de sodium dans l'anse ascendante large de Henle dépend d'une manière critique de l'activité des canaux à potassium de la membrane apicale.

2. Il existe une relation importante entre le transport du sodium et du potassium par les cellules principales du tube collecteur cortical. Le sodium entre dans la cellule par l'intermédiaire des



**Fig. 7 :** Régulation de la cellule tubulaire principale du tubule collecteur cortical. Le transport net de potassium augmente avec la stimulation de la Na,K-ATPase ou avec l'activation des canaux apicaux sodium et potassium. Noter que l'augmentation de l'apport en Na<sup>+</sup> au niveau distal entraîne une augmentation de la sécrétion de potassium (d'après Réf. 5).

canaux à sodium apicaux et stimule le transport basolatéral du sodium, un processus qui est normalement loin de la saturation. L'activité stimulée de la Na-K-ATPase basolatérale mène à une augmentation de l'accumulation de potassium dans la cellule puis à sa sécrétion dans la lumière tubulaire.

Le sodium peut affecter le transport de potassium par deux mécanismes : par une augmentation de la charge en sodium délivrée par les segments proximaux ou par l'activité augmentée des canaux à sodium apicaux (fig. 7). Une concentration élevée de sodium dans la lumière peut stimuler la sécrétion de potassium en dépolarisant la membrane apicale, et une augmentation de l'activité des canaux apicaux de sodium a le même effet. L'interprétation généralement acceptée de ces effets du sodium sur le transport apical du potassium est la suivante : une augmentation du gradient de sodium et de la perméabilité du sodium dépolarisent le potentiel de la membrane apicale bien au-dessus du potentiel d'équilibre du potassium. Par conséquent, la sortie des ions de potassium de la cellule vers la lumière tubulaire est favorisée. L'importance de l'entrée de sodium dans les cellules principales, soit parce que la charge en sodium est accrue, soit parce que l'activité du canal à sodium est augmentée, est bien confirmée par la forte diminution de la sécrétion de potassium lorsque la charge de sodium délivrée diminue ou que l'activité du canal à sodium est réduite.

Alors que les effets de la perméabilité du sodium sur la sécrétion du potassium sont bien connus, il n'est pas encore clair que des changements primaires de la perméabilité au potassium peuvent moduler la réabsorption du sodium. Théoriquement au moins, ceci pourrait être le cas, parce que les changements de la perméabilité à potassium affectent le potentiel de la membrane apicale, et ainsi la force qui entraîne le sodium de la lumière vers la cellule. Si la perméabilité au potassium augmente, le potentiel électrique à travers la membrane apicale se déplace vers le potentiel d'équilibre du potassium et un potentiel de membrane apical plus négatif en résulte. Par conséquent, la réabsorption de sodium devrait être stimulée. Une diminution dans la perméabilité du potassium d'autre part diminuerait la différence potentielle électrique à travers la membrane apicale et diminuerait de ce fait l'entrée de sodium. On ne sait pas encore si des changements de la perméabilité au potassium sont impliqués dans des maladies où ils pourraient être responsables d'altérations de la réabsorption du sodium.

Les canaux à potassium sont un élément important du fonctionnement rénal, et leur rôle n'est pas limité seulement à la régulation de la sécrétion de potassium. Les mouvements du potassium sont intimement liés à ceux du sodium. Les canaux à potassium jouent un rôle important dans la fonction de l'anse ascendante large et du tube collecteur cortical. Dans le premier, ils déterminent le transport de sodium par le recyclage du potassium à travers la membrane apicale, et dans le dernier, ils jouent un rôle important dans le rapport entre la sécrétion du potassium et la réabsorption de sodium.

#### Adresse de correspondance :

Gerhard Giebisch, MD  
Cellular and molecular physiology  
Yale University School of Medicine  
333 Cedar Street  
New Haven, CT 06520  
USA



#### Références

1. Lehman-Horn F, Jurkat-Rott K. Voltage-gated ion channels and hereditary disease. *Physiol Rev* 1999; 79: 1317-72.
2. Ashcroft FM. *Ion Channels and disease*. San Diego: Academic Press, 1999.
3. Giebisch G. Renal potassium transport: Mechanisms and regulation. *Am J Physiol* 1998; 274: F817-F33.
4. Schultheiss G, Diener M. K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> conductances in the distal colon of the rat. *Gen Pharmacol* 1998; 31: 337-42.
5. Cogan MG. *Fluid and electrolytes: physiology and pathology*. San Mateo, CA: Appleton and Lange, Norwalk CT, 1991.
6. Wang W, Hebert SC. The molecular biology of renal K channels. In: *The Kidney: Physiology and pathophysiology*, 3rd edition (Seldin DS, Giebisch G, eds.). Philadelphia: Lippincott (in press, 2000).
7. Ho K, Nichols CG, Lederer WJ, Lytton J, Vassilev PM, Kanazirska MV, Hebert SC. Cloning and expression of an inwardly rectifying ATP-regulated potassium channel. *Nature* 1993; 362: 31-8.
8. Wang W, Hebert SC, Giebisch G. Renal K<sup>+</sup> channels: Structure and function. *Ann Rev Physiol* 1997; 59: 413-36.

9. Welling P. A Cross-talk and the role of KATP channels in the proximal tubule. *Kidney Int* 1995; 48: 1017-23.
10. Standen NB. Potassium channels, metabolism and muscle. *Exp Physiol* 1992; 77: 1-25.
11. Wang W, Schwab A, Giebisch G. The regulation of the small conductance K<sup>+</sup> channel in the apical membrane of rat cortical collecting tubule. *Am J Physiol* 1990; 259: F494-F502.
12. Simon DB, Karet FE, Rodriguez-Soriano M, et al. Genetic heterogeneity of Bartter's syndrome revealed by mutations in the K<sup>+</sup> channel, ROMK. *Nature Genet* 1996; 14: 152-6.
13. Lifton RP. Inherited disorders of renal salt homeostasis: Insights from molecular genetic studies. In: *The Kidney: Physiology and pathophysiology*, 3rd edition (Seldin DS, Giebisch G, eds.). Philadelphia: Lippincott (in press, 2000).