

## Deux nouveaux gènes pour une forme héréditaire d'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle (HTA) représente l'exemple même d'une maladie complexe, soumise à des facteurs génétiques et environnementaux divers, dont il est très difficile d'identifier les gènes de susceptibilité [1, 2]. Comme pour les autres maladies à déterminisme complexe, l'analyse génétique de l'HTA essentielle commune nécessite des études à large échelle – études cas-témoins, études de fratries, études de familles nucléaires – afin d'effectuer avec une puissance suffisante un criblage du génome ou de tester des gènes candidats, gènes dont on peut supposer qu'ils ont un rôle dans le contrôle de la pression artérielle parce qu'ils codent pour des protéines, enzymes, récepteurs, transporteurs ioniques dont on connaît l'implication dans le contrôle du tonus vasculaire ou la réabsorption rénale hydrosodée.

Cependant, dans la quasi-totalité des cas, les locus identifiés par criblage du génome sont inconstants d'une étude à l'autre et les polymorphismes retrouvés sur les gènes candidats n'ont qu'un effet très modeste, voire pas d'effet du tout, sur la pression artérielle dans la population générale [3].

Une alternative est l'identification des gènes impliqués dans certaines formes rares mais caricaturales d'HTA, dont la transmission mendélienne facilite l'analyse génétique. Ont ainsi été identifiés les gènes responsables de quelques-unes de ces formes héréditaires d'HTA, à savoir l'hyperaldostérone sensible à la dexaméthasone (gènes codant pour la 11- $\beta$ -hydroxylase et l'aldostérone synthase), le syndrome de Liddle (gènes codant pour les sous-unités du canal sodium épithélial) (*m/s* 1996, n°

4, p. 540 et n° 6, p. 795) [4], l'HTA avec excès apparent de minéralocorticoïdes (gène de la 11- $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2) (*m/s* 1996, n° 5, p. 625) [5]. Bien que ces découvertes soient importantes, elles n'ont fait que confirmer l'importance physiopathologique de certains, récepteurs – enzymes ou transporteurs –, en particulier dans la réabsorption hydrosodée.

Une publication récente dans *Science* [6] décrit maintenant l'identification de deux gènes responsables d'une autre forme rare d'HTA héréditaire, appelée pseudohypoaldostérone de type II (PHAII). Elle a l'intérêt essentiel de révéler un rôle direct de gènes inattendus, codant pour une nouvelle famille de kinases, dans le contrôle de la pression artérielle.

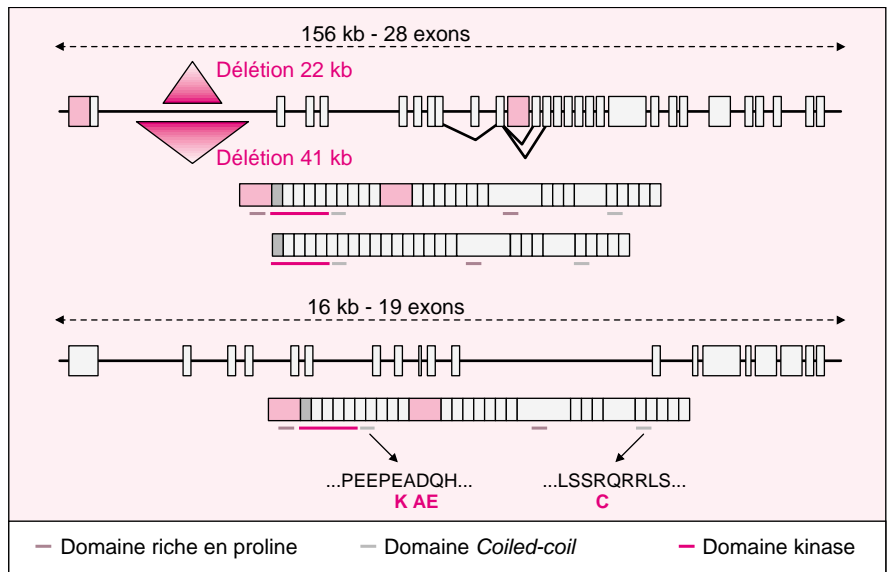


Figure 1. Structure de WNK1 et de WNK4. Le gène WNK1, de 156 kb, contient 28 exons et est à l'origine de deux transcrits de taille différente, résultant d'épissage alternatif, notamment de l'exon 1. La forme longue est exprimée de façon ubiquitaire tandis que la forme courte est exprimée majoritairement dans le rein. De grandes délétions dans le premier intron sont responsables d'une augmentation de l'expression de la forme courte. Le gène WNK4 code pour une protéine qui comporte plusieurs régions homologues de WNK1, dont un domaine kinase, deux domaines coiled-coil, et plusieurs régions riches en proline. Les mutations caractérisées chez les patients atteints de PHA2 sont des mutations faux-sens localisées dans une séquence très conservée proche des domaines coiled-coil.

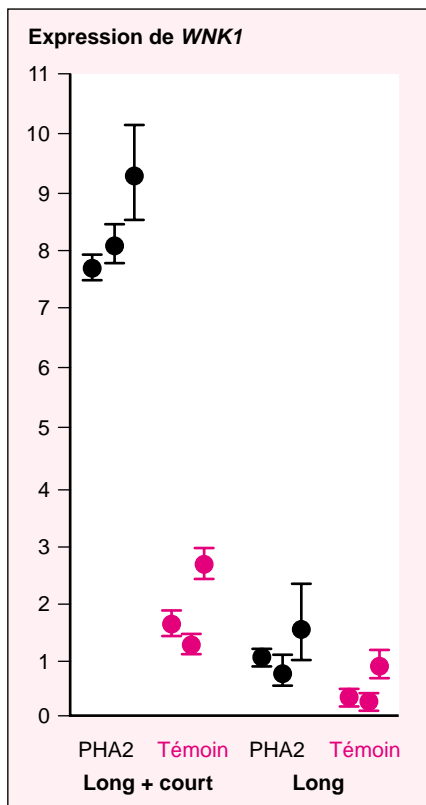


Figure 2. Expression de WNK1 dans le pseudohypoaldostéronisme de type II (PHA2). L'abondance des deux transcrits de WNK1 a été étudiée par PCR quantitative sur des leucocytes circulants. L'abondance du transcrit long (amplification d'un fragment de l'exon 1 présent uniquement dans la forme longue) est identique chez les sujets témoins et chez ceux atteints de PHA2. En revanche, chez les patients atteints, on observe une augmentation très nette d'un fragment commun aux deux transcrits (exons 6 et 7), ce qui témoigne de la surexpression du transcrit court.

### Le pseudohypoaldostéronisme de type II ou syndrome de Gordon

Le pseudohypoaldostéronisme de type II (PHAII), encore appelé syndrome de Gordon ou hypertension hyperkaliémique familiale, est une forme rare d'hypertension artérielle associant hyperkaliémie, acidose métabolique hyperchlorémique et filtration glomérulaire normale [7]. La transmission de cette maladie, appré-

ciée chez plus de 50 familles publiées dans la littérature est autosomique dominante [8]. Les désordres métaboliques sont en général au premier plan, et l'HTA est souvent modérée et inconstante. Une grande hétérogénéité clinique et biologique en fonction des apports alimentaires en chlorure de sodium [9], l'influence de l'âge sur le niveau de pression artérielle, l'absence de critère strict pathognomonique de l'affection sont des difficultés supplémentaires à la caractérisation de familles à partir de sujets atteints [10].

De fait, les mécanismes physiopathologiques à l'origine de la maladie restent controversés. La première hypothèse proposée par Gordon [7] a été celle d'une augmentation de la réabsorption de sodium dans les régions proximales du néphron, en amont du canal collecteur, principal site d'action de l'aldostérone. La diminution de la quantité de sodium délivrée au canal collecteur provoque alors une baisse de la réabsorption de sodium dépendante de l'aldostérone et de la sécrétion de potassium (qui est liée de façon indirecte au transport de sodium). Pour sa part, Schambelan [11] a proposé l'hypothèse d'un « shunt au chlore », lié à une réabsorption excessive de chlore au niveau du tubule distal, situé également en amont du site d'action de l'aldostérone. Ceci aurait pour conséquence l'annulation du gradient électrique trans-épithélial du canal collecteur. La disparition de l'électronégativité normale de la lumière dans ce segment diminuerait la sécrétion potassique et augmenterait la réabsorption sodique dépendante de l'aldostérone. Une troisième hypothèse est celle d'une anomalie primaire se situant sur les mécanismes de sécrétion rénale du potassium [12]. Quoi qu'il en soit, la très grande efficacité des diurétiques thiazidiques chez les sujets atteints, et le fait que la pathologie se présente comme le miroir du syndrome de Barter-Gitelman pour lequel des mutations inactivatrices du gène codant pour le cotransport Na-Cl sensible aux thiazides (NCCT) ont été démontrées [13], orientent très fortement vers une anomalie du transport de sodium sensible aux

thiazides. Cependant, aucune anomalie primaire de ce co-transporteur, ni aucune liaison génétique avec la portion correspondante du bras court du chromosome 16, où le gène est localisé, n'ont pu être mises en évidence pour les familles testées jusqu'à ce jour.

C'est dire tout l'intérêt d'une stratégie de génétique inverse dans cette pathologie, à partir de familles parfaitement caractérisées. En 1997, un premier criblage du génome effectué sur huit familles collectées par le groupe de Lifton permettait la mise en évidence de deux régions candidates sur les bras longs des chromosomes 1 et 17, les deux locus étant appelés PHA2A (1q32-q41) et PHA2B (17p11-q21) [14]. Plus récemment, le même type d'analyse effectué chez une grande famille du Nord de la France nous a permis de définir un troisième locus, appelé PHA2C, dans la région télomérique du bras court du chromosome 12 [15].

### Une nouvelle famille de sérine/thréonine kinases

Nous avons à présent identifié les deux gènes correspondant aux locus situés sur les chromosomes 12 et 17 [6]. Ces deux gènes, *WNK1* et *WNK4*, codent pour une nouvelle famille de sérine/thréonine kinases (*with no lysine (K) kinase*) exprimées essentiellement dans la partie distale du néphron. Récemment identifiées, elles sont encore mal caractérisées, et leurs mécanismes d'action moléculaire restent à identifier [16]. La stratégie d'identification de ces deux gènes illustre bien les apports considérables de la cartographie fine et du séquençage du génome humain dans l'identification rapide de gènes responsables de maladies héréditaires. En effet, c'est l'absence de ségrégation correcte d'un marqueur microsatellite, dans une des familles américaines, qui a permis de mettre en évidence chez cette famille une délétion intronique de 41 kb dans le gène *WNK1*, suggérant la possibilité d'un lien causal entre le gène et la maladie. La présence d'une délétion similaire (22 kb) chez la famille française liée au locus PHA2C, et la démon-

tration d'une augmentation de l'expression de *WNK1* associée à ces délétions apportaient la preuve du rôle causal de cette kinase dans la pathologie (figure 1). Dans un deuxième temps, la recherche bio-informatique d'un homologue de *WNK1* sur un des locus de PHA2, démontra la présence du gène *WNK4* en 17q12, correspondant à PHA2B. La recherche de mutations s'avéra positive pour 4 familles distinctes, apportant une confirmation supplémentaire que des mutations de ces deux kinases étaient bien responsables de la maladie.

La superfamille des protéine kinases contient plus de 1000 enzymes qui ont en commun un domaine kinase catalytique d'environ 300 acides aminés organisés en deux domaines [17]. Les WNK kinases se caractérisent par l'absence d'une lysine qui est normalement très conservée dans le sous-domaine II des protéine kinases, et dont la fonction dans l'activité catalytique est remplacée par une autre lysine présente dans le sous-domaine I [16]. Ces kinases ne semblent pas intervenir dans les voies classiques des MAP kinases et leur capacité d'auto-phosphorylation est influencée par les modifications de concentrations ioniques extracellulaires suggérant qu'elles sont impliquées dans des mécanismes de contrôle osmotique de la cellule.

Bien que *WNK1* et *WNK4* possèdent une homologie importante (> 70%) au niveau de leur domaine kinase et soient impliqués dans la même maladie, leur mécanisme d'action pourrait être différent. Le gène *WNK1* est étendu sur plus de 150 kb, comprend 28 exons et est à l'origine de deux transcrits d'environ 10 et 12 kb. Le gène *WNK4* qui comprend 19 exons répartis sur 16 kb est à l'origine d'un seul transcrit de 4,5 kb. Les deux gènes codent pour plusieurs régions similaires dont un domaine kinase dont la lysine catalytique dans le sous-domaine II est remplacé par une cystéine, deux domaines *coiled-coil*, plusieurs sites de phosphorylation et plusieurs domaines riches en proline. *WNK1* est exprimé de façon ubiquitaire, mais l'expression la plus forte se situe dans le rein, le cœur, le muscle, et le cerveau. Le transcrit

long de 12 kb est très largement majoritaire dans tous les tissus, excepté dans le rein. Le transcrit court, probablement sous la dépendance d'un contrôle rénal spécifique, est surexprimé dans le syndrome de Gordon (figure 2). En revanche, *WNK4* est exprimé uniquement dans le rein et les mutations responsables du PHA2 sont des mutations faux-sens groupées dans une séquence très conservée d'environ 10 acides aminés, et proche des domaines *coiled-coil*. Ces mutations, associées à des changements de charge, modifieraient l'interaction de *WNK4* avec un partenaire possiblement membranaire. En effet, si les deux protéines *WNK1* et *WNK4* sont exprimées toutes deux au niveau du tubule rénal distal et du canal collecteur, *WNK1* est essentiellement cytoplasmique, tandis que *WNK4* est exprimée surtout à la membrane, au niveau de zones particulières appelées jonctions serrées. Les altérations de *WNK1* et *WNK4* sont probablement responsables d'un gain de fonction, mais par des mécanismes différents. Pour *WNK1*, il s'agit de grandes délétions introniques qui entraînent une augmentation de l'expression de la protéine, tandis que pour *WNK4*, les mutations faux-sens dans des régions très conservées du gène pourraient perturber sa localisation cellulaire et augmenter sa concentration cellulaire dans les cellules du néphron distal. Cependant, il est difficile pour le moment d'aller plus loin dans le mécanisme d'action moléculaire de ces kinases dont les substrats et partenaires ne sont pas encore identifiés.

Au total, l'identification de *WNK1* et *WNK4* comme responsables de cette forme particulière d'hypertension artérielle permet de révéler l'implication de gènes inattendus dans le contrôle du transport ionique et de la pression artérielle. A l'évidence, elle ouvre la porte à de nombreux travaux qui permettront de mieux comprendre le mécanisme d'action physiologique de cette nouvelle famille de sérine/thréonine kinases. La localisation possible d'un gène de susceptibilité pour l'HTA essentielle au niveau du locus PHA2B [18, 19], la sensibilité de près de la moitié des sujets hyper-

tendus aux diurétiques thiazidiques suggèrent aussi la possibilité de mécanismes communs entre cette maladie rare et l'hypertension artérielle commune de la population ■

## RÉFÉRENCES

1. Luft FC. Molecular genetics of human hypertension. *J Hypertens* 1998; 16: 1871-8.
2. Bonnardeaux A. Génétique de l'hypertension artérielle essentielle. *Med Sci* 1996; 12: 575-81.
3. Corvol P, Persu A, Gimenez-Roqueplo AP, Jeunemaitre X. Seven lessons from two candidate genes in human essential hypertension: angiotensinogen and epithelial sodium channel. *Hypertension* 1999; 33: 1324-31.
4. Lifton RP. Molecular genetics of human blood pressure variation. *Science* 1996; 272: 676-80.
5. Mune T, Rogerson FM, Nikkila H, Agarwal AK, White PC. Human hypertension caused by mutations in the kidney isozyme of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *Nat Genet* 1995; 10: 394-9.
6. Wilson FH, Disse-Nicodème S, Choate KA, et al. Human hypertension caused by mutations in WNK kinases. *Science* 2001; 293: 1107-12.
7. Gordon R. The syndrome of hypertension and hyperkalemia with normal GFR. A unique pathophysiological mechanism for hypertension? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1986; 13: 329-33.
8. Gordon RD, Klemm SA, Tunny TJ, et al. Gordon's syndrome: a sodium-volume-dependent form of hypertension with a genetic basis. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. *Hypertension: pathology, diagnosis and management*. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press Ltd, 1995: 2111-3.
9. Isenring P, Lebel M, Grose JH. Endocrine sodium and volume regulation in familial hyperkalemia with hypertension. *Hypertension* 1992; 19: 371-7.
10. Disse-Nicodème S, Achard JM, Potier J, et al. Familial hyperkalemic hypertension (Gordon's syndrome): phenotypic variability over seven families. *Adv Nephrol* 2001 (sous presse).
11. Schambelan M, Sebastian A, Rector FJ. Mineralocorticoid-resistant renal hyperkalemia without salt wasting (type II pseudohypoaldosteronism): role of increased renal chloride reabsorption. *Kidney Int* 1981; 19: 716-27.

## RÉFÉRENCES

12. Brautbar N, Levi J, Rosler A, *et al.* Familial hyperkalemia, hypertension, and hyporeninemia with normal aldosterone levels. A tubular defect in potassium handling. *Arch Intern Med* 1978; 138: 607-10.
13. Simon DB, Nelson-Williams C, Bia MJ, *et al.* Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalaemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nat Genet* 1996; 12: 24-30.
14. Mansfield TA, Simon DB, Farfel Z, *et al.* Multilocus linkage of familial hyperkalemia and hypertension, pseudohypoaldosteronism type II, to chromosomes 1q31-42 and 17p11-q21. *Nat Genet* 1997; 16: 202-5.
15. Disse-Nicodeme S, Achard JM, Desitter I, *et al.* A new locus on chromosome 12p13.3 for pseudohypoaldosteronism type II, an autosomal dominant form of hypertension. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 302-10.
16. Xu B, English JM, Wilsbacher JL, Stippec S, Goldsmith EJ, Cobb MH. WNK1, a novel mammalian serine/threonine protein kinase lacking the catalytic lysine in subdomain II. *J Biol Chem* 2000; 275: 16795-801.
17. Plowman GD, Sudarsanam S, Bingham J, Whyte D, Hunter T. The protein kinases of *Caenorhabditis elegans*: a model for signal transduction in multicellular organisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 13603-10.
18. Julier C, Delepine M, Keavney B, *et al.* Genetic susceptibility for human familial essential hypertension in a region of homology with blood pressure linkage on rat chromosome 10. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 2077-85.
19. Levy D, DeStefano AL, Larson MG, *et al.* Evidence for a gene influencing blood pressure on chromosome 17. Genome scan linkage results for longitudinal blood pressure phenotypes in subjects from the Framingham Heart Study. *Hypertension* 2000; 36: 477-83.

**Sandra Disse-Nicodème**  
**Pierre Corvol**  
**Xavier Jeunemaitre**

*Inserm U. 36, Collège de France, 11, place Marcelin-Berthelot, 75005 Paris, France.*  
*e-mail: xavier.jeunemaitre@college-de-france.fr*

**Jean-Michel Achard**

*Laboratoire de physiologie, Hôpital Dupuytren, CHU de Limoges, 2, avenue Martin-Luther-King, 87042, Limoges, France.*  
*e-mail: jean-michel.achard@unilim.fr*

## TIRÉS À PART

X. Jeunemaitre.

Gérard GRASSY, Président du Comité Scientifique  
Délégué Régional à la Recherche et à la Technologie  
Languedoc-Roussillon – Ministère de la Recherche

Patrick ARPINO	ENSCP, Paris – SFC
Claude BALNY	Inserm, Montpellier – SFB
Marcel CAUDE	ESPCI, Paris – AFSEP
François CHALLOT	DRRT – LR CIRAD
Anne-Marie de KERSABIEC	Université Paris VI, Cnrs
Philippe DESSEN	Cnrs – SFBBM
Marc DEVEAUX	IML, Lille – SFTA
Philippe GARRIGUES	Université Bordeaux I, SFC
Marie-Claire HENNIION	ESPCI, Paris – AFSEP
Pascal KINTZ	IML, Strasbourg – SFTA
Olivier LAFONT	Université, Rouen – SCT
Jean-Michel MERMET	Université, Lyon I
Catherine NGUYEN	Inserm, Marseille
Gabriel PELTRE	Institut Pasteur, Paris – SFE
Valérie PICHON	ESPCI, Paris – AFSEP
Jean RABIAN	SFSTP, Paris
Didier THIÉBAUT	ESPCI, Paris – AFSEP
Jérôme VIAL	ESPCI, Paris

### ORGANISATION

CIFL Jean-Christophe HATINGUAIS et Christian TINET  
MCI Maryse DELERIS