

Le transport du potassium : aspects moléculaires et pathologiques

Florian Lesage
Jacques Barhanin
Pierre Meneton

Les ions potassium (K^+) sont présents en abondance dans toutes les cellules de l'organisme, et sont impliqués dans de nombreux processus biologiques. Leur accumulation dans les cellules implique des ATPases qui convertissent l'énergie chimique du passage ATP/ADP en un gradient électrochimique transmembranaire de K^+ . Grâce à des transporteurs spécialisés, le gradient électrochimique de K^+ est également utilisé par les cellules pour accumuler des ions Cl^- , des neurotransmetteurs ou des acides aminés. L'entrée des ions K^+ dans les cellules fait en outre intervenir des transporteurs utilisant le gradient électrochimique transmembranaire de Na^+ comme source d'énergie. Différentes familles multigéniques de K^+ -ATPases, canaux K^+ et transporteurs K^+ ont été identifiées, et un nombre croissant de maladies héréditaires associées à ces protéines sont en cours de caractérisation chez l'homme. L'analyse moléculaire de ces maladies, ainsi que le développement de modèles animaux par l'invalidation des gènes spécifiques permettent aujourd'hui de mieux comprendre les rôles physiologiques et pathologiques des protéines impliquées dans le transport du K^+ .

Les ions K^+ participent à l'établissement et à la modulation du potentiel électrique membranaire, à la régulation du volume cellulaire et au transport de divers ions et molécules organiques. Le transport primaire des ions K^+ vers le compartiment intracellulaire est assuré par deux types de pompes ou ATPases [1]. Le flux de K^+ couplé à l'hydrolyse de l'ATP est associé à une sortie d'ions sodium (Na^+) dans le cas des Na^+,K^+ -ATPases ou de protons pour les H^+,K^+ -ATPases.

Les K^+ -ATPases

Les ATPases sont formées par l'association de deux types de structures : les sous-unités α à 10 segments transmembranaires (STM) qui sont responsables de l'activité catalytique, et les sous-unités β à 1 STM, qui agissent sur la stabilité et l'activité des complexes $\alpha\beta$ (figure 1). Dans certains tissus tels que le rein, une troisième sous-unité (γ) est associée aux complexes $\alpha\beta$ et module leur affinité pour l'ATP. Six gènes codent pour les sous-unités α , 4 pour les sous-unités

ADRESSES

F. Lesage, J. Barhanin : Institut de pharmacologie moléculaire et cellulaire, Cnrs UPR 411, 660, route des Lucioles, Sophia Antipolis, 06560 Valbonne, France. P. Meneton : Inserm U. 367, 17, rue du Fer-à-Moulin, 75005 Paris, France.

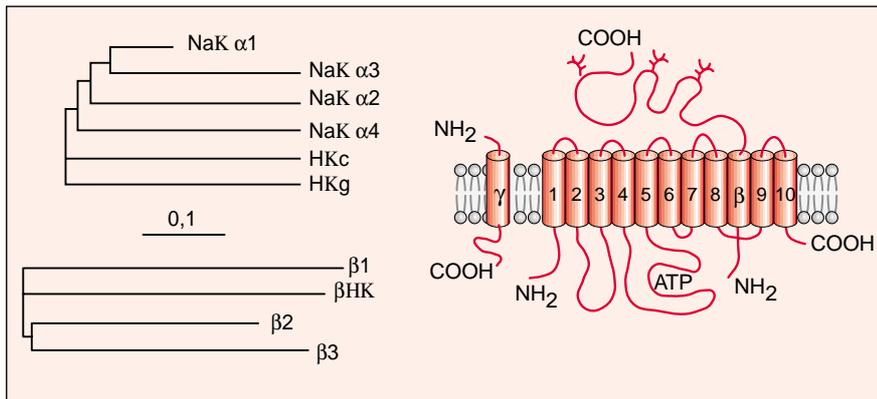


Figure 1. **Diversité et topologie membranaire des K⁺-ATPases.** Le dendrogramme a été réalisé en utilisant les programmes ClustalW et Treeview. Les sous-unités α et β sont désignées par leurs noms usuels (NaK α 1 à 3 pour ATP1A1 à 3, NaK α 4 pour ATP1AL2, HK α 2 pour ATP1AL1, HK α 1 pour ATP4A, β 1 à 3 pour ATP1B1 à 3 et β HK pour ATP4B). Le nombre de segments transmembranaires et l'organisation des sous-unités α , β et γ sont présentés sur le schéma de droite. La position relative de la sous-unité γ par rapport au dimère $\alpha\beta$ n'est pas connue.

tés β et 1 pour la sous-unité γ (figure 1). L'existence de ces isoformes permet un nombre important de combinaisons associant les différentes sous-unités, ce qui explique en partie la diversité fonctionnelle des K⁺-ATPases. En maintenant les gradients électrochimiques transmem-

branaires des ions K⁺ et Na⁺, les K⁺-ATPases jouent un rôle essentiel dans le contrôle du volume cellulaire, dans la régulation du pH et de la concentration en calcium (Ca²⁺) intracellulaire, ainsi que dans le captage des acides aminés, des sucres et des sulfates. Elles sont également

essentielles pour la production des potentiels de repos et d'action, le captage des neurotransmetteurs, et le transport transépithélial de solutés et d'eau.

Na⁺,K⁺-ATPase

Le gène *ATP1A1* code pour la sous-unité Na⁺,K⁺ α 1 qui s'associe avec la sous-unité β 1 codée par le gène *ATP1B*. La forme α 1 β 1 est ubiquitaire et joue un rôle primordial dans la survie cellulaire, puisque l'inactivation du gène α 1 chez la souris [2] est létale (voir Tableau I). Les souris hétérozygotes sont viables, mais présentent une hypo-contraction du muscle cardiaque, due à un taux réduit d' α 1 [2]. Dans le rein, l'isoforme α 1 β 1 est associée au transport transépithélial des ions Na⁺ et K⁺, et son activité influence le volume extracellulaire et la pression sanguine. Ainsi, chez la lignée de rats Dahl sensibles au sel [3], une liaison génétique entre le locus α 1 et l'hypertension a été récemment décrite. De plus, α 1 β 1 interagit avec une protéine du cytosquelette, l'adducine, dont le gène présente des mutations associées à l'hypertension

Tableau I

MALADIES HUMAINES ET MODÈLES MURINS LIÉS AUX K⁺-ATPASES ET AUX TRANSPORTEURS POTASSIQUES

Gène (Localisation chromosomique)	Maladie associée	Modèle animal	Phénotype
<i>ATP1A1</i> (1p13)	Hypertension Na ⁺ sensible?	Inactivation	Létal
<i>ATP1A2</i> (1q21-q23)	?	Inactivation	Létal
<i>ATP1A3</i> (19q13.2)	?	Inactivation	?
<i>ATP1AL2</i> (1q21-q23)	?	?	?
<i>ATP1AL1</i> (13q12.3 ou 13q21-q31)	?	Inactivation	Sensibilité déplétion K ⁺
<i>ATP4A</i> (19q13.1)	?	?	?
<i>ATP1B1</i> (1q22-q25)	?	?	?
<i>ATP1B2</i> (17p)	?	Inactivation	Neurodégénérescence neurale
<i>ATP1B3</i> (3q22-q23)	?	?	?
<i>ATP4B</i> (13q34)	?	?	?
<i>BSC1</i> , <i>NKCC2</i> , <i>SLC12A1</i> (15q15-q21)	Syndrome de Bartter	Inactivation	?
<i>BSC2</i> , <i>NKCC1</i> , <i>SLC12A2</i> (5q23.3)	?	Inactivation	Surdité, hypertension
<i>KCC1</i> , <i>SLC12A4</i> (16q22.1)	?	?	?
<i>KCC2</i> (?)	?	?	?
<i>KCC3</i> (15q13)	Epilepsie juvénile myoclonique?	?	?
<i>EAAT1</i> , <i>GLAST</i> , <i>SLC1A3</i> (5p13)	?	Inactivation	Phénotype EAAT2 atténué
<i>EAAT2</i> , <i>GLT-1</i> , <i>SLC1A2</i> (11p13-p12)	Sclérose latérale amyotrophique?	Inactivation	Crises épileptiques
<i>EAAT3</i> , <i>EAAC1</i> , <i>SLC1A1</i> (9p24)	?	Inactivation	Amino-acidurie dicarboxylique
<i>EAAT4</i> , <i>SLC1A6</i> (?)	?	?	?
<i>EAAT5</i> (?)	?	?	?
<i>ASCT2</i> (?)	?	?	?
<i>NCKX1</i> , <i>SLC24A1</i> (15q22)	?	?	?

[4]. Le dimère $\alpha 1\beta 1$ pourrait également avoir un rôle dans le développement du syndrome néphrotique caractérisé en particulier par une rétention de Na^+ [5]. Dans le cerveau ou les muscles squelettiques, le dimère $\alpha 1\beta 1$ agit sur l'excitabilité cellulaire *via* son action sur les gradients ioniques transmembranaires. Ainsi, une mutation dans le gène $\alpha 1$ a été associée à une réduction de l'activité Na^+, K^+ -ATPase et crée un facteur de risque pour l'apparition d'une neuropathie diabétique du système nerveux périphérique [6]. Dans les vaisseaux sanguins, $\alpha 1\beta 1$ est directement impliquée dans les mécanismes de relaxation en contrôlant la concentration extracellulaire de K^+ entre les cellules endothéliales et musculaires lisses de la paroi.

Les sous-unités $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 2$ (gène *ATP1A2*), $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 3$ (*ATP1A3*) et $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 4$ (*ATP1A2*) ont des profils d'expression beaucoup plus restreints que la sous-unité $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 1$ et leurs rôles physiologiques sont probablement plus spécifiques. $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 3$ est essentiellement présente dans le système nerveux, $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 4$ s'exprime spécifiquement dans les testicules, tandis que $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 2$ est retrouvée dans les muscles squelettiques, le cœur et le cerveau. Les sous-unités $\beta 2$ (*ATP1B2*) et $\beta 3$ (*ATP1B3*) sont elles aussi exprimées dans un nombre restreint de tissus. $\beta 2$ est surtout présente dans le tissu nerveux et les muscles squelettiques, et $\beta 3$ dans les testicules, le foie et les poumons. Toutes les sous-unités sont capables de former des dimères $\alpha\beta$. L'existence et la signification physiologique de ces dimères sont néanmoins difficiles à démontrer *in vivo* et dans la suite de cette revue, nous ne mentionnerons que les sous-unités α à l'origine de l'activité Na^+, K^+ -ATPase. A la différence de $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 1$, l'expression de $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 2$ est altérée dans plusieurs maladies telles que l'hypertension, l'hypertrophie ventriculaire, le diabète sucré, l'hyperthyroïdisme, l'insuffisance rénale et l'hypokaliémie. Chez l'homme, des mutations dans les gènes de $\alpha 2$ et $\beta 1$ ont été associées à des variations de pression sanguine (systolique et diastolique) et de rythme cardiaque au repos ou au cours d'un exercice de faible intensité [7]. Le rôle spécifique de $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 2$ dans le cœur, contrairement

à celui de $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 1$, peut être lié à sa localisation tissulaire particulière et/ou à des différences fonctionnelles. Ainsi, les affinités pour les ions Na^+ et K^+ et pour les glycosides ne sont pas les mêmes entre ces isoformes [8]. Ces différences entre les isoformes α sont également illustrées par l'expression successive des sous-unités $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 3$ et $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 2$ au cours du développement, qui correspond à des changements importants dans les propriétés électrophysiologiques du myocarde [9]. Une démonstration récente a été fournie par l'inactivation du gène de $\alpha 2$ chez la souris qui, bien qu'étant létale à l'état homozygote comme cela est le cas pour le gène $\alpha 1$, provoque à l'état hétérozygote un phénotype cardiaque très différent, avec une hypercontractilité probablement liée à une augmentation du Ca^{2+} intracellulaire [2]. Dans le cerveau, l'expression de la sous-unité $\text{Na}^+, \text{K}^+ \alpha 2$ est induite en cas d'atteinte des astrocytes, et elle est réprimée en cas d'hypokaliémie. La sous-unité $\beta 2$ semble aussi avoir un rôle très important dans le système nerveux, puisque les souris *knock-out* pour le gène de $\beta 2$ présentent initialement des anomalies de la coordination motrice, des tremblements, une paralysie des extrémités, et meurent quelques jours après la naissance. Ce phénotype est causé par une dégénérescence neuronale dans le tronc cérébral, le thalamus, le striatum et la moelle épinière, qui pourrait être due à un déséquilibre osmotique [10].

H^+, K^+ -ATPases

Les gènes *ATP4A* et *ATP4AL1* codent pour les sous-unités αHKg et αHKc , qui échangent les ions K^+ contre des protons. La sous-unité αHKg s'associe spécifiquement avec la sous-unité βHKg (gène *ATP4B*). Le dimère $\alpha\beta\text{HKg}$ est exprimé abondamment dans les cellules pariétales de la glande gastrique où il constitue le mécanisme principal de sécrétion des protons dans la lumière de l'estomac [11]. De nombreuses drogues ayant une activité anti-ulcères par répression de la sécrétion excessive d'acide sont des inhibiteurs spécifiques de $\alpha\beta\text{HKg}$. La sous-unité αHKc semble aussi être exprimée

dans le rein et les vaisseaux sanguins mais son rôle est mal connu dans ces tissus.

La sous-unité αHKc est principalement exprimée dans le côlon et le rein. Cette isoforme semble impliquée dans l'absorption des ions K^+ à partir de la lumière intestinale et de l'urine, en particulier lors d'une déplétion chronique en K^+ dont la conséquence est l'expression de αHKc dans les cellules du tubule collecteur rénal [12]. Le rôle de αHKc dans la réabsorption de K^+ a été directement démontré chez des souris invalidées pour le gène correspondant, puisque ces souris sont en effet plus sensibles à une déplétion en K^+ que les animaux sauvages. Cependant, il faut noter que la majeure part de la perte de K^+ est fécale et non urinaire [13].

Les canaux K^+

Les canaux K^+ permettent la diffusion passive et sélective des ions K^+ à travers la membrane plasmique. Dans des conditions physiologiques, le flux est presque systématiquement dirigé vers l'extérieur et maintient le potentiel électrique de la membrane à une valeur proche de celle du potentiel d'équilibre de l'ion K^+ . Il existe une grande diversité de canaux K^+ qui se distinguent par différents mécanismes de modulation de leur activité. Cette diversité est à l'origine de nombreux rôles physiologiques : contrôle de l'homéostasie du K^+ , du volume cellulaire et de la sécrétion des hormones, contrôle de la forme et de la fréquence des potentiels d'action, de la réponse immunitaire et de la prolifération cellulaire.

Les sous-unités α des canaux K^+

Les canaux K^+ sont des multimères, dont les sous-unités α forment le pore ionique. Malgré l'existence de plus de 60 gènes clonés à ce jour, ces sous-unités α ne forment que trois classes différentes de protéines membranaires (*figure 2*). Elles possèdent toutes au moins un domaine P intervenant dans la formation du filtre de sélectivité du pore. Ce domaine a été conservé au cours de l'évolution, de la bactérie à l'homme, et constitue une signature permettant notamment d'identifier de nouveaux

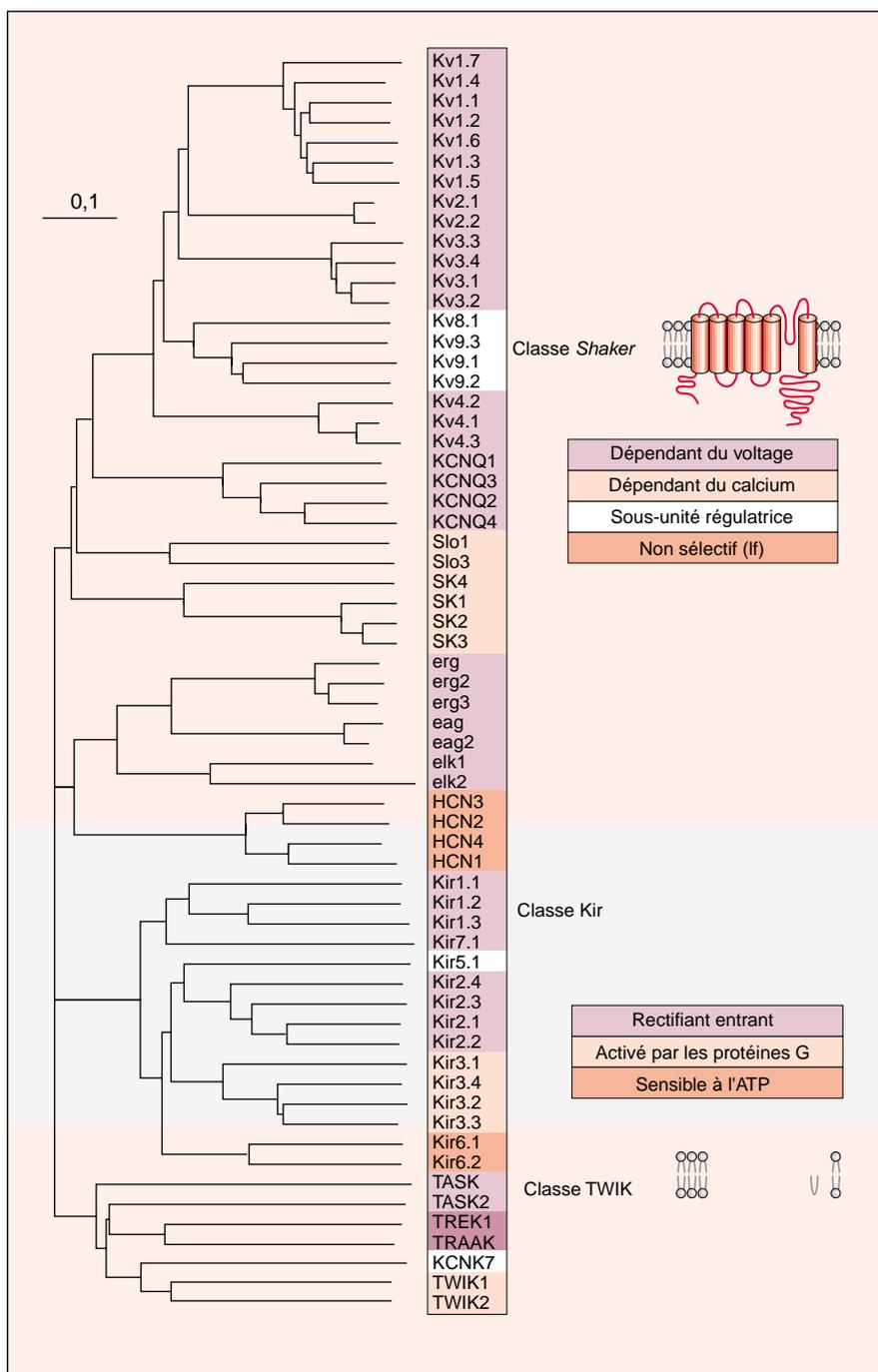


Figure 2. **Diversité des sous-unités α des canaux K^+ .** La comparaison des séquences protéiques et des topologies membranaires a permis de mettre en évidence trois classes de sous-unités α différentes qui forment le pore ionique des canaux K^+ . Les conservations de séquence conduisent habituellement à des propriétés fonctionnelles identiques. À l'exception de Slo1 qui possède un segment transmembranaire additionnel et une extrémité amino-terminale extracellulaire, les extrémités amino- et carboxy-terminales de toutes ces sous-unités sont probablement intracellulaires. Ces domaines cytoplasmiques contiennent de nombreux sites de régulation reconnus par les kinases et les phosphatases. Le dendrogramme a été réalisé en utilisant les programmes ClustaW et Treeview.

canaux K^+ à partir des séquences obtenues par les programmes de séquençage systématique (voir [14] pour revue récente).

La famille *Shaker* contient 43 sous-unités α différentes qui forment des canaux dépendants du voltage, des canaux Ca^{2+} -sensibles et des canaux cationiques activés par hyperpolarisation. Ces polypeptides possèdent une partie centrale hydrophobe à six segments transmembranaires (STM). La famille Kir possède quinze membres formant des canaux K^+ à rectification entrante, des canaux K^+ couplés aux protéines G et des canaux K^+ sensibles à l'ATP. Ces sous-unités possèdent deux STM. La dernière famille TWIK contient sept membres formant des canaux K^+ qui peuvent être dépendants du pH, activés par les acides gras et par le stress mécanique, ou faiblement rectifiant entrants [15]. Ces sous-unités possèdent quatre STM et deux domaines P. Dans le génome du nématode *Caenorhabditis elegans*, plus de 80 gènes codant pour des sous-unités appartenant à ces trois grandes familles ont été identifiés, et plus de la moitié sont de type TWIK. Ces résultats suggèrent que de nombreux membres de cette famille n'ont probablement pas encore été clonés chez les mammifères.

La stoechiométrie des canaux *Shaker* et Kir est α_4 , et la résolution de la structure cristallographique d'un canal K^+ de bactérie a récemment confirmé que quatre domaines P sont nécessaires pour la formation du pore ionique et de son filtre de sélectivité. La multimérisation des sous-unités α est destinée à augmenter la diversité fonctionnelle des canaux K^+ en autorisant l'association de sous-unités dont les séquences sont proches, produisant ainsi des canaux hétéromériques qui présentent des propriétés nouvelles. Pour les canaux TWIK, la stoechiométrie attendue est α_2 , puisque chaque sous-unité présente deux domaines P. L'hétéromérisation n'a pas été mise en évidence entre les membres de cette famille.

Les sous-unités auxiliaires des canaux K^+

Outre les sous-unités α , d'autres polypeptides interviennent dans la forma-

tion des canaux K^+ (figure 3). En effet, trois sous-unités $Kv\beta$ homologues sont capables de s'associer avec les sous-unités $Kv1.1$ à $Kv1.7$ et $Kv2.2$ avec une stœchiométrie $\alpha 4\beta 4$. Les effets principaux de ces sous-unités cytoplasmiques sont une accélération des cinétiques d'inactivation des courants et une augmentation du taux d'expression à la membrane par un effet de type « chaperon ». Les autres sous-unités auxiliaires ont des topologies membranaires variées. IsK est une sous-unité membranaire à un STM qui s'associe à $KCNQ1$, provoquant une diminution considérable des cinétiques d'activation du courant [16]. La sous-unité $Kca\beta$ possède deux STM et s'associe avec $Slo1$ pour former le canal K^+ sensible au Ca^{2+} de grande conductance (IBK). L'association de $Kca\beta$ avec $Slo1$ entraîne des modifications des propriétés électrophysiologiques et pharmacologiques. Le dernier exemple de sous-unités auxiliaires est celui des canaux K^+ sensibles à l'ATP. Ces canaux sont actifs sous forme d'un octamère composé de quatre $Kir6$ et de quatre sous-unités SUR. Ces sous-unités appartiennent à la classe des transporteurs ABC. Elles sont

nécessaires à l'adressage du canal à la membrane et lui confèrent sa sensibilité aux sulfonyles.

Les canaux K^+ et les maladies génétiques

Une telle variété de canaux rend particulièrement difficile l'identification du ou des rôles physiologiques de chacun d'entre eux. L'expression hétérologue des canaux est une approche de choix pour déterminer leurs propriétés. Toutefois, cette méthode est insuffisante pour corréler les effets obtenus avec des canaux ainsi exprimés et ceux des canaux natifs, puisque dans ces systèmes d'expression, la diversité génétique et l'environnement cellulaire corrects ne sont pas reproduits. Les mutations spontanées ou créées volontairement dans les gènes des canaux K^+ fournissent des modèles permettant d'évaluer leur rôle et leur importance physiopathologique *in vivo*. Le *Tableau II* fournit une liste des gènes associés aux maladies humaines et le *Tableau III* résume les modèles animaux actuellement disponibles.

Syndromes cardiaques du QT1 long (LQT), arythmies et surdités

Les complexes $KCNH2/KCNE2$ et $KCNQ1/KCNE1$ sont responsables respectivement des courants cardiaques IKr et IKs . Chez l'homme, des mutations dans les quatre gènes correspondants sont associées à des repolarisations ventriculaires anormalement longues (LQT) et à un risque élevé d'arythmies pouvant conduire à la mort subite. De plus, il apparaît aujourd'hui que nombre de drogues cardiaques et non cardiaques provoquant des arythmies (LQT acquis) sont des agents bloquants de IKr . Il semble aussi que certaines mutations silencieuses dans $KCNH2$ et $KCNQ1$ soient des facteurs de prédispositions aux LQT acquis. Des mutations dans les gènes $KCNQ1$ et $KCNE1$ sont également impliquées dans un syndrome cardio-auditif congénital, le syndrome de Jervell Lange Nielsen, ou JLN. En effet, le même courant IKs , qui module la vitesse de repolarisation des cardiomyocytes, est présent dans l'oreille interne où il intervient dans le transport du K^+ dans l'endolymphe. Une souris représentant un modèle du syndrome JLN a été créée par inactivation du gène $KCNE1$. Ce modèle a permis d'élucider le mécanisme de la perte de l'audition mais également le rôle de IKs dans l'adaptation du cœur aux variations de rythme. D'autres modèles de souris ont été créés pour explorer les rôles spécifiques des canaux K^+ dans le cœur, fondés sur la surexpression de sous-unités dominantes inactives et/ou une inactivation génique (voir *Tableau III*), mais ne seront pas détaillés plus avant. Récemment, un nouveau gène, $KCNQ4$, a été identifié par une approche de recherche systématique des gènes homologues à $KCNQ1$. Des mutations dans ce gène sont associées à une surdité congénitale, DFNA2. Dans ce cas, le mécanisme à l'origine de la perte de l'audition n'a pas été identifié mais il est clairement différent de celui du syndrome de JLN car le gène $KCNQ4$ est exprimé dans les cellules neurosensorielles de l'oreille et non dans les cellules épithéliales comme cela est le cas pour $KCNQ1$.

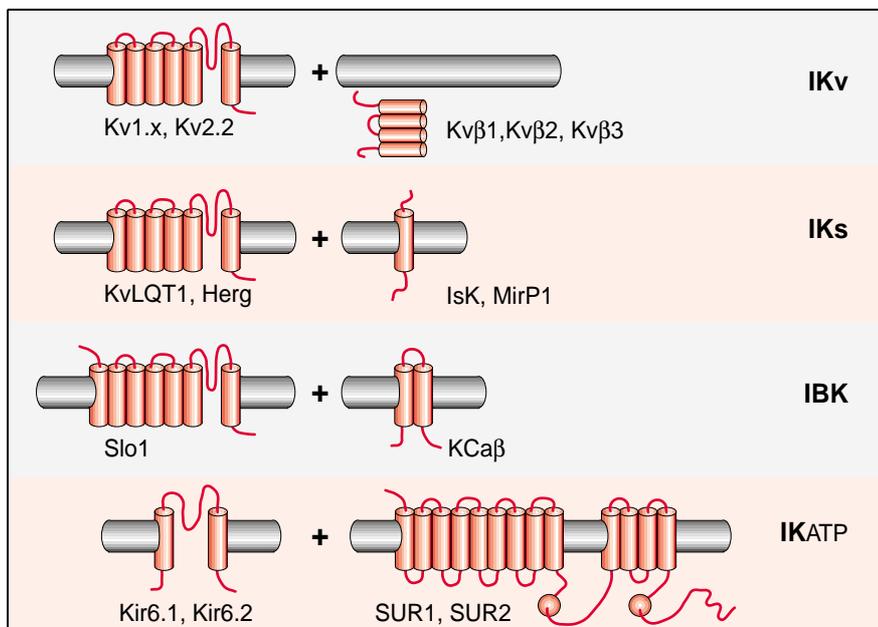


Figure 3. **Sous-unités auxiliaires des canaux K^+ .** L'association des sous-unités auxiliaires aux sous-unités α formant le pore facilite l'expression des canaux à la surface de la membrane cellulaire et/ou modifie les propriétés biophysiques et pharmacologiques des canaux K^+ .

Tableau II				
« CANALOPATHIES POTASSIQUES » HUMAINES				
Maladie	Gène (Localisation chromosomique)	Protéine	Rôle physiologique	Réf.
Arythmies cardiaques (Long QT2, RW* syndrome)	<i>KCNH2</i> (7q35-36)c	Herg	voltage dépendant (I_{Kr})	[27]
Arythmies cardiaques (Long QT1, RW* syndrome)	<i>KCNQ1</i> (11p15.5)	KCNQ1 (KvLQT1)	voltage dépendant (I_{Ks})	[28]
Arythmies cardiaques et surdité (JLN** syndrome)	<i>KCNQ1</i> (11p15.5)	KCNQ1 (KvLQT1)	voltage dépendant (I_{Ks})	[29]
Arythmies cardiaques et surdité (JLN** syndrome)	<i>KCNE1</i> (21q22.1)	IsK, minK ⁺	voltage dépendant (I_{Ks}) sous-unité régulatrice	[30]
Arythmies cardiaques	<i>KCNE2</i> (21q22.1)	MiRP1	voltage dépendant (I_{Kr}) sous-unité régulatrice	[31]
Surdité dominante (DFNA2)	<i>KCNQ4</i> (1p34)	KCNQ4	voltage dépendant	[32]
Epilepsie idiopathique généralisée (BFNC***1)	<i>KCNQ2</i> (20q13.3)	KCNQ2	voltage dépendant (I_{KM})	[33]
Epilepsie idiopathique généralisée (BFNC***2)	<i>KCNQ3</i> (8q24)	KCNQ3	voltage dépendant (I_{KM})	[34]
Ataxie épisodes (myokymia syndrome)	<i>KCNA1</i> (12p13)	Kv1.1	voltage dépendant (type Shaker)	[35]
Hyperinsulin�mie hypoglycémiant infantile	<i>KCNJ11</i> (11p15.1)	Kir6.2	ATP dépendant (I_{KATP})	[36]
Hyperinsulin�mie hypoglycémiant infantile	<i>SUR1</i> (11p15.1)	SUR1	récepteur sulfonyleur�es (sous-unité I_{KATP})	[37]
Alcalose hypokaliémique, hypotension (Syndrome de Bartter)	<i>KCNJ1</i> (11q24)	ROMK1 (Kir1.1)	rectifiant entrant	[38]

* RW syndrome: syndrome de Romano-Ward. ** JLN: Jerwell et Lange-Nielsen. *** BFNC: benign familial neonatal convulsions.

Hyperexcitabilité neuronale et dégénérescence

Les gènes *KCNQ2* et *KCNQ3* ont été identifiés par clonage positionnel. Des mutations dans chacun de ces gènes provoquent la même forme légère d'épilepsie chez le nouveau-n . La co-expression de *KCNQ2* et de *KCNQ3* induit un courant ayant les mêmes propriétés que le courant de type M, établissant ainsi un nouveau lien entre un courant potassium connu et un rôle physiologique. L'ataxie épisodes avec myokymie représente une autre maladie neuromusculaire humaine liée à des mutations dans le gène d'un canal K⁺, *KCNA1* (*Kv1.1*). Les souris *knock-out* pour ce gène présentent un phéno-type épileptique diff rent de celui observé dans la maladie humaine, soulignant la complexité de l'activité électrique du cerveau et la difficulté de l'utilisation des modèles animaux dans ce domaine. La souris *weaver* est un modèle animal de la neurodégénérescence des cellules dopaminer-

giques du striatum, rappelant la maladie de Parkinson, et des cellules granulaires du cervelet. Le gène murin muté dans ce cas est *KCNJ6* (*Kir3.2*) mais il n'a pas été possible de démontrer un lien entre celui-ci et la maladie de Parkinson chez l'homme.

Hyperinsulin mie hypoglycémiant

Dans les cellules à du pancréas, les canaux sensibles à l'ATP (K⁺ATP) sont impliqués dans la sécrétion de l'insuline. Lorsque le *ratio* ATP/ADP intracellulaire augmente grâce au métabolisme du glucose, les K⁺ATP se ferment, provoquant une dépolarisation, l'entrée de Ca²⁺ et l'exocytose de l'insuline. Des mutations dans chacun des gènes qui codent pour les constituants de ces canaux (*KCNJ11* et *SUR1*) conduisent à une hyperinsulinémie persistante, associée à une hypoglycémie sévère. Le diabète non insulino-dépendant est une maladie commune qui se caractérise notamment par une sécrétion d'insuline qui n'est plus dépendante du glucose cir-

culant. Cependant, aucun lien génétique n'a pu être établi entre la maladie et des mutations des gènes *KCNJ11* et *SUR1*. Certaines études ont suggéré qu'il existe une voie de régulation de la sécrétion de l'insuline indépendante du tandem glucose/K⁺ATP. Cette hypothèse semble être exclue puisque chez les souris *knock-out* pour *KCNJ11*, l'augmentation de glucose ne stimule plus la sécrétion d'insuline.

Syndrome rénal de Bartter

La sécrétion de K⁺ *via* le produit du gène *Kir1.1* au niveau de la branche ascendante de l'anse de Henlé est essentielle pour le fonctionnement du co-transporteur Na⁺,K⁺,2Cl⁻ et pour la réabsorption du Na⁺. Chez l'homme, des mutations dans le gène *KCNJ1* (*Kir1.1*) humain sont en effet impliquées dans le syndrome de Bartter, qui associe perte de NaCl et alcalose hypokaliémique. Sur la base de ces données génétiques, *Kir1.1* pourrait devenir la cible de futures drogues diurétiques.

Les transporteurs K⁺

Les co-transporteurs cation-chlorure

Les co-transporteurs cation-chlorure ont été identifiés dans de nombreux tissus, et forment une famille multigénique composée de deux sous-classes : les transporteurs dépendants du Na⁺ (BSC1 et BSC2) et les transporteurs indépendants du Na⁺ (KCC1, KCC2 et KCC3) (figure 4). Chaque transporteur contient douze STM potentiels et une large boucle extracellulaire située entre les STM 7 et 8 pour les BSC et entre les STM 5 et 6 pour les KCC.

BSC1 (ou NKCC2, SLC12A1) n'est présent que dans le rein au niveau de la branche ascendante de l'anse de Henlé. L'activité de BSC1 correspond à un co-transport Na⁺,K⁺,2Cl⁻ sensible aux diurétiques de l'anse (furosémide, bumétanide) essentiel pour le mécanisme de concentration des urines. L'intensité de ce transport est contrôlée par le taux de phosphorylation de BSC1, dépendant en particulier des stimulations hormonales qui agissent *via* l'AMPc. Des mutations dans le gène *BSC1* sont associées au syndrome de Bartter, précédemment cité [17] (voir *Tableau 1*). BSC2 (ou NKCC1, SLC12A2) est un autre co-transporteur Na⁺,K⁺,2Cl⁻ dont la distribution tissulaire est très large. Dans le système nerveux, il est impliqué dans la production du fluide cérébrospinal et dans le contrôle de la concentration extracellulaire de K⁺. Par ailleurs, l'activité électrique des neurones, *via* le récepteur GABA, est très dépendante de la concentration

intracellulaire en Cl⁻ et celle-ci est en grande partie déterminée par l'entrée des ions Cl⁻ *via* BSC2 et par leur sortie *via* un co-transport de K⁺,Cl⁻ indépendant du Na⁺. Une expression réduite de BSC2 durant les premières semaines de la vie pourrait ainsi expliquer le passage de la réponse dépolarisante à la réponse hyperpolarisante des neurones au GABA [18]. De la même manière, une expression insuffisante de BSC2 pourrait être impliquée dans certaines épilepsies [19]. En raison de sa distribution tissulaire, d'autres rôles ont été proposés pour BSC2. Certains de ceux-ci ont été confirmés par l'étude des souris *knock-out* pour le gène *BSC2*. Les animaux présentent en particulier une hypotension qui pourrait résulter d'une sécrétion diminuée de rénine et/ou d'un tonus vasculaire réduit. Ces souris sont également sourdes, probablement en raison d'un déficit de sécrétion du K⁺ dans l'endolymphe par les cellules de la strie marginale, comme cela est le cas dans le modèle d'inactivation du gène *KCNE1* [20].

Les transporteurs KCC sont responsables d'un co-transport K⁺,Cl⁻ indépendant du Na. Ils ne sont que faiblement sensibles aux diurétiques et leur activité est associée à une sortie d'ions K⁺ et Cl⁻ dans un grand nombre de types cellulaires. KCC1 est ubiquitaire et peut avoir un rôle dans le transport transépithélial des ions K⁺ et Cl⁻, la modulation des réponses cellulaires qui affectent la conductance au Cl⁻, le contrôle du tonus vasculaire et du volume cellulaire. K⁺CC2 est exprimé spécifiquement dans le système nerveux et

n'est pas activé par un gonflement cellulaire, à l'inverse de KCC1. Dans les neurones, il agirait sur la concentration extracellulaire de K⁺ et maintiendrait le Cl⁻ intracellulaire à une faible concentration. KCC2 pourrait même être le principal système d'extrusion du Cl⁻ dans le cerveau adulte. En effet, dans les neurones pyramidaux de l'hippocampe, le changement de la réponse cellulaire au GABA après la naissance, qui correspond au passage d'un effet dépolarisant à un effet hyperpolarisant, a été associé à l'induction de l'expression de KCC2 [21]. L'expression de KCC3 est limitée à quelques tissus tels que le rein, le cœur, le muscle et le cerveau, et KCC3 n'est pas sensible aux changements osmotiques, comme cela est le cas pour KCC2. Dans les vaisseaux sanguins, KCC3 pourrait agir sur la concentration locale de K⁺ entre les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales, et donc sur le tonus vasculaire. Par ailleurs, la régulation de l'expression de KCC3 par le facteur de croissance endothélial pourrait indiquer un rôle potentiel dans l'angiogenèse. En l'absence de modèles animaux et de maladies génétiques identifiées, les rôles spécifiques des transporteurs KCC restent à démontrer.

Les transporteurs du glutamate et des acides aminés neutres

Ces transporteurs sont responsables de l'import actif de certains acides aminés dans les cellules, grâce aux gradients transmembranaires de Na⁺ et de K⁺. L'un de ces acides aminés, le glutamate, joue un rôle majeur dans le métabolisme cellulaire de l'azote et dans la transmission synaptique rapide excitatrice au niveau du système nerveux central. Cinq gènes au minimum codent pour des transporteurs impliqués dans le transport du glutamate (*EAAT1* à *EAAT5*) à travers les épithéliums rénal et intestinal et dans son captage par les neurones à partir des espaces synaptiques. Ces transporteurs possèdent dix STM potentiels. Le transport est électrogénique avec une stœchiométrie de deux ou trois ions Na⁺ échangés contre un ion K⁺ et une molécule de glutamate portant un proton. L'utilisation des gradients électrochimiques de Na⁺ et de K⁺ permet de concentrer

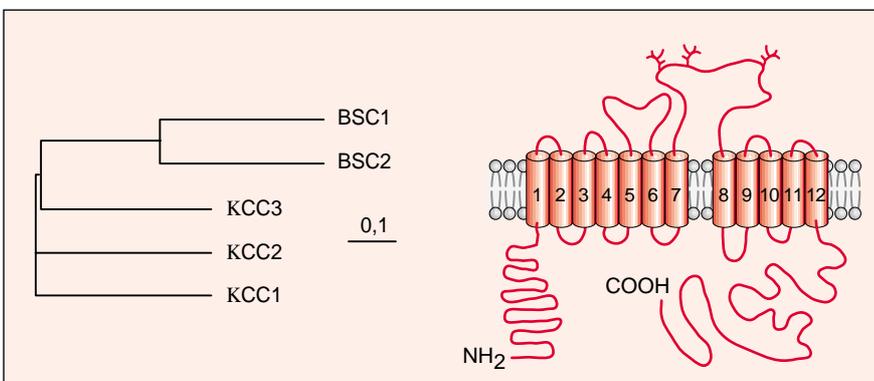


Figure 4. **Diversité et topologie membranaire des transporteurs cation-chlorure.**

Tableau III
 MODÈLES MURINS DE « CANALOPATHIES POTASSIQUES »

Gène	Modification génétique	Protéine Rôle	Phénotype	Réf.
<i>K⁺cna1</i>	Knock out Rectifiant retardé ³	Kv1.1	Épilepsie	[39]
<i>K⁺cna4</i>	Knock out	Kv1.4		[40]
<i>K⁺cnax</i>	Dominant-négatif Surexpression cœur	Transitoire sortant Kv1.x Sortant soutenu (I_{Kur})	Pas de phénotype évident QT prolongé avec arythmies	[41]
<i>K⁺cnc1</i>	Knock out	Kv3.1 Rectifiant retardé	Problèmes moteurs, contraction musculaire	[42]
<i>K⁺cndx</i>	Dominant-négatif Surexpression cœur	Kv4.x Transitoire sortant (I_{to})	QT prolongé sans arythmies	[43]
<i>K⁺cne1</i>	Knock out	IsK, minK Sous-unité régulatrice I_{ks}	Surdité et défaut d'adaptation du QT à la fréquence cardiaque	[44]
<i>K⁺cnj5</i>	Knock out	Kir3.4 (GIRK4) Rectifiant entrant prot.G-act.	Problème de régulation de la fréquence cardiaque	[45]
<i>K⁺cnj6</i>	Knock out	Kir3.2 (GIRK2) Rectifiant entrant prot.G-act.	Développement cérébelleux normal Susceptibilité aux crises épileptiques	[46] [47]
<i>K⁺cnj6</i> (weaver)	Mutation ponctuelle	Kir3.2 (GIRK2) Rectifiant entrant prot.G-act. dans la substance noire	Dégénérescence des cellules granulaires du cervelet et des neurones dopaminergiques	
<i>K⁺cnj11</i>	Knock out	Kir6.2	Défaut de sécrétion d'insuline sans anomalie de la glycémie	[48]
<i>K⁺cnj11</i>	Dominant-négatif Surexpression pancréas	I_{KATP} Kir6.2 I_{KATP}	Défaut de sécrétion d'insuline avec hypoglycémie marquée	[49]

le glutamate plus de 10 000 fois dans le compartiment intracellulaire, et assure le maintien d'une concentration extracellulaire en glutamate très basse dans le système nerveux central. Toutes les isoformes EAAT sont exprimées dans les neurones et les cellules gliales. Il n'est donc pas surprenant que l'inactivation des gènes *EAAT2* et *EAAT1* provoque des épilepsies [22, 23]. *EAAT3* est aussi exprimé dans le tubule rénal proximal et dans la partie distale de l'intestin grêle où il est impliqué dans la réabsorption du glutamate. En effet, chez la souris, une aminoacidurie dicarboxylique se développe en l'absence du transporteur [24]. *ASCT2* représente un autre membre de cette famille multigénique. Ce gène code pour un transporteur électro-neutre qui utilise les gradients Na^+ et K^+ pour le transport d'acides aminés neutres comme l'alanine, la sérine et la cystéine. *ASCT2* est exprimé dans les poumons, le gros intestin, le rein et le muscle squelet-

tique où il est probablement impliqué dans le métabolisme et la nutrition cellulaire [25].

Les échangeurs $Na^+Ca^{2+}K^+$

Un minimum de deux gènes codent pour des échangeurs (*NCKX1* et *NCKX2*) qui couplent la sortie active d'un ion Ca^{2+} à l'entrée de 4 ions Na^+ et à la sortie d'un ion K^+ [26]. Ces échangeurs sont particulièrement exprimés dans le système nerveux central où ils participent au maintien des concentrations adéquates de Ca^{2+} dans les neurones, aussi bien au repos qu'en activité. Par ailleurs, *NCKX1* est très important pour la transmission du signal visuel dans les photorécepteurs de la rétine, où il contrebalance l'entrée du Ca^{2+} à travers les canaux sensibles au GMPc et à la lumière.

Conclusions

L'homéostasie du K^+ est un facteur essentiel pour le maintien de nom-

breuses fonctions vitales. Au cours de ces dix dernières années, le clonage moléculaire d'un nombre considérable d'ATPases, de canaux et de transporteurs du K^+ a révélé la complexité structurale qui sous-tend cette homéostasie. Outre leur caractérisation fonctionnelle et leur distribution tissulaire, il est maintenant possible, grâce aux techniques de recombinaison homologe, d'étudier les rôles physiologiques et pathologiques de ces protéines *in vivo*. L'ensemble des données déjà recueillies montre que les différents ATPases, canaux et transporteurs de K^+ participent souvent aux mêmes processus cellulaires ou physiologiques, et qu'il est difficile d'établir précisément leurs rôles individuels. L'identification d'un nombre croissant de maladies héréditaires liées à ces protéines permet toutefois de mieux préciser ces différents rôles et d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques ■

RÉFÉRENCES

1. Thuringer D, Cavero I. Les canaux potassiques inhibés par l'ATP cellulaire: une aventure physiologique à suspense moléculaire. *Med Sci* 1997; 13: 1049-52.
2. James PF, Grupp IL, Grupp G, *et al.* Identification of a specific role for the Na⁺/K⁺-ATPase alpha 2 isoform as a regulator of calcium in the heart. *Mol Cell* 1999; 3: 555-63.
3. Herrera VL, Xie HX, Lopez LV, Schork NJ, Ruiz-Opazo N. The alpha1 Na⁺/K⁺-ATPase gene is a susceptibility hypertension gene in the Dahl salt-sensitive HSD rat. *J Clin Invest* 1998; 102: 1102-11.
4. Manunta P, Burnier M, D'Amico M, *et al.* Adducin polymorphism affects renal proximal tubule reabsorption in hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 694-7.
5. Feraille E. Role of tubular Na⁺/K⁺-ATPase in nephrotic syndrome induced by puromycin in the rat. *Nephrologie* 1994; 15: 301-5.
6. Vague P, Dufayet D, Coste T, *et al.* Association of diabetic neuropathy with Na⁺/K⁺-ATPase gene polymorphism. *Diabetologia* 1997; 40: 506-11.
7. Rankinen T, Perusse L, Deriaz O, *et al.* Linkage of the Na⁺/K⁺-ATPase alpha 2 and beta 1 genes with resting and exercise heart rate and blood pressure: cross-sectional and longitudinal observations from the Quebec Family Study. *J Hypertens* 1999; 17: 339-49.
8. Blanco G, Mercer RW. Isozymes of the Na⁺/K⁺-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. *Am J Physiol* 1998; 275: F633-50.
9. Lucchesi PA, Sweadner KJ. Postnatal changes in Na⁺/K⁺-ATPase isoform expression in rat cardiac ventricle. Conservation of biphasic ouabain affinity. *J Biol Chem* 1991; 266: 9327-31.
10. Magyar JP, Bartsch U, Wang ZQ, *et al.* Degeneration of neural cells in the central nervous system of mice deficient in the gene for the adhesion molecule on Glia, the beta 2 subunit of murine Na⁺/K⁺-ATPase. *J Cell Biol* 1994; 127: 835-45.
11. Hersey SJ, Sachs G. Gastric acid secretion. *Physiol Rev* 1995; 75: 155-89.
12. DuBose TD Jr, Codina J, Burges A, Pressley TA. Regulation of H⁺/K⁺-ATPase expression in kidney. *Am J Physiol* 1995; 269: F500-7.
13. Meneton P, Schultheis PJ, Greeb J, *et al.* Increased sensitivity to K⁺ deprivation in colonic H⁺/K⁺-ATPase-deficient mice. *J Clin Invest* 1998; 101: 536-42.
14. Coetzee WA, Amarillo Y, Chiu J, *et al.* Molecular diversity of K⁺ channels. In: Rudy B, Seeburg P, ed. Molecular and functional diversity of ion channels and receptors. New York: New York Academy of Sciences 1999: 233-83.
15. Lesage F, Lazdunski M. Potassium channels with two P-domains. In: Kurachi Y, Jan LY, Lazdunski M, ed. Potassium ion channels. Molecular structure, function, and diseases - current topics in membranes. San Diego, CA: Academic Press, 1999: 199-222.
16. Guicheney P, Barhanin J, Le Marec H. Bases moléculaires des arythmies héréditaires. *Med Sci* 1998; 14: 1036-44.
17. Vargas-Poussou R, Feldmann D, Vollmer M, *et al.* Novel molecular variants of the Na⁺/K⁺-2Cl cotransporter gene are responsible for antenatal Bartter syndrome. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1332-40.
18. Plotkin MD, Snyder EY, Hebert SC, Delpire E. Expression of the Na⁺/K⁺-2Cl cotransporter is developmentally regulated in postnatal rat brains: a possible mechanism underlying GABA's excitatory role in immature brain. *J Neurobiol* 1997; 33: 781-95.
19. Hochman DW, Baraban SC, Owens JW, Schwartzkroin PA. Dissociation of synchronization and excitability in furosemide blockade of epileptiform activity. *Science* 1995; 270: 99-102.
20. Delpire E, Lu J, England R, Dull C, Thorne T. Deafness and imbalance associated with inactivation of the secretory Na⁺/K⁺-2Cl cotransporter. *Nature Genet* 1999; 22: 192-5.
21. Rivera C, Voipio J, Payne JA, *et al.* The K⁺/Cl⁻ co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature* 1999; 397: 251-5.
22. Tanaka K, Watase K, Manabe T, *et al.* Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1. *Science* 1997; 276: 1699-702.
23. Watase K, Hashimoto K, Kano M, *et al.* Motor discoordination and increased susceptibility to cerebellar injury in GLAST mutant mice. *Eur J Neurosci* 1998; 10: 976-88.
24. Peghini P, Janzen J, Stoffel W. Glutamate transporter EAAC-1-deficient mice develop dicarboxylic aminoaciduria and behavioral abnormalities but no neurodegeneration. *EMBO J* 1997; 16: 3822-32.
25. Utsunomiya-Tate N, Endou H, Kanai Y. Cloning and functional characterization of a system ASC-like Na⁺-dependent neutral amino acid transporter. *J Biol Chem* 1996; 271: 14883-90.
26. Blaustein MP, Lederer WJ. Sodium/calcium exchange: its physiological implications. *Physiol Rev* 1999; 79: 763-854.
27. Curran ME, Splawski I, Timothy KW, *et al.* A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell* 1995; 80: 795-803.
28. Wang Q, Curran ME, Splawski I, *et al.* Positional cloning of a novel potassium channel gene: *KVLQT1* mutations cause cardiac arrhythmias. *Nature Genet* 1996; 12: 17-23.
29. Neyroud N, Tesson F, Denjoy I, *et al.* A novel mutation in the potassium channel gene *KVLQT1* causes the Jervell and Lange-Nielsen cardioauditory syndrome. *Nat Genet* 1997; 15: 186-9.
30. Tyson J, Tranebjerg L, Bellman S, *et al.* Isk and *KVLQT1*: mutation in either of the two subunits of the slow component of the delayed rectifier potassium channel can cause Jervell and Lange-Nielsen syndrome. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 2179-85.
31. Abbott GW, Sesti F, Splawski I, *et al.* MiRP1 forms Ikr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia. *Cell* 1999; 97: 175-87.
32. Kubisch C, Schroeder BC, Friedrich T, *et al.* *KCNQ4*, a novel potassium channel expressed in sensory outer hair cells, is mutated in dominant deafness. *Cell* 1999; 96: 437-46.
33. Singh NA, Charlier C, Stauffer D, *et al.* A novel potassium channel gene, *K^vCNQ2*, is mutated in an inherited epilepsy of newborns. *Nat Genet* 1998; 18: 25-9.
34. Charlier C, Singh NA, Ryan SG, *et al.* A pore mutation in a novel *KQT*-like potassium channel gene in an idiopathic epilepsy family. *Nat Genet* 1998; 18: 53-5.
35. Browne DL, Gancher ST, Nutt TG, *et al.* Episodic ataxia/myokymia syndrome is associated with point mutations in the human potassium channel gene, *K^vCNA1*. *Nat Genet* 1994; 8: 136-40.
36. Thomas P, Ye YY, Lightner E. Mutation of the pancreatic islet inward rectifier *Kir6.2* also leads to familial persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1809-12.
37. Thomas PM, Cote GJ, Wohllk N, *et al.* Mutations in the sulfonylurea receptor gene in familial persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy. *Science* 1995; 268: 426-9.
38. Simon DB, Karet FE, Rodriguezsoriano J, *et al.* Genetic heterogeneity of Bartter's syndrome revealed by mutations in the K⁺ channel, *ROMK*. *Nat Genet* 1996; 14: 152-6.
39. Smart SL, Lopantsev V, Zhang CL, *et al.* Deletion of the *Kv1.1* potassium channel causes epilepsy in mice. *Neuron* 1998; 20: 809-19.
40. London B, Wang DW, Hill JA, Bennett PB. The transient outward current in mice lacking the potassium channel gene *Kv1.4*. *J Physiol (Lond)* 1998; 509: 171-82.
41. London B, Jeron A, Zhou J, *et al.* Long QT and ventricular arrhythmias in transgenic mice expressing the N terminus and first transmembrane segment of a voltage-gated potassium channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 2926-31.
42. Ho CS, Grange RW, Joho RH. Pleiotropic effects of a disrupted K⁺ channel gene: Reduced body weight, impaired motor skill and muscle contraction, but no seizures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 1533-8.

RÉFÉRENCES

43. Barry DM, Xu HD, Schuessler RB, Nerbonne JM. Functional *knock out* of the transient outward current, long-QT syndrome, and cardiac remodeling in mice expressing a dominant-negative Kv4 α subunit. *Circ Res* 1998; 83: 560-7.
44. Vetter DE, Mann JR, Wangemann P, *et al.* Inner ear defects induced by null mutation of the *IsK* gene. *Neuron* 1996; 17: 1251-64.
45. Wickman K, Nemej J, Gendler SJ, Clapham DE. Abnormal heart rate regulation in GIRK4 *knock out* mice. *Neuron* 1998; 20: 103-14.
46. Signorini S, Liao YJ, Duncan SA, Jan LY, Stoffel M. Normal cerebellar development but susceptibility to seizures in mice lacking G protein-coupled, inwardly rectifying K⁺ channel GIRK2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 923-7.
47. Patil N, Cox DR, Bhat D, *et al.* A potassium channel mutation in *weaver* mice implicates membrane excitability in granule cell differentiation. *Nature Genet* 1995; 11: 126-9.
48. Miki T, Nagashima K, Tashiro F, *et al.* Defective insulin secretion and enhanced insulin action in K⁺-ATP channel-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 10402-6.
49. Miki T, Tashiro F, Iwanaga T, *et al.* Abnormalities of pancreatic islets by targeted expression of a dominant-negative K⁺-ATP channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 11969-73.

TIRÉS À PART

J. Barhanin.

Summary

Potassium transport: molecular and pathological aspects

Potassium (K⁺) is the most abundant cation in almost every cell. K⁺ homeostasis requires ATPases, transporters, and selective channels which can transport K⁺. The intracellular accumulation of K⁺ ions is an active process essentially mediated by P-type ATPases, which convert energy from ATP hydrolysis into a K⁺ electrochemical gradient. The entry of K⁺ is also mediated by transporters using the inwardly directed Na⁺ electrochemical gradient. The K⁺ gradient allows the exit of ions outside the cells through other K⁺ transporters, which also transport various ions or molecules such as chloride, neurotransmitters or amino acids. Exit can also occur through a large variety of K⁺ channels which maintain the resting membrane potential and control cell excitability. This review briefly describes the gene families encoding K⁺-ATPases, channels and transporters. Various mutations in these genes have been associated with human diseases. Animal models harboring specific gene deletions are now being established and should allow a better understanding of the functions of these genes.