

UNIVERSITE DE LIEGE
FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE MEDECINE
SERVICE DE NEPHROLOGIE

Professeur G. RORIVE

**ETUDE CRITIQUE
DU ROLE DU SODIUM
DANS L'HYPERTENSION ARTERIELLE**

Jean-Marie KRZESINSKI

Docteur en Médecine
Docteur en Sciences cliniques

*Mémoire présenté en vue de
l'obtention du grade d'Agrégé
de l'Enseignement Supérieur*

1993



UNIVERSITE DE LIEGE

FACULTE DE MEDECINE

Le présent mémoire peut être livré à l'impression

Liège, le 20 avril 1993

Le Secrétaire de la Faculté,
(s) M. LAMY

Le Doyen de la Faculté de Médecine,
(s) H. KULBERTUS

Le Secrétaire du Jury,
(s) A. ALBERT

Article 6 de l'Arrêté Royal du 10 mai 1931 appliquant la loi du 21 mai 1929 sur la collation des grades académiques et le programme des examens universitaires :

"En aucun cas, les opinions de l'auteur ne peuvent être considérées, par le fait de l'autorisation d'impression de la dissertation, comme étant celles du Jury ou de l'Université."

PLAN GENERAL

INTRODUCTION GENERALE

MATERIEL ET METHODES

PREMIERE PARTIE : Anomalies ioniques cellulaires dans l'hypertension artérielle : influence de l'hérédité et de l'environnement

- Chapitre 1 : Anomalies ioniques dans l'hypertension essentielle
- Chapitre 2 : Anomalies ioniques dans l'insuffisance rénale terminale
- Chapitre 3 : Rôle de la membrane et de l'âge cellulaires
- Chapitre 4 : Lien entre sodium, calcium et pH cellulaires
- Chapitre 5 : Influence des médicaments antihypertenseurs
- Chapitre 6 : Rôle des caractéristiques anthropométriques des patients
- Chapitre 7 : Rôle de l'hérédité

Conclusions de la première partie

DEUXIEME PARTIE : Modification de la balance sodée et pression artérielle

- Chapitre 8 : Perte de poids et restriction sodée dans le traitement de l'hypertension artérielle
- Chapitre 9 : Sensibilité de la pression artérielle au sodium

Conclusions de la deuxième partie

TROISIEME PARTIE : "Le digoxin like factor"

- Chapitre 10 : Rôle du plasma sur la Na^+, K^+ -ATPase et le calcium cellulaire
- Chapitre 11 : Effet de stéroïdes sur la Na^+, K^+ -ATPase et le calcium
- Chapitre 12 : Lien entre sodium et calcium au niveau plaquettaire

Conclusions de la troisième partie

DISCUSSION GENERALE

CONCLUSIONS GENERALES ET RESUME

APPENDICE

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
A. Définition et importance du problème	1
B. Etiologie et conception pathogénique	2
B.1. Déterminants du niveau de la pression artérielle	2
B.2. Anomalie hémodynamique responsable de l'élévation de la pression artérielle	3
C. Explication des anomalies fonctionnelles dans l'hypertension	4
C.1. Predisposition génétique à l'hypertension artérielle	4
C.2. Rôle de l'environnement	5
D. Place du sodium alimentaire	6
D.1. Les études épidémiologiques	6
D.2. L'expérimentation animale	7
D.3. La clinique	7
E. Mécanismes hypertenseurs possibles du sodium alimentaire	8
E.1. La théorie de l'auto-régulation	8
E.2. La réactivité accrue des récepteurs aux agents vasoconstricteurs	8
E.3. Le contenu accru en sodium au niveau des artères	9
E.3.a. Anomalie membranaire héritée	9
E.3.b. Anomalie membranaire acquise	9
F. Sensibilité de la pression artérielle au sodium alimentaire	11
G. Etat de la question sur les anomalies cellulaires du sodium dans l'hypertension et résumé de nos travaux antérieurs	12
G.1. Systèmes de transport du sodium vers l'extérieur de la cellule	12
G.1.a. La pompe $\text{Na}^+\text{-K}^+$ sensible à l'ouabaine	19
G.1.b. Le cotransport $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$	13
G.2. Mécanismes d'entrée de sodium dans la cellule	13
G.2.a. La perméabilité passive	13
G.2.b. L'échange $\text{Na}^+\text{-H}^+$	13
G.2.c. Les échanges $\text{HCO}_3^-\text{-Cl}^-$	13
G.2.d. L'échange $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$	15
G.3. Anomalies cellulaires du sodium dans l'hypertension	15
G.4. Résultats personnels	16
H. Objets de nos recherches actuelles	18

MATERIEL ET METHODES	23
Méthodes	
A. Méthodes d'étude de la composition et des flux ioniques au niveau des globules rouges	25
A.1. Détermination des concentrations intracellulaires en sodium, en potassium, en calcium et en magnésium	25
A.2. Détermination du cotransport de sodium et de potassium sensible au furosémide, du flux sortant de sodium sensible à l'ouabaïne et de la perméabilité passive aux ions sodium et potassium.	25
A.2.a. Etude de la stimulation de la pompe à sodium par le sodium intracellulaire.	26
A.2.b. Etude de la cinétique et de la reproductibilité de la mesure de l'activité du cotransport $\text{Na}^+\text{-K}^+ - 2\text{Cl}^-$	26
A.3. Détermination de l'activité de l'échange sodium-lithium.	27
A.4. Détermination du flux entrant de $^{86}\text{rubidium}$ sensible à l'ouabaïne.	29
A.5. Détermination du nombre maximal de sites membranaires fixant de l'ouabaïne tritiée (^3H ouabaïne)	29
B. Détection d'un facteur plasmatique inhibant la $\text{Na}^+\text{,K}^+\text{-ATPase}$.	30
B.1. Préparation de la $\text{Na}^+\text{,K}^+\text{-ATPase}$ purifiée à partir de rein de lapin	30
B.2. Mesure de l'activité de la $\text{Na}^+\text{,K}^+\text{-ATPase}$	30
B.3. Détermination du taux de protéines de l'échantillon.	31
B.4. Action d'un facteur plasmatique sur la $\text{Na}^+\text{,K}^+\text{-ATPase}$	31
B.5. Séparation du plasma sur filtre amicon	31
C. Réactivité d'un facteur plasmatique avec les anticorps anti-digoxine	32
D. Mesure de l'activité de la $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$	32
D.1. Préparation de l'enzyme.	32
D.2. Mesure de l'activité de la $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$	32
E. Mesure du calcium libre intraplaquettaire.	33
F. Mesure du pH intraplaquettaire.	35
G. Méthodes statistiques	36
G.1. Statistique descriptive.	36
G.2. Statistique inférentielle.	36
G.2.a. Comparaison des moyennes de deux populations	36
G.2.b. Comparaison de plusieurs moyennes.	36
G.2.c. Comparaison des proportions.	37
G.2.d. Comparaison des courbes-réponses	37
G.3. Statistique multivariée	37
G.3.a. Régression multiple.	37
G.3.b. Analyse discriminante.	38
G.4. Signification statistique.	38
G.5. Utilisation de logiciels.	38

PREMIERE PARTIE :**Anomalies ioniques cellulaires dans l'hypertension artérielle:
influence de l'hérédité et de l'environnement 39****INTRODUCTION 41****CHAPITRE 1 : Anomalies ioniques dans l'hypertension essentielle 43**

Introduction.	43
Matériel et méthodes	43
Résultats	44
Discussion	50

CHAPITRE 2 : Anomalies ioniques dans l'insuffisance rénale terminale 53

Introduction.	53
Populations.	53
Résultats.	53
Discussion.	59
Conclusion	60

CHAPITRE 3 : Rôle de la membrane et de l'âge cellulaires 63

Introduction.	63
Matériel et méthodes.	64
A. Influence : - Du délai séparant le prélèvement sanguin de la mesure des paramètres ioniques cellulaires.	
- De la température de conservation du sang	64
B. Influence de l'âge des érythrocytes sur la concentration en sodium	64
Résultats.	65
A. Influence de la température et du délai de conservation des cellules.	65
B. Influence de l'âge cellulaire.	66
Discussion.	68
Conclusions	69

CHAPITRE 4 : Lien entre sodium, calcium et pH cellulaires 71

Introduction.	71
Mécanismes de régulation de l'activité de cet échangeur $\text{Na}^+\text{-H}^+$	73
Méthodologie	74
Résultats.	75
Discussion.	78
Conclusions.	81

CHAPITRE 5 : Influence d'agents antihypertenseurs sur les ions cellulaires	83
Introduction.	83
Matériel.	83
A. Comparaison entre patients hypertendus traités et non traités.	83
B. Comparaison entre captopril et nifédipine.	84
Résultats	84
A. Comparaison entre patients traités et non traités.	84
B. Comparaison entre captopril et nifédipine.	85
C. Influence d'agents antihypertenseurs sur la teneur en calcium plaquettaire, <i>in vitro</i>	85
Discussion.	87
Conclusions	89
CHAPITRE 6 :	
Influence des caractéristiques anthropométriques des patients	91
Introduction.	91
Matériel et résultats.	91
A. Influence du sexe et de l'âge des patients	91
B. Influence de l'obésité chez les Hypertendus	93
C. Etude chez de jeunes sujets normotendus	94
Discussion.	96
CHAPITRE 7 : Influence de l'hérédité hypertensive	101
Introduction.	101
Matériel et résultats	102
A. Hérité et sodium érythrocytaire chez les Normotendus	103
B. Hérité et anomalies ioniques cellulaires dans l'hypertension	103
Discussion	104
Conclusions de la première partie	105
DEUXIEME PARTIE :	
Modification de la balance sodée et pression artérielle	109
CHAPITRE 8 : Perte de poids et restriction sodée dans le traitement de l'hypertension artérielle	111
Introduction.	111
Matériel et méthodes.	111
Résultats	114
Discussion.	123
Conclusions.	124

CHAPITRE 9 : Sensibilité de la pression artérielle au sodium	127
Introduction.	127
Méthodes et résultats	128
A. Dans l'urémie.	128
B. Dans l'hypertension artérielle essentielle	129
B.1. Effet d'une restriction puis d'un supplément sodé	129
B.2. Effet de la restriction sodée sur l'hémodynamique	134
C. Chez les Normotendus.	138
Discussion.	149
Conclusions	154

Conclusions de la deuxième partie	156
--	-----

TROISIEME PARTIE : Le "Digoxin Like Factor"

CHAPITRE 10 :	
Effet du plasma sur la Na⁺,K⁺-ATPase et le calcium cellulaire	159
Introduction.	159
Méthodologie.	160
Résultats	161
A. Etude du plasma d'Urémiques	161
A.1. Influence du plasma frais sur l'activité de la pompe à sodium	161
A.1.a. Influence de l'hémodialyse	161
A.1.b. Nature de la substance responsable de cet effet	164
A.2. Effet de la fraction plasmatique entre 500 et 3.000 sur la fixation d'ouabaine ³ H au niveau de la membrane érythrocytaire de sujets normaux	165
A.3. Réactivité entre le plasma de patients hémodialysés et les anticorps digoxine.	166
A.4. Effet du plasma d'Urémiques sur le calcium plaquettaire de Normotendus sains.	167
A.5. Effet du plasma sur l'activité de la Ca ²⁺ -ATPase érythrocytaire.	168
A.6. Effet du plasma sur la natriurèse de rats normotendus WKY (après injection dans la veine caudale).	169
B. Résultats chez les patients avec hypertension essentielle.	170
B.1. Influence du plasma d'Hypertendus (n=14) sur la Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase	170
B.2. Effet de la fraction plasmatique entre 500 et 3.000 sur la fixation d'ouabaine ³ H de globules rouges de Normotendus	170
B.3. Réactivité du plasma d'Hypertendus avec les anticorps anti-digoxine	174
B.4. Effet du plasma d'Hypertendus sur le Ca ²⁺ plaquettaire de Normotendus	174

B.5. Effet du plasma de patients hypertendus sur l'activité de la Ca ²⁺ -ATPase	177
Discussion.	178
Conclusions	183
CHAPITRE 11 : Effet de dérivés stéroïdiens naturels sur la Na⁺,K⁺-ATPase et le calcium cellulaire.	185
Introduction.	185
A. Influence de dérivés naturels de la canrénone sur l'activité de la Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase et la teneur en calcium plaquettaire	186
Matériel et méthodes	188
Résultats	189
1. Effet de concentrations croissantes des dérivés 6,7 DHC sur la fixation d'ouabaïne ³ H au niveau de globules rouges.	189
2. Influence des isomères dérivés de la canrénone sur l'activité de la Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase	189
3. Influence des 6,7 DHC sur la capture de ⁸⁶ Rb au niveau de tranches de rein	190
4. Réactivité croisée de différents stéroïdes avec les anticorps anti-digoxine	191
5. Influence des dérivés 6,7 DHC sur la régulation de la teneur en calcium libre.	192
6. Influence du dérivé 6β,7α DHC sur la régulation du pH de plaquettes de Normotendus sains.	194
B. Effet de la vitamine D ₃ ou du sulfate de déhydroépiandrostérone sur l'activité de la Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase et la teneur en calcium plaquettaire	194
Méthodologie	195
Résultats	195
Discussion	196
Conclusions.	200
CHAPITRE 12 :	
Lien entre les ions sodium et calcium au niveau plaquettaire.	203
Introduction	203
Méthodologie	203
Résultats.	204
1. Teneur en calcium plaquettaire lors de la modification de la concentration en potassium extracellulaire	204
2. Effet de l'ouabaïne sur le calcium plaquettaire	204
3. Influence du sodium extracellulaire sur la concentration en calcium plaquettaire	204
Discussion	207
Conclusions.	210
Conclusions de la troisième partie	211

DISCUSSION GENERALE	213
A. Caractéristiques hémodynamiques des patients sensibles au sodium	216
B. Mauvaise adaptation des résistances vasculaires lors d'un apport sodé important : rôle du calcium cellulaire	216
C. Mécanisme responsable de l'augmentation du sodium cellulaire	218
D. Hypertension artérielle essentielle, résultat d'une anomalie membranaire?	219
E. Anomalies ioniques cellulaires, héritées ou acquises?	220
F. Anomalies ioniques cellulaires, marqueurs de la sensibilité au sodium?	221
G. Altération de l'activité de la pompe à sodium lors de la modification d'apport sodé, rôle du plasma?	
Rôle du "digoxin like factor" sur la régulation de la pression artérielle	224
G.1. Apport suffisant en chlorure sodique	225
G.2. Anomalie rénale d'excrétion sodée	227
G.3. Inhibition de la Na^+, K^+ -ATPase par une substance plasmatique endogène	230
G.4. Augmentation du tonus vasculaire	
 CONCLUSIONS	235
Rôle du sodium dans l'hypertension, ou de la simplicité apparente à une complexité évidente	235
 RESUME	237
PREMIERE PARTIE	
Anomalies ioniques cellulaires dans l'hypertension artérielle : rôle de l'hérédité et de l'environnement	238
DEUXIEME PARTIE	
Rôle du sodium dans la régulation de la pression artérielle.	238
TROISIEME PARTIE	
Le "digoxin like factor"	239
 APPENDICE	
A. Système de transport de calcium au niveau de la membrane plasmique	241
B. Systèmes membranaires intracellulaires de transport de calcium	243
 INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	245

AVANT-PROPOS

Une partie de nos résultats expérimentaux et cliniques a fait l'objet d'un doctorat en Sciences Cliniques défendu en janvier 1986.

La poursuite de ces travaux et le développement de nouvelles techniques nous ont donné l'occasion de reprendre ce sujet et d'en approfondir la matière, avec un recul que nous espérons bénéfique.

"Il y a loin de la vérité apprise à la vérité vécue"

Yüsof Muräd.

*"Everything should be made as simple as possible,
but not more simple."*

Albert Einstein.

INTRODUCTION GENERALE

L'hypertension artérielle fait partie de cette pathologie courante que tout médecin rencontre dans sa pratique quotidienne. Cette affection touche, en effet, entre 7 et 40% des hommes et 2 à 51% des femmes, selon la tranche d'âge considérée (DEMANET *et al.*, 1980).

A. Définition et importance du problème

Malgré sa fréquence, la notion d'hypertension artérielle reste difficile à définir. Son diagnostic repose essentiellement sur les pressions artérielles mesurées à l'occasion de consultations.

Les valeurs de la pression artérielle normale ont été fixées après des études systématiques sur de très grands échantillons et ont été codifiées, pour la première fois voici plus de 30 ans, par un comité d'experts de l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S., 1959). Elles ont été réactualisées plus récemment, dans le cadre des directives mondiales élaborées pour une prise en charge uniforme des patients souffrant d'hypertension artérielle (JOINT NATIONAL COMMITTEE ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE, 1984).

Sont considérées comme normales, entre 20 et 60 ans, des valeurs de pression artérielle inférieures à 140/90 mmHg. Avant 20 ans, les valeurs à retenir sont même encore plus basses, reposant sur des courbes de percentiles variables selon l'âge des enfants et adolescents (MAUS *et al.*, 1979). Par contre, sera considéré comme hypertendu, tout sujet d'âge moyen dont la pression artérielle est habituellement, sans traitement, supérieure à 140 et/ou 90 mmHg.

Ces limites sont arbitraires, puisque, à aucun moment, sur un histogramme de fréquence, on ne voit se dissocier une population normotendue d'une population hypertendue. En effet, la distribution de la pression artérielle dans une population suit une courbe continue, presque gaussienne, quoique légèrement asymétrique à droite.

Jusqu'il y a trente ans environ, le phénomène "tension artérielle" soulevait relativement peu d'intérêt dans le monde médical. L'augmentation progressive de la pression artérielle avec l'âge était considérée comme physiologique : "lorsque la paroi artérielle durcit, la pression artérielle interne doit augmenter pour maintenir une irrigation suffisante du cerveau, des reins ou des artères du coeur". A cette époque, l'hypertension artérielle faisait même, pour certains, figure d'une sorte de curiosité généralement inoffensive et éventuellement négligeable due à une "fantaisie" du système régulateur de la pression artérielle. Cette attitude était justifiée par la longue phase silencieuse et asymptomatique de l'affection, sa bonne tolérance pendant de nombreuses années, indéfiniment même chez certains privilégiés dont l'exemple

servait de référence à l'optimisme. L'infarctus du myocarde et les accidents vasculaires cérébraux étaient considérés alors comme des coups du sort plutôt que comme une conséquence de ce trouble hémodynamique.

Mais, depuis lors, les médecins ont eu à réfléchir sur des données chiffrées dégagées des études épidémiologiques (BLOOD PRESSURE STUDY, 1979). L'analyse des données des grandes compagnies d'assurance-vie américaines a, par exemple, démontré que les valeurs de pression artérielle influençaient de manière sensible l'espérance de vie des populations. Cet effet s'observe déjà pour des valeurs de pression artérielle considérées comme normales par le consensus de l'O.M.S.

La célèbre étude de Framingham, entreprise en 1949 sur une population de plus de 5000 sujets âgés de 30 à 62 ans au départ, a bien illustré le rôle néfaste de l'hypertension artérielle sur la santé (KANNEL, 1989). En effet, le risque de maladies cardiovasculaires est considérablement augmenté (multiplication par 2 à 4). Ce risque croît parallèlement à l'élévation des valeurs manométriques, tant systolique que diastolique, pour chaque âge et chaque sexe. A la fin des années 60, après les études américaines de la "Veterans Administration" (1967, 1970), il a été démontré que le traitement de l'hypertension artérielle (modérée et sévère) diminuait l'incidence des complications autres que celles secondaires à l'athérosclérose.

Ce trouble hémodynamique, aussi fréquent que sournois, s'est ainsi progressivement glissé au premier plan des préoccupations médicales de la Santé Publique.

B. Etiologie et conception pathogénique

Lorsque l'étiologie d'une affection est connue, le traitement est généralement plus efficace et, parfois même, la guérison possible.

Vouloir trouver à l'hypertension artérielle une seule étiologie paraît aujourd'hui une utopie. La physiopathologie de ce syndrome est en effet complexe et paraît résulter d'une multitude d'altérations affectant les différents systèmes nous permettant d'adapter, à chaque instant, le niveau de la pression artérielle aux exigences de notre situation métabolique et hémodynamique.

B.1. Déterminants du niveau de la pression artérielle

Le niveau de pression artérielle est le résultat de la mise en action d'un ensemble de facteurs extrêmement intriqués, contrôlant le diamètre et la vasomotricité des artères, l'équilibre des volumes liquidiens et le débit cardiaque. Aucun de ces facteurs n'est, en physiologie, indépendant des autres.

Toute hausse de la pression artérielle va mettre en action un réseau complexe de mécanismes compensatoires (activation des barorécepteurs carotidiens, intervention de facteurs neuro-humoraux, augmentation de l'excrétion rénale de sodium, etc...) visant à faire disparaître celle-ci plus ou moins vite.

Le développement, puis le maintien de l'élévation de pression, définissant l'existence d'une hypertension artérielle, pourrait donc résulter de l'action combinée de perturbations durables au niveau des processus impliqués dans le contrôle de la pression artérielle et du dépassement des mécanismes adaptatifs. L'hypertension artérielle apparaît ainsi comme un phénomène multifactoriel, lié à un dérèglement d'un ou de plusieurs mécanismes de contrôle de la pression et à l'incapacité des

autres systèmes de régulation de corriger complètement l'anomalie initiale. Ce dérèglement, conséquence de multiples anomalies évoluant souvent de concert, selon la célèbre théorie "mosaïque" de l'hypertension, se caractérise généralement par une élévation de la pression artérielle d'installation lente mais progressive (PAGE, 1967). Dans les différentes formes d'hypertension artérielle secondaire, cependant, un processus physiopathologique dominant est retrouvé, jouant un rôle pathogénique certain : dans le phéochromocytome, les catécholamines; dans la sténose de l'artère rénale, la stimulation de l'axe rénine-angiotensine; dans le syndrome de Conn, l'aldostéronisme responsable de la rétention hydrosodée; dans l'urémie, le bilan sodé positif. Ces formes dites secondaires, dont l'étiopathogénie est plus ou moins connue, ne représentent cependant qu'un faible pourcentage des patients hypertendus. Dans la grande majorité des cas (de 80 à 95% selon les sources), la cause de l'augmentation de la pression artérielle reste inconnue. On parle alors d'hypertension artérielle primaire ou encore "essentielle". Sa physiopathologie est l'objet de recherches actives, tant l'enjeu thérapeutique qui pourrait ressortir de la connaissance de son étiologie est important dans la prévention des affections cardiovasculaires.

B.2. Anomalie hémodynamique responsable de l'élévation de la pression artérielle

Des études hémodynamiques transversales et longitudinales ont été entreprises pour répondre à cette question. Les premières ont porté sur des patients variables par leur âge et la durée de leur hypertension. Elles ont permis de préciser certains points intéressants. L'hypertension artérielle débutante du sujet jeune est habituellement caractérisée par un **débit cardiaque élevé** et des résistances périphériques normales (JULIUS et CONWAY, 1968). Pour JULIUS *et al.* (1971) ou MESSERLI *et al.* (1981 et 1982), cette anomalie est explicable par une dysrégulation du système nerveux autonome.

En présence d'une hypertension artérielle du sujet plus âgé ou lors du passage de l'hypertension du sujet jeune à la chronicité, on remarque l'existence de **résistances périphériques élevées**, le débit cardiaque étant normal, voire légèrement abaissé (FROHLICH, 1982). Les études longitudinales, réalisées notamment en Norvège par LUND-JOHANSEN (1980), ont confirmé ces données chez les mêmes patients suivis pendant 20 ans et soumis à des examens périodiques.

Il est difficile cependant de saisir le *primum movens* générant l'élévation des résistances vasculaires périphériques.

Lorsque l'hypertension artérielle essentielle est fixée, les études morphologiques ont montré l'existence d'altérations structurelles au niveau de la paroi des artéριοles, avec réduction de leur lumière (FOLKOW *et al.*, 1958; FOLKOW, 1978). Mais les altérations structurelles sont adaptatives à l'augmentation de pression artérielle, le mécanisme initial responsable de cette élévation des résistances vasculaires doit être différent. L'observation d'une augmentation de sensibilité vasculaire à différents agents vasoactifs circulants, notée dans des territoires vasculaires, soit protégés de l'augmentation de pression, soit avant le développement de l'hypertension artérielle, suggère que l'élévation des résistances pourrait relever d'une anomalie fonctionnelle située au niveau du muscle lisse vasculaire (WEBB et BOHR, 1981). Pour ces auteurs, ces anomalies fonctionnelles à l'échelle cellulaire portent en dernière analyse sur une augmentation du pool calcique libre dans la cellule musculaire lisse vasculaire. Outre le muscle lisse vasculaire, l'endothélium apparaît de plus en plus

impliqué dans la pathogénie de l'augmentation des résistances vasculaires. Pour SHEPHERD (1990), les anomalies cellulaires endothéliales constituent l'élément important dans l'élévation des résistances vasculaires. L'endothélium, suite à une anomalie génétique, produirait moins de facteurs vasodilatateurs et plus d'agents vasoconstricteurs et de substances à pouvoir mitogène. Les perturbations locales qui en découlent, en relevant par exemple le seuil de sensibilité des barorécepteurs artériels, conduiraient à une diminution de l'inhibition des centres vasomoteurs cérébraux avec une plus grande excitation neuro-humorale. Ceci générerait plus tard les altérations structurelles typiques des parois artérielles soumises à l'élévation chronique de la pression artérielle, amplifiant, à leur tour, la réponse vasoconstrictrice aux agents vasoactifs circulants. Ces altérations structurelles comprennent à la fois une raréfaction de la microcirculation (anomalie précoce) et une réduction anatomique (plus tardive) du diamètre interne artériolaire suite à l'épaississement de la paroi vasculaire (STRUICKER BOUDIER *et al.*, 1992).

C. Explication des anomalies fonctionnelles dans l'hypertension

Il ne fait guère de doute que l'hypertension soit le résultat de l'influence conjointe de l'hérédité et de l'environnement.

C.1 Prédisposition génétique à l'hypertension artérielle

L'importance de l'hérédité dans la pathogénie de l'hypertension artérielle est connue de longue date. En effet, la querelle qui a opposé, dans les années 1960, le groupe animé par PICKERING (HAMILTON *et al.*, 1954; PICKERING, 1967), partisan d'une théorie multigénique, à PLATT (1959, 1963), partisan d'une anomalie monogénique, fait partie des classiques de l'histoire de l'hypertension artérielle.

Le rôle de l'hérédité hypertensive est évident dans certaines familles caractérisées, non seulement, par une fréquence élevée de l'hypertension au sein des membres, mais aussi, par la gravité comparable de l'hypertension chez ceux-ci. L'hypertension de jumeaux monozygotes est à ce titre remarquable, car elle est pratiquement identique, tant par sa date d'apparition que par son intensité et son évolutivité (KANNEL, 1980; WILLIAMS *et al.*, 1987).

La recherche de preuves du rôle prépondérant de l'hérédité dans la survenue de l'hypertension essentielle trouve un de ses meilleurs arguments dans l'étude de rats rendus génétiquement hypertendus par croisements successifs. Tout d'abord, rappelons les observations de DAHL *et al.* (1964) qui montrent que certains rats sont spontanément ou facilement hypertendus par l'administration de sel et que ces propriétés se transmettent de façon héréditaire. Ce caractère héréditaire de la genèse de l'hypertension a été largement confirmé par la suite avec l'obtention de nombreuses souches de rats (au moins 8) spontanément hypertendus (BIANCHI *et al.*, 1990). Cependant, l'étude des gènes spécifiques de la maladie hypertensive est malaisée en raison du caractère polygénique de l'hypertension (influence d'une hérédité autosomale et liée au chromosome X) associé à l'influence de l'environnement.

Une toute nouvelle approche pour étudier la base moléculaire et génétique de l'hypertension essentielle repose sur l'utilisation des techniques de biologie moléculaire. L'analyse des gènes candidats pour l'hypertension chez le rat SHR peut donner des informations en ce qui concerne le processus de développement de l'hypertension dans l'espèce humaine. Il est admis qu'un petit nombre de gènes

majeurs (de 4 à 6) contrôle la transmission d'un niveau de pression artérielle (LEVINE *et al.*, 1982) avec la participation supplémentaire d'une dizaine de gènes mineurs (PRAVENEK *et al.*, 1989). En injectant dans des oeufs fécondés des gènes connus (technique transgénique), en l'occurrence un gène codant pour la rénine, MULLINS *et al.* (1990) ont créé chez le rat une hypertension fulminante. Ces rats transgéniques, porteurs de gènes codant pour des systèmes hormonaux connus, vont permettre d'élucider vraisemblablement le rôle de différents gènes et de leurs mutations sur les mécanismes de contrôle cardiovasculaire (GANTEN *et al.*, 1991_{a,b}). Par les nouvelles techniques de la biologie moléculaire pour identifier les gènes impliqués dans le développement de l'hypertension, HILBERT *et al.* (1991) ont présenté les résultats obtenus chez le rat spontanément hypertendu (SHR) prédisposé à développer un accident vasculaire cérébral. Il a été possible de localiser, dans cette souche de rats, deux gènes, contribuant largement à la variabilité de la pression artérielle : chez le rat, ces gènes sont localisés sur les chromosomes 10 et X. Le premier de ces gènes a été retrouvé, chez l'homme, sur le chromosome 17 dans une région qui contient aussi le gène codant pour l'enzyme de conversion.

Plus récemment, un lien génétique a été établi entre le gène codant pour l'angiotensinogène et la fréquence de l'hypertension. Il a, en effet, été mis en évidence l'existence d'une différence dans les concentrations plasmatiques de cette protéine parmi des Hypertendus caractérisés par des génotypes différents quant à ce gène. L'existence de "variants" moléculaires de ce gène pour l'angiotensinogène prédispose donc certains individus à l'hypertension (JEUNEMAITRE *et al.*, 1992). Dans cet ordre d'idées, WATT *et al.* (1992) ont constaté que les candidats les plus exposés à développer une hypertension (par l'appartenance au groupe caractérisé à la fois par une pression artérielle limite haute et des parents avec les pressions les plus élevées) présentent les concentrations plasmatiques les plus importantes en angiotensinogène, en cortisol et en 18-hydroxycorticostérone. Ces candidats à l'hypertension sont en outre plus fréquemment homozygotes pour l'allèle le plus large du gène lié au récepteur des glucocorticoïdes.

Ces approches génétiques offrent donc l'espoir prochain, d'une part, d'une connaissance des mécanismes innés humains influençant la pression artérielle et de leur anomalie éventuelle et, d'autre part, d'une prévention potentielle de la maladie hypertensive.

C.2. Rôle de l'environnement

Cependant, la génétique n'explique pas tout. Elle confère une propension à devenir hypertendu, dans un environnement particulier, avec des habitudes de vie déterminées.

Le milieu est le révélateur de l'anomalie génétique. Avec l'âge, l'importance de ce milieu devient de plus en plus prépondérante.

De nombreux facteurs présents dans l'environnement ont été incriminés dans la genèse de l'hypertension artérielle essentielle (PAGE, 1976). Au niveau de toute population étudiée, il est en effet ressorti que la prévalence de l'hypertension est accrue en présence d'un poids excessif (excès de masse grasse) (CHIANG *et al.*, 1969; AMERY *et al.*, 1980; STAESSEN *et al.*, 1988), particulièrement chez le sujet jeune (SAINT-REMY *et al.*, 1992). Cette incidence de l'hypertension est aussi apparue accrue, dans les enquêtes épidémiologiques, lors d'un excès de consommation d'alcool (ARKWRIGHT *et al.*, 1982) ou d'une contrainte psychologique permanente ("stress") (COBB et ROSE, 1973).

Mais, parmi ces facteurs de l'environnement susceptibles de révéler la prédisposition génétique à l'hypertension artérielle, le sodium alimentaire a été un des plus étudiés, dès le début de ce siècle (pour revue, JOOSSENS, 1973; PORTER, 1983). Dans cet ordre d'idées, RORIVE (1974) énonçait que, parmi les facteurs de l'environnement influençant la pression artérielle, celui dont l'importance apparaissait la mieux établie était la consommation de chlorure de sodium. Par la suite, la relation sodium-pression artérielle a été remise en question et reste un des sujets les plus débattus (DUSTAN et KIRK, 1989; KAPLAN, 1990; KRAKOFF, 1991; FOLKOW, 1992).

D. Place du sodium alimentaire

Cette notion controversée, à savoir que le sodium alimentaire influençait le niveau manométrique, est pourtant supportée par une série d'évidences cliniques, expérimentales et épidémiologiques accumulées depuis près de 100 ans. Néanmoins, la relation sodium-hypertension est loin d'être simple et directement linéaire.

D.1. Les études épidémiologiques

Les études épidémiologiques ont analysé la relation existant entre consommation sodée et prévalence de l'hypertension artérielle au sein de diverses populations et ont mis en évidence, d'une part, la rareté de cette affection au niveau de nombreuses sociétés dites primitives, caractérisées par un apport sodé quotidien extrêmement bas, de l'ordre du gramme, et d'autre part, l'absence d'élévation de pression artérielle avec l'âge au sein de celles-ci. Chacun se souvient de l'étude déjà ancienne de DAHL (1961) établissant une relation presque parfaite entre la teneur en sodium de l'alimentation et la fréquence de l'hypertension dans différentes populations.

Ces études furent cependant critiquées, même à l'époque, puisque d'autres facteurs alimentaires ou sociaux pouvaient entrer en ligne de compte (MIALL, 1959; SIMPSON, 1979; SWALES, 1980).

Une nouvelle observation épidémiologique a récemment étayé l'hypothèse du rôle du sodium alimentaire dans le déterminisme du niveau de pression artérielle : l'étude "INTERSALT" (1988), portant sur plus de 10.000 sujets âgés de 20 à 59 ans recrutés à partir de 52 centres répartis dans 32 régions différentes du globe. Dans ce travail, une relation positive entre pression artérielle et excrétion sodée a été retrouvée. Il est apparu aussi que la consommation sodée influence fortement la pente de la relation âge / pression artérielle. Celle-ci est de 0,003 mmHg par an et par mmole de sodium pour la pression artérielle systolique. Pour la diastolique, ce coefficient a été calculé à 0,0015. STAMLER *et al.* (1989, 1991) ont analysé plus en détail les données de cette étude et ont estimé que si la consommation sodée de la population se réduisait de 100 mmoles/jour, cela abaisserait la pression systolique de 2,2 mmHg, entraînant une diminution du risque de mort coronarienne de 4% et de mort par accident vasculaire cérébral de 6% chez les sujets appartenant à cette tranche d'âge (20 à 59 ans). Si cette réduction d'apport sodé était maintenue pendant toute la vie, l'augmentation de pression artérielle observée de 25 à 55 ans dans la population serait plus faible de 9 mmHg, ce qui abaisserait, à 55 ans, le risque coronarien ou vasculaire cérébral respectivement de 16 et 23%. En accord avec STAMLER *et al.* (1991), LAW *et al.* (1991) considèrent, après revue de nombreux essais thérapeutiques portant sur la restriction sodée dans l'hypertension, que cette diminution de pression suffirait à réduire, respectivement de 15 et 26%, l'incidence d'accidents coronariens et vasculaires cérébraux.

On peut cependant difficilement accepter que la consommation de chlorure sodique soit la seule différence distinguant un citoyen belge d'un indien d'Amazonie. La complexité de l'interaction entre l'environnement et l'hérédité rend en effet très laborieuse l'analyse d'une enquête épidémiologique de ce genre chez l'homme.

D.2. L'expérimentation animale

Etayant les données épidémiologiques, la seconde ligne d'évidence impliquant la consommation sodée dans la genèse d'une hypertension artérielle provient de l'expérimentation animale. L'existence d'une telle relation sodium-hypertension y trouve d'ailleurs un de ses points d'appui les mieux assurés. Par ailleurs, la recherche sur l'animal de laboratoire a largement contribué à la démonstration de l'interaction entre apport alimentaire en sodium et hérédité. DAHL *et al.* (1963, 1964, 1968) ont, en effet, sélectionné des souches de rats développant une hypertension permanente en présence d'une alimentation enrichie en sodium. Chez ces animaux, il existe une étroite corrélation entre valeurs de pression artérielle et quantité de sodium ingérée. Ces animaux se distinguent donc de rats normotendus non sélectionnés chez qui l'élévation de pression artérielle ne s'observe, en présence d'un apport alimentaire élevé en sodium, qu'après néphrectomie partielle et/ou administration de désoxycorticostérone (DAHL *et al.*, 1963; CIER et FROMENT, 1965). Ces études chez l'animal ont illustré l'effet hypotenseur de la restriction sodée et la présence d'une surcharge tissulaire artérielle en sodium lors d'un régime hypersodé. Elles ont démontré aussi l'existence d'un facteur héréditaire qui s'exprime par la facilitation de l'effet hypertenseur d'une surcharge en sodium. Ces expériences illustrent aussi le rôle capital joué par le rein dans la genèse de l'élévation manométrique.

D.3. La clinique

La troisième ligne d'évidence dans cette relation - consommation de sodium et hypertension artérielle - nous vient de la clinique.

Au début de ce siècle, AMBARD et BEAUJARD (1904) avaient remarqué que la "déchloruration" (sodique) du régime, appliquée à leurs patients oedémateux, abaissait la pression artérielle. Par la suite, une série d'observations ont montré que la restriction en sodium et en chlorure réduisait la pression artérielle. Le célèbre régime "rice fruit" proposé par KEMPNER (1948) eut le mérite, en apportant moins de 10 mmoles/jour de sodium, d'améliorer deux tiers des hypertensions sévères. Malheureusement, un tel régime est peu compatible avec un suivi prolongé, vu sa monotonie.

CUTLER (1991) a revu récemment 23 études randomisées (portant sur un total de 1536 sujets) concernant la réduction de la consommation sodée chez l'homme. Cet auteur note, de cette façon, un abaissement significatif de la pression artérielle (diminution chez l'hypertendu de 0,06 mmHg/mmole de sodium en moins au niveau de la pression systolique et de 0,03 mmHg/mmole de sodium en moins pour la diastolique).

Il est cependant vraisemblable que le mécanisme de l'abaissement de pression artérielle lors de la restriction de l'apport sodé (hypovolémie au début du traitement et diminution du débit cardiaque, conséquences directes de la déplétion hydrosodée) soit différent de celui par lequel le sodium intervient dans l'augmentation graduelle de pression, observée sur de nombreuses années.

E. Mécanismes hypertenseurs possibles du sodium alimentaire

L'augmentation de la volémie ne peut rendre compte de l'élévation de pression artérielle induite par le chlorure sodique que dans les hypertensions expérimentales et quelques situations cliniques spécifiques (urémie, excès de minéralocorticoïdes). Cette surcharge volémique hydrosaline n'est d'ailleurs souvent que passagère (CIER et FROMENT, 1965). L'hypertension permanente chronique, nous l'avons rappelé plus haut, est caractérisée par des résistances vasculaires accrues. Ceci implique certaines altérations fonctionnelles du muscle lisse vasculaire et/ou des changements structuraux conduisant à une réduction de la lumière artérielle.

Des changements fonctionnels, comprenant une augmentation du tonus vasculaire et de la réactivité aux agents vasoconstricteurs circulants, suggérant l'existence d'une anomalie localisée au niveau de ces cellules contractiles ont été décrits (WEBB et BOHR, 1981) avec, notamment, une modification de la perméabilité membranaire au sodium et une diminution du potentiel de membrane (FRIEDMAN, 1990_{a,b}).

E.1. La théorie de l'auto-régulation

Une conception pathogénique fort populaire dans le cadre du rôle du sodium dans l'élévation de pression artérielle a été avancée par le groupe de GUYTON (GUYTON et COLEMAN, 1969; COLEMAN *et al.*, 1971). Ces auteurs ont proposé la théorie de l'auto-régulation. Toute tendance à l'expansion volémique (engendrée par exemple par une consommation importante en chlorure sodique) s'accompagne, dans un premier temps, d'une élévation du débit cardiaque suivie d'une riposte adaptative vasoconstrictrice des artères visant à maintenir constant le débit sanguin local. Cette vasoconstriction crée une hypertension ramenant, par la diurèse induite, le volume circulant dans les limites de la normale. Dans cette théorie, l'hypertension est la cause de l'élévation des résistances vasculaires, et non sa conséquence. A l'encontre de cette théorie, il est admis, d'une part, que le volume extracellulaire n'est généralement pas accru dans l'hypertension artérielle essentielle permanente (TARAZI, 1976) et d'autre part qu'il existe des hypertensions générées directement par une augmentation des résistances vasculaires, sans passer par une augmentation du débit cardiaque (LUND-JOHANSEN, 1980). Quoi qu'il en soit, cette théorie fait jouer un rôle important aux reins se comportant différemment chez le candidat à l'hypertension artérielle essentielle (GUYTON *et al.*, 1972; SAFAR *et al.*, 1976; GUYTON, 1991), avec comme conséquence une diminution de la capacité d'excréter normalement une charge sodée (DE WARDENER, 1990_{a,b}) (anomalie de la relation pression-diurèse).

E.2. La réactivité accrue des récepteurs aux agents vasoconstricteurs

Un autre mécanisme proposé pour expliquer le lien entre sodium alimentaire et le niveau de pression artérielle repose sur l'observation d'une réactivité accrue des récepteurs aux agents vasoconstricteurs circulants chez l'Hypertendu essentiel (MENDLOWITZ, 1973), potentialisée lors d'un apport en sel élevé. Par exemple, RANKIN *et al.* (1981) ou encore INSEL et MOTULSKY (1984) notent qu'un apport sodé accru augmente la réactivité vasculaire à la noradrénaline. Le sodium pourrait agir tant au niveau des terminaisons nerveuses orthosympathiques périphériques qu'au niveau central, par l'intermédiaire de la vasopressine stimulant à ce niveau le système orthosympathique (GAVRAS et GAVRAS, 1989). Dans l'hypertension

expérimentale engendrée chez le rat par la désoxycorticostérone et le sodium, on assiste à une libération accrue de noradrénaline à la terminaison orthosympathique périphérique avec moindre recapture. Cette anomalie est réversible lors d'un régime appauvri en sodium (DE CHAMPLAIN *et al.*, 1969).

E.3. Le contenu en sodium accru au niveau des artères

En 1954, TOBIAN et BINION observaient, à l'autopsie de l'Hypertendu, un contenu en sodium accru au niveau des artères rénales. Ceci suggérait que la régulation du sodium intracellulaire, plus qu'extracellulaire, méritait d'être étudiée dans la recherche du mécanisme pathogénique de l'hypertension "essentielle" induite par le sodium. TOBIAN dut se contenter d'échantillons tissulaires prélevés *post-mortem* au niveau d'artères de grand calibre et non des artéioles. Or, ces dernières constituent le lieu important de régulation des résistances vasculaires. Une critique supplémentaire de son étude venait de l'incertitude d'une mesure réellement intracellulaire du sodium. Cette augmentation pouvait être due à un artefact méthodologique. Une contamination de l'échantillon cellulaire analysé, par du liquide interstitiel riche en sodium, pouvait s'être produite au niveau des artères hypertrophiées de patients hypertendus. Si CIER et FROMENT (1965), MADDEN *et al.* (1979) ou FRIEDMAN (1979, 1990_a) ont proposé que la localisation de l'excès de sodium mesuré dans les parois vasculaires de rats hypertendus soumis à un régime riche en sodium soit intracellulaire, HOLLANDER *et al.* (1968) puis RORIVE (1975) ont apporté des arguments expérimentaux suggérant que l'anomalie du pool sodé au niveau des parois artérielles se localisait dans l'espace extracellulaire.

Quoi qu'il en soit, cette observation "*princeps*" avait eu le mérite de se pencher directement sur le tissu le plus certainement impliqué dans la maladie hypertensive : le muscle lisse vasculaire.

E.3.a. Anomalie membranaire héritée

La description d'anomalies membranaires du transport du sodium par certains auteurs (POSTNOV *et al.*, 1977; GARAY et MEYER, 1979; CANESSA *et al.*, 1980) a renforcé l'idée d'une augmentation intracellulaire du sodium chez l'Hypertendu, observée d'ailleurs par certains au niveau des globules rouges (LOSSE *et al.*, 1960) et des leucocytes (EDMONSON *et al.*, 1975) de ces patients et de certains membres de leurs descendants, pourtant normotendus. Ces constatations ont été le point de départ d'une recherche active et d'une littérature abondante. Selon cette théorie, l'effet, sur la pression artérielle, d'un apport sodé accru s'expliquerait, par le biais de ces anomalies membranaires, par une accumulation de sodium intracellulaire notamment au niveau de la cellule musculaire lisse vasculaire.

E.3.b. Anomalie membranaire acquise

Un autre mécanisme, proposé pour expliquer l'accumulation cellulaire de sodium suite à une consommation en sel excessive, fait jouer un rôle clé au rein, comme dans la théorie de l'auto-régulation de GUYTON. Cette nouvelle hypothèse, base de la **théorie de BLAUSTEIN** (1977) ou de **WARDENER** et **MAC GREGOR** (1980, 1982), considère que le lien entre la rétention sodée, générée par une anomalie rénale, et l'élévation de la pression artérielle consisterait en la sécrétion d'un facteur endogène de type digoxine. Ce facteur, à action natriurétique et inhibiteur de la

Na^+, K^+ -ATPase, serait responsable de l'élévation de la concentration intracellulaire en sodium (Fig.1.).

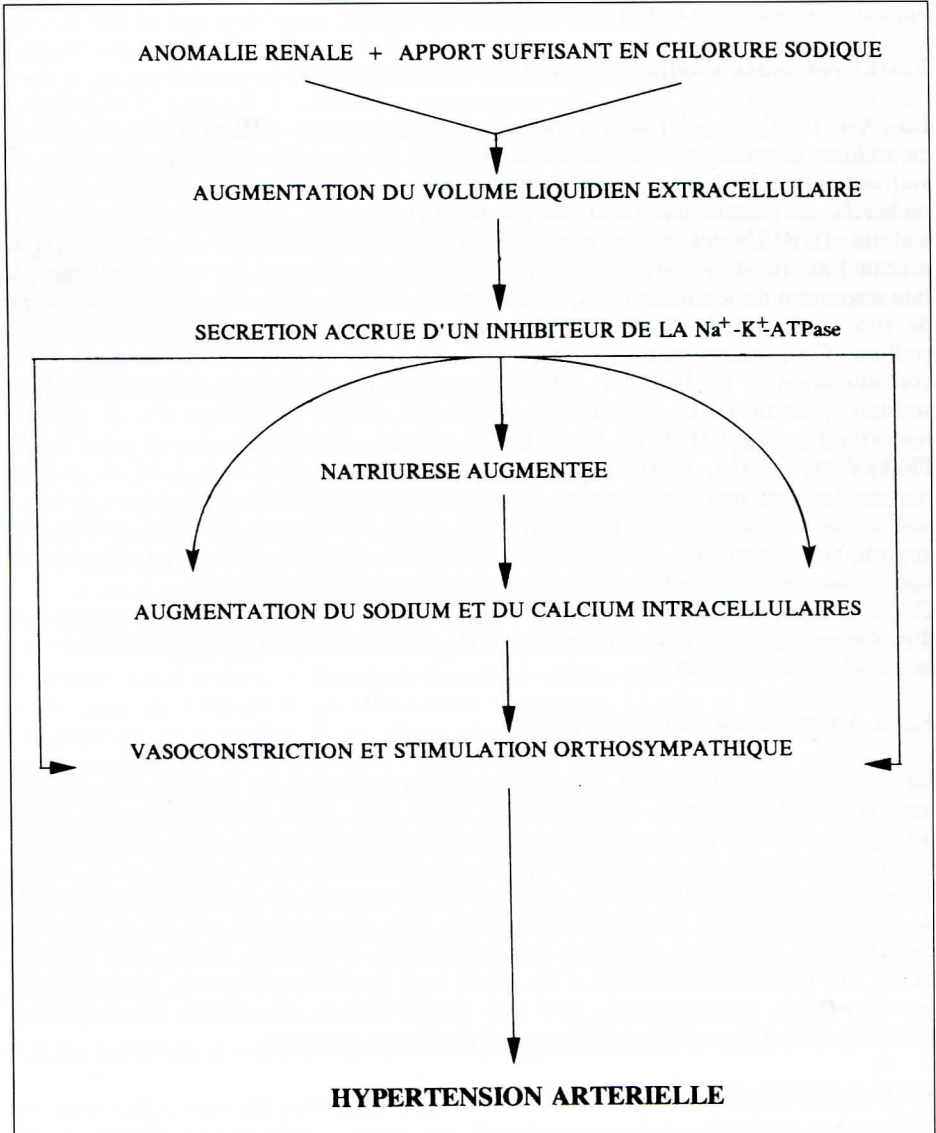


Figure 1.: Théories de BLAUSTEIN (1977) et de DE WARDENER et MAC GREGOR (1980, 1982).

Ces anomalies de la composition sodée intracellulaire, génétiquement déterminées ou acquises secondairement sous l'influence de facteurs humoraux induits par la

consommation sodée, s'exprimeraient différemment selon les individus. Ceci expliquerait le caractère inconstant de la relation sodium-hypertension retrouvé en épidémiologie et en clinique et dégagerait ainsi la notion de "susceptibilité individuelle" au chlorure sodique.

F. Sensibilité de la pression artérielle au sodium alimentaire

La notion de sensibilité individuelle de la pression artérielle au sodium (variations de la pression artérielle parallèlement aux variations de l'apport sodé) constitue certainement une explication valable de l'hétérogénéité de l'impact du sodium alimentaire sur la pression artérielle au sein d'une même population.

Le mécanisme hémodynamique responsable de l'accroissement de pression lors d'un apport sodé accru chez les sujets sensibles au chlorure sodique se caractérise par une élévation des résistances vasculaires, en même temps que se réduit la compliance veineuse (SULLIVAN, 1991).

Les mécanismes physiopathologiques responsables de la sensibilité au sodium accordent une importance à l'existence d'une anomalie rénale. Les sujets sensibles au sodium voient leur poids augmenter plus, lors d'un régime hypersodé, que chez les patients dits résistants à ce cation, en relation avec une rétention accrue de sel et d'eau (KAWASAKI *et al.*, 1978). SKRABAL *et al.* (1984) ou WEINSTOCK *et al.* (1991) pensent à une activité orthosympathique rénale exagérée chez ces patients, avec réabsorption sodée accrue. LIFTON *et al.* (1989) considèrent que le mécanisme responsable de cette sensibilité au sodium, d'origine génétique, serait tributaire d'une absence d'augmentation du débit plasmatique rénal lors d'un apport sodé important. Ceci engendrerait une rétention sodée inadaptée. Pour WILLIAMS et HOLLENBERG (1991_{a,b}), les Hypertendus à activité rénine plasmatique basse se caractériseraient par une réponse anormalement élevée de la surrenale à une perfusion d'angiotensine II lors d'un régime hypersodé, avec sécrétion inappropriée d'aldostérone.

Une anomalie de la réponse de l'axe rénine-angiotensine avait déjà été proposée (FUJITA *et al.*, 1984). Les sujets sensibles au sodium répondraient par une variation faible de cet axe de régulation hormonale à de larges modifications de l'apport alimentaire en sel.

La sensibilité au sodium a aussi été rattachée à une altération du métabolisme du calcium. Chez les sujets sensibles au sodium, un régime hypersodé génère une hypercalciurie avec, en riposte, une sécrétion accrue de vitamine D et de parathormone. Ces hormones peuvent être responsables de l'augmentation de la pression artérielle (RESNICK *et al.*, 1983; RESNICK, 1990).

Un défaut génétique ou acquis de sécrétion de dopamine rénale ou systémique a aussi été proposé, par certains, comme mécanisme sous-tendant la sensibilité de la pression artérielle au sodium (SHIKUMA *et al.*, 1986; HAMASAKI *et al.*, 1991; GILL *et al.*, 1991).

La susceptibilité au sodium pourrait enfin trouver une origine dans une anomalie diffuse de la régulation cellulaire du sodium. Nous avons rappelé plus haut les premiers travaux objectivant une anomalie membranaire du transport du sodium. La découverte de celle-ci laissait entrevoir un énorme espoir de détecter les sujets prédisposés à développer une hypertension artérielle essentielle, et, dès lors, ceux qui retireraient le plus grand bénéfice de la restriction du sodium alimentaire. La plupart des travaux ont porté sur les cellules sanguines, au niveau desquelles s'expriment la

majorité des systèmes de transport ionique. Ces cellules continuent à être le matériel préféré de nombreux chercheurs dans ce domaine, vu leur facilité d'obtention, leur simplicité de manipulation et l'interprétation aisée des résultats.

Parmi les critères cliniques proposés pour identifier, en première intention, les sujets sensibles au sodium, le sexe des patients ne paraît jouer aucun rôle (LUFT *et al.*, 1991). Par contre, les sujets de race noire ou âgés de plus de 40 ans constituent des populations sensibles au sodium. Ces critères sont aisément accessibles pour la détection clinique de la susceptibilité au chlorure sodique (LUFT *et al.*, 1982). L'obésité chez le jeune Hypertendu comme la sévérité de l'hypertension constituent aussi des marqueurs cliniques de cette prédisposition (ROCCHINI *et al.*, 1989; PAVEK et PAVEK, 1990; GROBBEE, 1991).

Ce paramètre serait aussi influencé génétiquement. Un des marqueurs de la susceptibilité au sodium pourrait être la mesure de l'haptoglobine et de ses phénotypes. Cette protéine plasmatique possède deux chaînes peptidiques désignées Hp 1 et Hp 2. Trois phénotypes sont donc possibles : soit être homozygote pour chacune des chaînes, soit être hétérozygote. Or, les sujets sensibles au sodium présentent le phénotype Hp 1-1 2,5 fois plus souvent que les patients non sensibles. L'existence d'un recouvrement important entre les courbes de patients sensibles et insensibles au sel quant à ce phénotype rend malheureusement peu utile l'application de ce test de dépistage en clinique humaine (WEINBERGER *et al.*, 1987). Une activité rénine plasmatique basse ou la détection du facteur de type digoxine dans le plasma de ces patients pourraient également être utilisés comme marqueur biologique de cette sensibilité (KRZESINSKI *et al.*, 1985; SAITO *et al.*, 1985).

G. Etat de la question sur les anomalies cellulaires du sodium dans l'hypertension et résumé de nos travaux antérieurs

Dans notre Doctorat (KRZESINSKI, 1985), nous nous sommes attaché à vérifier l'existence des anomalies ioniques cellulaires dans l'hypertension artérielle essentielle, leur spécificité et leur modification en fonction de l'apport sodé. Cette étude préliminaire était indispensable.

Mais avant de dresser un tableau complet des anomalies ioniques du sodium, décrites chez les patients avec hypertension essentielle, il nous semble opportun de rappeler les mécanismes biochimiques moléculaires, les fonctions et régulations des systèmes de transport transmembranaires de sodium au niveau cellulaire. (Fig. 2.)

G.1. Systèmes de transport du sodium vers l'extérieur de la cellule

Deux systèmes font sortir, de la cellule, le sodium intracellulaire : la **pompe $\text{Na}^+\text{-K}^+$ sensible à l'ouabaine** (dépendante d'une enzyme, la $\text{Na}^+\text{,K}^+\text{-ATPase}$) et le **cotransport $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$** .

G.1.a. La pompe $\text{Na}^+\text{-K}^+$ sensible à l'ouabaine

Cette pompe, décrite par SKOU (1957), est électrogénique et souvent appelée pompe à sodium. Dans les conditions normales, elle permet l'échange de 3 ions sodium intracellulaires avec 2 ions potassium extracellulaires, au prix de l'hydrolyse d'ATP comme source d'énergie. Cette pompe lutte en permanence contre l'accumulation intracellulaire de sodium liée à la présence d'un gradient de concentration de cet ion de part et d'autre de la membrane (140 mmol/l de sodium à l'extérieur de la cellule et

10 mmol/l à l'intérieur).

La pompe à sodium est inhibée par les tonicardiaques, au niveau d'un site de fixation spécifique à l'extérieur de la membrane. Au niveau cardiaque, cette inhibition engendre un accroissement de force contractile liée à une augmentation intracellulaire de calcium faisant suite à celle du sodium. Le nombre de molécules d'ouabaine spécifiquement liées aux sites de fixation externes de l'enzyme reflète fidèlement le nombre d'unités actives de la pompe à sodium. Ce nombre peut varier, par exemple en fonction d'une modification de la kaliémie, de la prise d'un traitement par tonicardiaque ou d'une obésité.

G.1.b. Le cotransport $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$

Le **cotransport**, décrit en 1975 par WILEY et COOPER, transporte dans la même direction un ion sodium, un ion potassium et 2 ions chlore. Il est sensible aux diurétiques de l'anse de Henlé. Au niveau du rein, ce système existe au pôle urinaire cellulaire de la portion fine de l'anse de Henlé du néphron, où il joue un rôle capital dans la réabsorption sodée. Ce système peut fonctionner dans les 2 sens (de l'intra-vers l'extracellulaire ou l'inverse) en fonction des conditions méthodologiques, utilisant soit le gradient de concentration de sodium transmembranaire, soit celui de potassium comme source d'énergie.

Le cotransport constitue un des mécanismes membranaires de la régulation intracellulaire en sodium lors d'une charge sodée (GARAY *et al.*, 1981).

G.2. Mécanismes d'entrée du sodium dans la cellule

G.2.a. La perméabilité passive

La **perméabilité passive** non spécifique tend à annuler le gradient de concentration transmembranaire de sodium établi par la pompe à sodium sensible à l'ouabaine.

G.2.b. L'échange $\text{Na}^+\text{-H}^+$

Un autre système occupe actuellement l'attention de nombreux chercheurs dans le domaine de la biochimie en relation avec l'élévation de la pression artérielle. Il s'agit de l'**échange $\text{Na}^+\text{-H}^+$** décrit par MURER *et al.* (1976). Ce système expulse des protons de la cellule en les échangeant contre des ions sodium (1 ion Na^+ contre 1 proton H^+). Cet échangeur aide, par son activation, à l'accumulation de sodium intracellulaire. Il est stimulé par une série de facteurs circulants dont la vasopressine et la thrombine. Par contre, ce système est inhibé par l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC). Au niveau du rein, cet échange agit en éliminant dans l'urine les protons et en réabsorbant du sodium. Il est inhibé par l'amiloride, diurétique d'épargne potassique, et ses dérivés (FRELIN *et al.*, 1988) et pourrait correspondre à l'**échange $\text{Na}^+\text{-Li}^+$** , insensible à l'ouabaine et au furosémide, observé au niveau du globule rouge (ARONSON, 1982; CANESSA *et al.*, 1980, 1988 et 1991).

G.2.c. Les échanges $\text{HCO}_3^- \text{- Cl}^-$

Il existe aussi, au niveau cellulaire, des systèmes dépendant de l'**échange bicarbonate-chlore** ($\text{HCO}_3^- \text{- Cl}^-$) dont un fait entrer l'ion sodium. Ces échanges, intervenant, comme l'échange $\text{Na}^+\text{-H}^+$, dans la régulation du pH cellulaire, ne

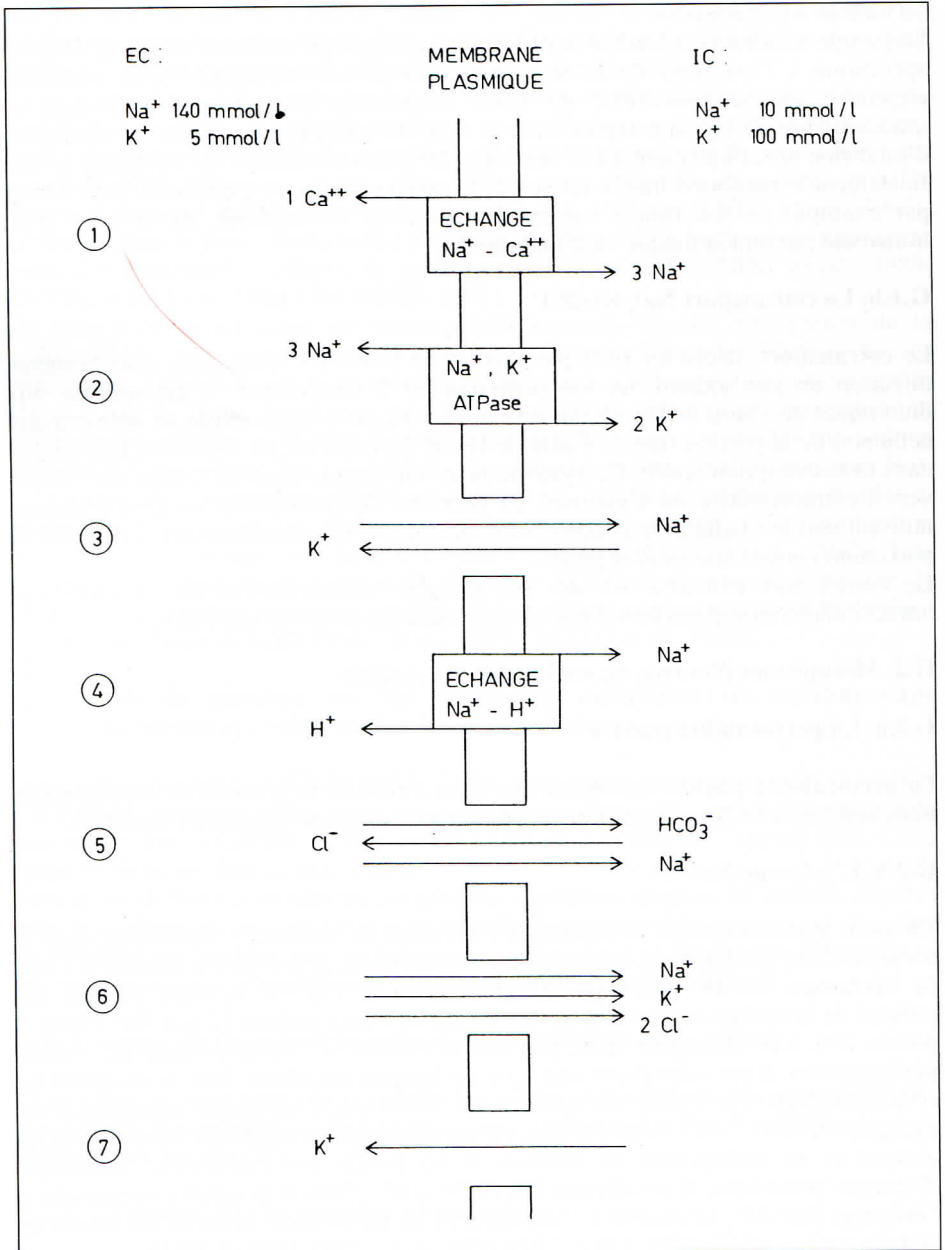


Figure 2 : Représentation schématique des systèmes de transport transmembranaires de sodium : 1. échange $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$; 2. pompe à Na^+ ; 3. perméabilité passive; 4. échange $\text{Na}^+ - \text{H}^+$; 5. échange $\text{HCO}_3^- - \text{Cl}^- - \text{Na}^+$; 6. cotransport $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$; 7. canaux potassiques.

fonctionnent qu'en présence de bicarbonate et sont inhibés par l'acide diisocyanostilbène disulfonique (DIDS), mais non par l'amiloride (FRELIN *et al.*, 1988_{a,b}).

G.2.d. L'échange Na^+ - Ca^{2+}

Enfin, il existe un système d'échange Na^+ - Ca^{2+} au niveau membranaire, faisant entrer dans la cellule du sodium pour assurer la sortie du calcium intracellulaire. Ce système, absent au niveau du globule rouge, sera détaillé plus loin (voir APPENDICE).

Rappelons enfin que les globules rouges humains possèdent des systèmes de transport de sodium similaires à ceux des cellules nucléées mais avec une densité membranaire inférieure à celle des cellules excitables. Au niveau de ces dernières, il existe aussi des canaux sodiques dits rapides, faisant entrer rapidement du sodium dans la cellule lors d'une stimulation et étant responsables de la première phase du potentiel d'action.

Pour être complet, mentionnons l'existence de transporteurs spécifiques de glucose ou d'acides aminés, notamment au niveau du tube rénal proximal, faisant entrer dans la cellule tubulaire ces solutés organiques avec des ions sodium.

G.3. Anomalies cellulaires du sodium dans l'hypertension

Pour expliquer l'augmentation de sodium intracellulaire rapportée, chez les Hypertendus, par LOSSE *et al.* (1960) au niveau des érythrocytes ou par EDMONSON *et al.* (1975) au niveau des leucocytes, les chercheurs s'étaient tout naturellement penchés sur la détection d'une anomalie du transport transmembranaire du sodium.

POSTNOV *et al.* (1976) considéraient que l'élévation du sodium érythrocytaire résultait, chez l'Hypertendu essentiel, d'une perméabilité membranaire passive accrue pour ce cation liée à un déficit de la liaison de calcium à ce niveau. Ceci entraînait, en outre, une diminution de l'activité de l'enzyme Na^+ , K^+ -ATPase. Or, cette enzyme génère les flux transmembranaires de sodium et de potassium quantitativement les plus importants (POSTNOV *et al.*, 1977). Cette pompe à sodium pourrait aussi voir son activité diminuée dans l'hypertension, suite soit à une diminution de son affinité apparente pour le sodium intracellulaire (DIEZ *et al.*, 1987; DE LA SIERRA *et al.*, 1988), soit à l'action de facteurs plasmatiques agissant sur la membrane cellulaire (DE WARDENER et MAC GREGOR, 1982).

Dans la foulée des travaux de POSTNOV *et al.* (1977), GARAY et MEYER (1979) confirmaient la tendance à l'accroissement de la teneur intracellulaire en sodium chez certains Hypertendus, mais ne retrouvaient pas d'altération de la perméabilité passive chez ces patients. Ces auteurs (GARAY *et al.*, 1980_{a,b}) notaient plutôt une activité accrue de l'enzyme Na^+ , K^+ -ATPase érythrocytaire, chez les Hypertendus, en riposte à cette tendance à l'élévation de la concentration en sodium. Cette dernière modification ionique, selon eux, serait due à une diminution de la vitesse de fonctionnement du cotransport Na^+ - K^+ - 2Cl^- , sensible au furosémide, aussi objectivée dans la descendance des patients hypertendus.

En 1980, CANESSA *et al.*, observaient, chez le patient avec hypertension essentielle, une anomalie au niveau d'un autre système de transport, l'échange Na^+ - Li^+ dont l'activité était accrue. Ce système, pendant longtemps, a été envisagé comme une curiosité, son rôle étant incertain. Plus récemment (CANESSA *et al.*, 1988 et 1991),

ce système a été considéré comme une manière différente de fonctionner de l'échange $\text{Na}^+\text{-H}^+$, dont le rôle dans la régulation du pH cellulaire a été rappelé précédemment. Or, l'échange $\text{Na}^+\text{-H}^+$ a aussi été trouvé être stimulé dans l'hypertension essentielle (LIVNE *et al.*, 1987). Cet échange accru permettait d'expliquer l'augmentation de la concentration en sodium intracellulaire notée chez certains Hypertendus. En outre, l'activité plus grande de cet échange ionique pouvait générer une alcalose au niveau de la cellule musculaire lisse vasculaire. La modification du pH cellulaire favoriserait les synthèses protéiques et donc la croissance cellulaire et la prolifération cellulaire au niveau des parois artérielles (observables à la phase chronique d'une hypertension artérielle mal contrôlée) (MEYER, 1989). Rappelons que cet échange $\text{Na}^+\text{-H}^+$ est présent aussi au niveau tubulaire rénal et pourrait, par son hyperactivité, participer à l'accroissement de la balance sodée (ARONSON, 1982).

Enfin, selon DIEZ *et al.* (1992), le système d'échange $\text{HCO}_3^- \text{- Cl}^-$ dépendant du Na^+ est activé, au niveau des érythrocytes, chez le patient atteint d'hypertension essentielle.

Une controverse s'est très vite installée dans la littérature scientifique au vu de nombreux résultats contradictoires publiés à propos de l'activité de ces différents systèmes de transport du sodium chez l'Hypertendu essentiel. Ces résultats avaient cependant en commun de considérer l'hypertension comme une maladie de membrane (MEYER et GARAY, 1981; DOMINICZAK *et al.*, 1991).

G.4. Résultats personnels

C'est à ce stade de connaissances que nous avons entrepris notre travail, après avoir effectué un stage de formation dans le laboratoire du Professeur MEYER à Paris en 1980.

Ainsi, nous avons pu confirmer l'accroissement en valeur moyenne de la concentration intraérythrocytaire en sodium et de l'activité de l'échange $\text{Na}^+\text{-Li}^+$, avec diminution de l'activité du cotransport $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ et de la pompe à $\text{Na}^+\text{-K}^+$ sensible à l'ouabaïne chez les Hypertendus essentiels par rapport aux Normotendus (Tableau 1) (KRZESINSKI et RORIVE, 1984).

Par ailleurs, nous avons réparti l'ensemble des 51 sujets normotendus du tableau 1 en trois groupes, en fonction d'une histoire familiale d'hypertension (positive chez 17, négative chez 21 et incertaine chez 13). Aucune différence significative n'était observée entre ces trois groupes pour la concentration en sodium ou les activités des trois systèmes de transport de sodium érythrocytaires étudiés en fonction de ce critère génétique de séparation.

Nous avons aussi pu constater qu'il existait un recouvrement important des valeurs pour ces différents paramètres érythrocytaires entre les sujets normotendus et les patients hypertendus. La figure 3 illustre ce phénomène pour les activités de la pompe à sodium et du cotransport. La faible sensibilité des tests rendait donc leur utilisation peu intéressante pour la confirmation biochimique du diagnostic d'hypertension artérielle essentielle. En outre, leur spécificité était faible, puisque des anomalies semblables à celles décrites dans l'hypertension essentielle étaient retrouvées, dans des proportions variables il est vrai, dans l'insuffisance rénale chronique, l'hypokaliémie, la grossesse, le diabète, ou la prise de contraceptifs oraux (KRZESINSKI et RORIVE, 1984 et 1985_a). Nos travaux concluaient à la nécessité d'une grande rigueur dans les critères de sélection des patients recrutés pour définir

Tableau 1 : Concentration intraérythrocytaire et mesures des flux ioniques transmembranaires de sodium chez les Normotendus et les Hypertendus essentiels.

VARIABLES	NORMOTENDUS (n = 51)	HYPERTENDUS (n = 44)	p
Na ⁺ _{IC} (mmol/l)	9,8 ± 1,9	11,3 ± 3,1	< 0,01
ECHANGE Na ⁺ -Li ⁺ (μmol/l x h)	346 ± 212	512 ± 210	< 0,001
POMPE à Na ⁺ S OUAB (μmol/l x h)	4668 ± 1390	3522 ± 1121	< 0,001
COTRANSPORT Na ⁺ (μmol/l x h)	313 ± 149	248 ± 98	< 0,05

Na⁺_{IC} : concentration en sodium érythrocytaire.

Pompe à Na⁺ S OUAB: Pompe à sodium érythrocytaire, sensible à l'ouabaine.

Cotransport Na⁺ : Cotransport sodium-potassium-chlore érythrocytaire.

un marqueur biologique de la prédisposition à cette maladie et de sa confirmation lors de la découverte d'une élévation de la pression artérielle chez un sujet donné. Pour décrire la composition ionique cellulaire d'un patient hypertendu, il s'est avéré nécessaire d'étudier simultanément l'ensemble des systèmes de transport transmembranaire du sodium (pompe à Na⁺ sensible à l'ouabaine, cotransport Na⁺-K⁺-2Cl⁻, échange Na⁺-Li⁺, perméabilité passive) et la concentration intracellulaire en Na⁺. De ce fait, il a été possible, dans notre travail antérieur, de conclure qu'un tiers des patients hypertendus examinés sont indemnes de toute anomalie érythrocytaire. Ces données s'accordent parfaitement avec l'impression, en pratique clinique, de l'hétérogénéité de la population des patients hypertendus rencontrés. Quoi qu'il en soit, deux tiers des patients hypertendus essentiels présentent une ou au maximum deux des anomalies décrites au niveau des systèmes membranaires d'échange ionique. La nature et l'importance de la perturbation de ces systèmes sont variables d'un patient à l'autre et non prévisibles.

L'élévation de la concentration en sodium cellulaire a été objectivée chez un tiers des patients hypertendus essentiels. Une anomalie de l'échange Na⁺-Li⁺ a été retrouvée dans 50% des cas. Au niveau du cotransport Na⁺-K⁺-2Cl⁻ et de la pompe à Na⁺ sensible à l'ouabaine une perturbation a été notée dans 40% des tests et pour la perméabilité passive chez 15% des patients, en accord avec GARAY (1989 et 1990). Certaines des contradictions relevées dans la littérature concernant l'étude de ces systèmes de transport peuvent trouver une explication dans l'hétérogénéité des populations recrutées, mais aussi dans les conditions de prélèvement du sang (à jeun, avec ou sans prise d'agent pharmacologique, analyse à un moment variable du cycle

menstruel) et des conditions de réalisation des tests sanguins. Pour rappeler l'importance du jeûne lors du prélèvement, nous avons testé l'influence d'une charge orale en glucose chez des sujets sains, dans le cadre d'une hyperglycémie par voie orale. Cette charge glucosée stimule significativement l'activité de la pompe à Na⁺ sensible à l'ouabaine (Tableau 2). Cet effet passe vraisemblablement par l'action membranaire de l'insuline dont la sécrétion est stimulée lors de l'élévation de la glycémie (FERRARI et WEIDMANN, 1990).

Tableau 2 : Evolution de la concentration érythrocytaire en sodium et de l'activité de la pompe à Na⁺ sensible à l'ouabaine à 3 moments d'une hyperglycémie orale. (n = 10 Normotendus sains, sans excès pondéral ni hyperinsulinisme basal)

VARIABLE	TEMPS 1 (0 min.)	TEMPS 2 (120 min.)	TEMPS 3 (300 min.)	p
Na ⁺ _{ic} (mmol/l)	10 (6,3-14,8)	9,8 (6,3-13,8)	9,75 (6,4-12,6)	< 0,01
POMPE Na ⁺ S OUAB μmol/l x h	4038 (2500-6200)	4485 (2990-6400)	4310 (2900-6300)	< 0,05

() = extrêmes

Nous avons aussi étudié la relation potentielle entre l'apport en sodium et les anomalies érythrocytaires observées en choisissant trois types de protocole chez l'homme. Ces trois modèles comprenaient des patients souffrant d'insuffisance rénale chronique au stade de l'hémodialyse, des sujets présentant une hypertension artérielle essentielle non compliquée et non traitée pharmacologiquement et des Normotendus (KRZESINSKI et RORIVE, 1985_b; KRZESINSKI *et al.*, 1985 et 1987). Nous avons ainsi pu noter, chez ces trois catégories de patients, qu'un bilan hydrosodé positif s'accompagnait d'une inhibition de l'activité de la pompe à sodium érythrocytaire sensible à l'ouabaine, en relation avec la présence d'une activité plasmatique inhibant l'enzyme Na⁺,K⁺-ATPase et ayant en outre un pouvoir natriurétique. Cette activité pouvait intervenir dans le mécanisme de la sensibilité de la pression artérielle au sodium puisqu'on la mesurait en plus grande quantité lors d'une augmentation de l'apport sodé avec élévation parallèle de la pression artérielle.

H. Objets de nos recherches actuelles

Au terme de notre doctorat, un certain nombre de questions restaient posées, auxquelles nous avons tenté de répondre, en centrant notre investigation principalement sur le lien entre sodium et calcium cellulaires et sur l'existence d'une activité de type digitalique endogène.

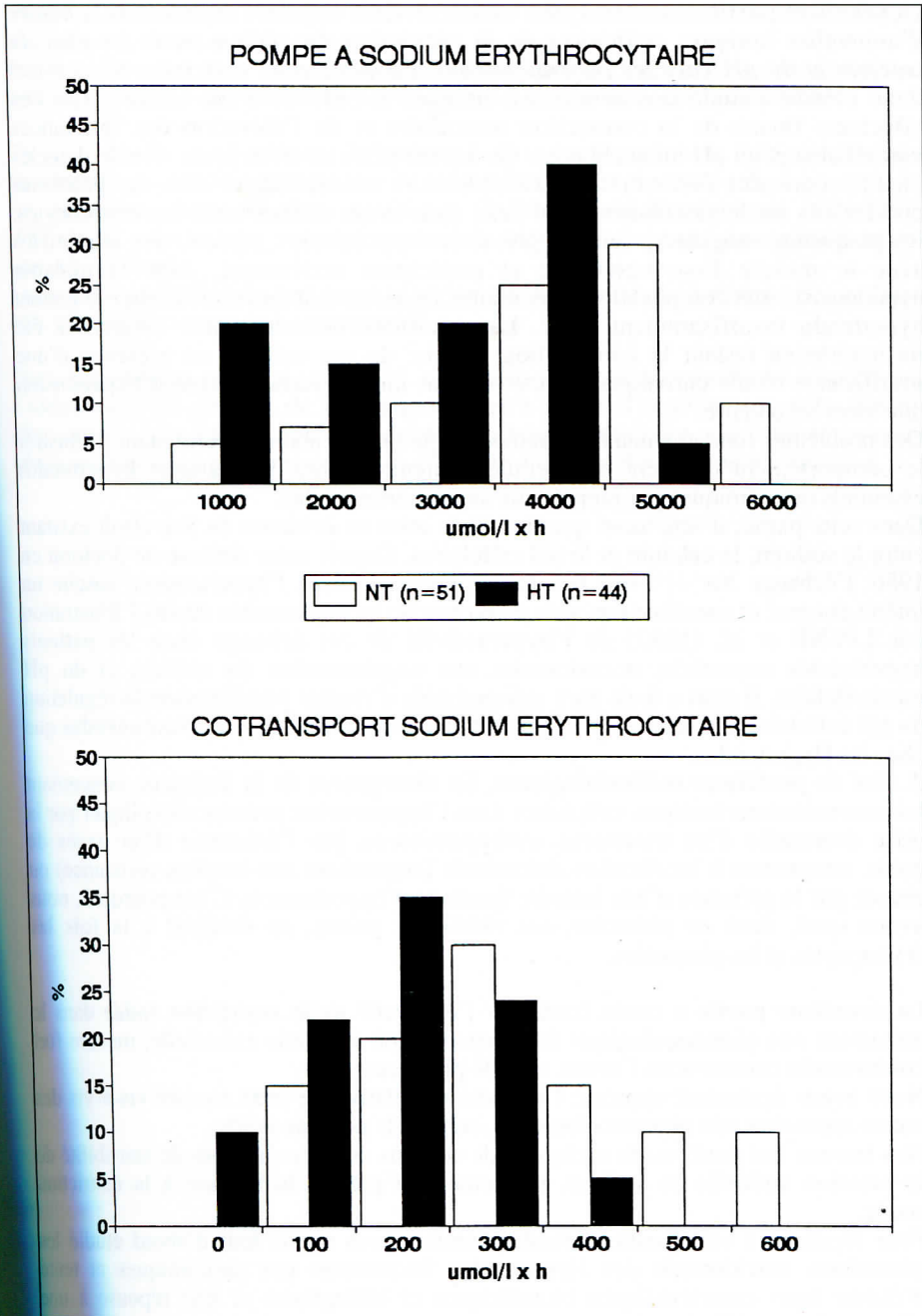


Figure 3. : Histogramme de fréquence des valeurs des activités de la pompe à sodium sensible à l'ouabaine et du cotransport au niveau des érythrocytes de 51 sujets normotendus et de 44 patients avec hypertension essentielle.

La **première partie** de ce mémoire s'est intéressée à rappeler l'*existence et la nature d'anomalies ioniques cellulaires de la régulation du sodium mais en plus du calcium et du pH chez les patients atteints d'hypertension artérielle*. Nous avons donc étendu l'étude des anomalies ioniques à celle de l'ion calcium (un des effecteurs finaux de la contraction musculaire et de l'élévation des résistances vasculaires) et au pH intracellulaire. Ce dernier peut, en effet, jouer un rôle dans les modifications des concentrations en sodium et en calcium et dans les processus prolifératifs cardiovasculaires. Pour cela, nous avons utilisé, outre les érythrocytes, les plaquettes sanguines, cellules présentant, par certains aspects, des similitudes avec le muscle lisse vasculaire et participant activement, dans la maladie hypertensive, aux complications vasculaires fréquemment rencontrées chez le patient hypertendu insuffisamment traité. La spécificité des anomalies ioniques a été recherchée en testant la composition ionique de ces cellules en présence d'une insuffisance rénale chronique caractérisée par une fréquence élevée d'hypertension dite alors secondaire.

Des problèmes fondamentaux de méthodologie ont été abordés permettant d'illustrer le comportement différent des cellules sanguines chez les patients hypertendus essentiels ou urémiques par rapport aux sujets normotendus.

Dans cette partie, il sera aussi question de la mise en évidence du lien étroit existant entre le sodium, le calcium et le pH cellulaires. Depuis notre défense de doctorat en 1986, l'échange Na^+-H^+ , fort peu étudié jusque là dans l'hypertension, suscite un intérêt énorme et constitue une voie de recherche incontournable depuis l'illustration par LIVNE *et al.* (1987) de l'hyperactivité de cet échange chez les patients hypertendus essentiels, occasionnant une augmentation du sodium et du pH intracellulaire. Il nous a donc paru indispensable d'étudier parallèlement la régulation du pH cellulaire avec celles du sodium et du calcium tant chez les Normotendus que chez les Hypertendus.

A côté de *problèmes méthodologiques*, les divergences de la littérature concernant les concentrations ioniques cellulaires dans l'hypertension peuvent s'expliquer par la prise éventuelle d'un traitement antihypertenseur, par l'existence d'un excès de poids, notamment à localisation abdominale (engendrant une insulino-résistance) ou encore par la présence d'une histoire familiale d'hypertension. C'est pourquoi, nous avons testé, dans ce mémoire, ces différents points, en étudiant à la fois les érythrocytes et les plaquettes.

La **deuxième partie** a voulu confirmer l'*efficacité de la restriction sodée* dans le traitement non pharmacologique de l'hypertension artérielle essentielle, mesure fort controversée comme nous l'avons rappelé plus haut.

Nous avons également apprécié l'importance relative de cette mesure vis-à-vis des autres approches non pharmacologiques, comme la perte de poids.

Nos travaux ont porté sur la recherche de certains critères cliniques de sensibilité de la pression artérielle au sodium, permettant de prédire la réponse à la restriction sodée.

Pour répondre à ces questions fondamentales, nous avons tout d'abord étudié les paramètres nutritionnels des Hypertendus fréquentant nos policliniques et tenté d'établir leurs caractéristiques biométriques et biologiques et leur réponse à une alimentation équilibrée et hyposodée.

Dans le cadre de ce mémoire, portant sur le rôle potentiel de l'alimentation sodée sur la régulation de la pression artérielle, il était logique de tenter de cerner les mécanismes de la sensibilité au sodium par des essais thérapeutiques modifiant la

balance sodée et par le suivi dans le même temps des modifications ioniques cellulaires de sodium et de calcium .

Existe-t-il une relation entre les anomalies ioniques décrites et cette sensibilité au sodium? Les anomalies observées permettent-elles de prédire cette sensibilité?

Toutes ces recherches pouvaient s'intégrer dans la confirmation de l'élégante théorie développée par DE WARDENER et MAC GREGOR (1980, 1982) (Fig.1.).

Le mécanisme hypertensif passerait par l'inhibition de l'activité de la Na^+, K^+ -ATPase du muscle lisse vasculaire suite à la sécrétion d'agents plasmatiques ayant une telle activité.

Quel serait cependant le lien entre le sodium et le calcium à l'intérieur des cellules lors des modifications de l'apport sodé?

Dans la **troisième partie** de ce travail, nous nous sommes donc intéressé à confirmer l'*existence d'un facteur de type digoxine* et à tenter d'élucider son rôle réel en physiologie, son impact sur la régulation calcique cellulaire, ses caractéristiques physico-chimiques et les raisons de la difficulté à isoler cette activité plasmatique.