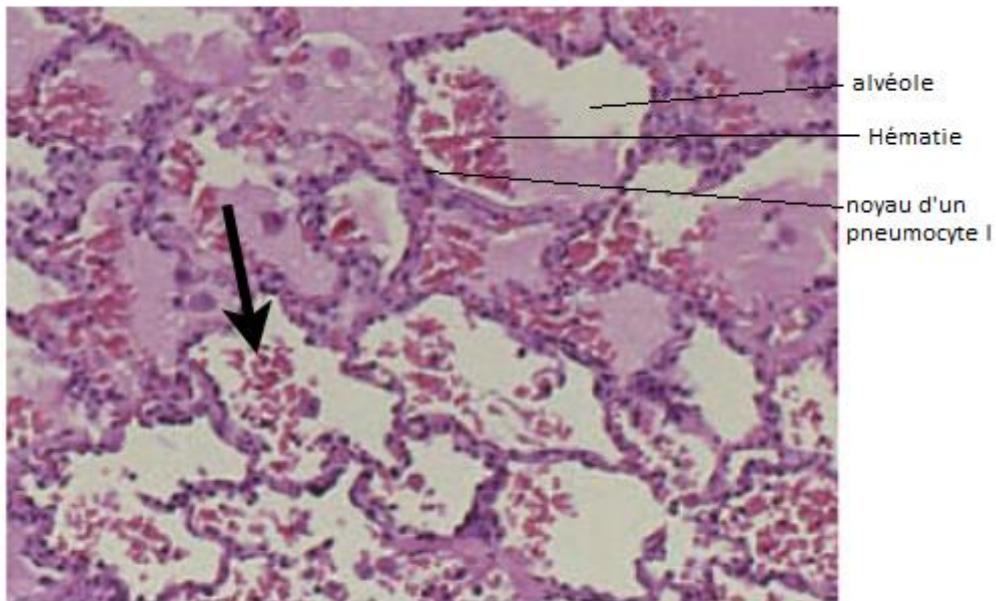


Exercice pour les cubes (extrait sujet concours commun TB 2011)

L'œdème pulmonaire résulte de la diffusion de liquide d'origine plasmatique dans les voies respiratoires. L'OPHA est la plus fréquente des maladies d'altitude : il survient dans les premiers jours lors d'une ascension rapide.

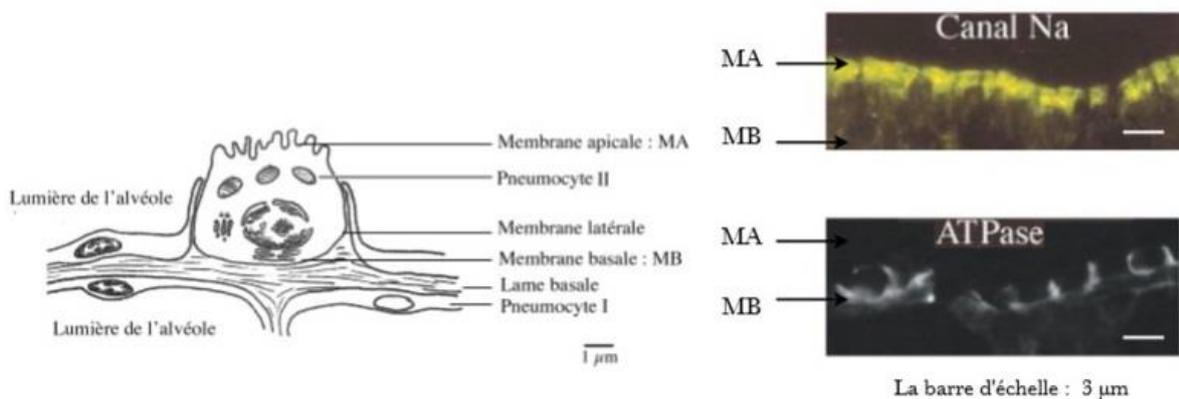
Les sujets présentent au départ des difficultés à respirer à l'effort puis de façon permanente. Ces difficultés s'accompagnent d'une toux qui libère un liquide mousseux. Ce liquide correspond au fluide alvéolaire qui est un liquide extracellulaire : celui-ci peut être rose en raison de la présence d'hématies. La figure ci-dessous montre la présence de liquide et d'hématies dans les alvéoles sur une coupe de poumon d'un individu atteint d'OPHA.



Coupe de poumon d'un sujet atteint d'OPHA (x200)

1. Légendez le plus précisément possible la figure ci-dessus

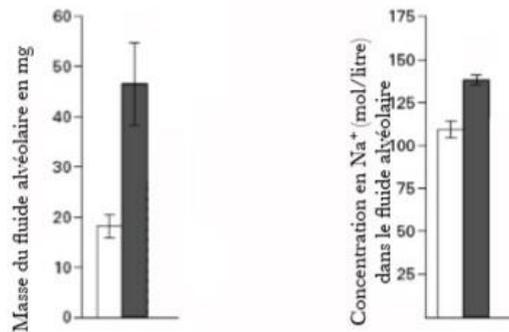
On cherche à identifier le rôle des canaux Na^+ et de la pompe Na^+/K^+ ATPase dans le contrôle du fluide respiratoire.



Document 1 : Localisation par immunofluorescence des canaux Na^+ et des pompes Na^+/K^+ ATPases dans un épithélium alvéolaire.

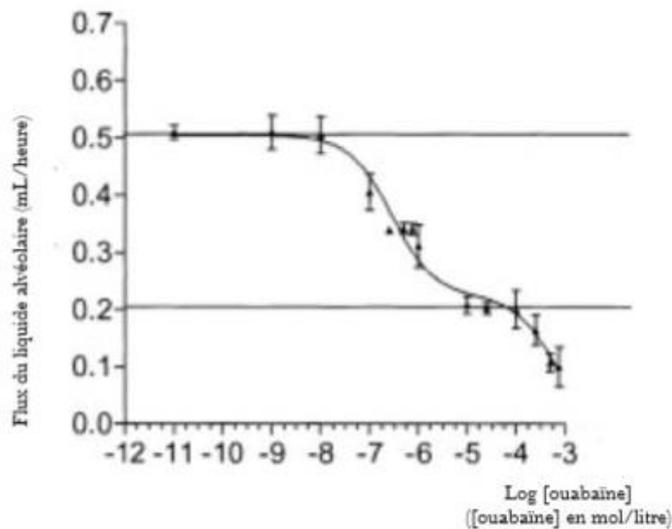
Masse et composition du fluide alvéolaire chez :

- des individus sains : barres blanches
- des individus ayant des mutations inactivant les gènes codant le canal à Na^+ : barres noires



Document 2 : Caractéristiques des fluides alvéolaires chez des individus sains et des individus pour lesquels les canaux Na^+ sont inactivés.

On étudie le flux du fluide alvéolaire vers les vaisseaux en présence d'ouabaine, un inhibiteur spécifique de l'ATPase Na^+/K^+ .



On ne tiendra pas compte de la rupture de pente pour la concentration en ouabaine de 10^{-6} mol/L.

Document 3 : Flux alvéolaire vers les capillaires en présence de ouabaine (expériences réalisées chez le rat)

Expliquez, à partir des interprétations des résultats des expériences présentées dans les trois documents, comment les canaux Na^+ et pompes Na^+/K^+ ATPases interviennent sur la quantité et la composition du fluide alvéolaire.

Document 1 : La technique d'immunofluorescence révèle la présence des canaux ioniques Na^+ sur la face apicale des cellules épithéliales et la présence des pompes Na^+/K^+ . Il existe donc une régionalisation de la membrane plasmique de ces cellules.

Document 2 : la masse de liquide alvéolaire est au moins deux fois plus importante chez les individus porteurs d'une mutation inactivant les canaux Na⁺. Chez ces mêmes individus la quantité de Na⁺ dans ce liquide est également supérieure d'environ 20%.

Document 3 : On constate que l'ajout d'ouabaïne diminue le flux alvéolaire vers les vaisseaux. Cet effet est dose dépendant plus la concentration en ouabaïne est élevée plus le flux diminue. L'inactivation des pompes Na⁺/K⁺ ATPase entraînant la diminution du flux, on peut faire l'hypothèse que le flux est sous la dépendance des pompes Na⁺/K⁺ ATPases.

On peut proposer le modèle explicatif suivant pour le fonctionnement des pneumocytes II :

En expulsant du Na⁺ dans les vaisseaux sanguins, les pompes permettent le maintien d'un gradient de Na⁺ entre la lumière de l'alvéole et celle des vaisseaux. Ce gradient est à l'origine d'un flux par osmose du liquide alvéolaire de la lumière de l'alvéole vers le sang par osmose. (schéma)

Altitude (m)	Pression atmosphérique (mmHg)	PO ₂ dans l'air inspiré (mmHg)
0	760	149
1000	679	132
2000	604	117
3000	537	103
4000	475	90
5000	420	78
8848	253	43

Document 4 : Lien entre altitude , pression atmosphérique et pression partielle en dioxygène

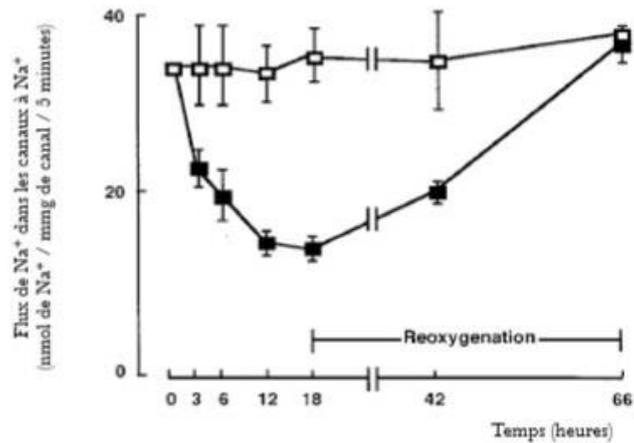
Pour comprendre le rôle de l'hypoxie (ou manque d'oxygène) dans la formation d'œdème respiratoire, l'activité des canaux à Na^+ de l'épithélium alvéolaire est mesurée dans différentes conditions d'oxygénation :

- courbe blanche : cellules placées dans une atmosphère à 21% de dioxygène en continu

- courbe noire :

- de 0 à 18h00 : cellules épithéliales placées dans une atmosphère à 0% de dioxygène

- de 18h00 à 66 h00 : cellules placées dans une atmosphère à 21% de dioxygène (indiqué par "Reoxygenation" sur le graphe)



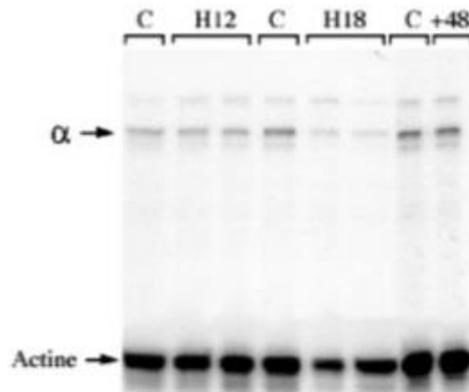
Document 5 : Etude du flux de Na^+ dans différentes situations expérimentales.

Le canal Na^+ est constitué de plusieurs sous unités dont la sous unité α . L'expression de cette sous unité est étudiée par Northern blot. Les ARN totaux sont extraits puis hybridés avec une sonde spécifique de cette sous unité.

Diverses situations expérimentales sont testées, le résultat est indiqué sur le document 6 de la page suivante

L'expérience est réalisée sur :

- des cellules exposées à une atmosphère à 21% de dioxygène en continu : C
- des cellules exposées à une atmosphère à 21% de dioxygène puis exposées pendant 12h00 à une atmosphère à 0% de dioxygène : H12
- des cellules exposées à une atmosphère à 21% de dioxygène puis exposées pendant 18h00 à une atmosphère à 0% de dioxygène : H18
- des cellules exposées à une atmosphère à 0% de dioxygène pendant 12h00 puis exposée à une atmosphère à 21% de dioxygène pendant 48h00 : +48



Document 6 : Résultats du Northern blot

On étudie l'activité de l'ATPase Na+/K+ ainsi que son abondance dans les cellules épithéliales alvéolaires en absence de dioxygène.

Les résultats sont présentés dans le document 7 ci-dessous :

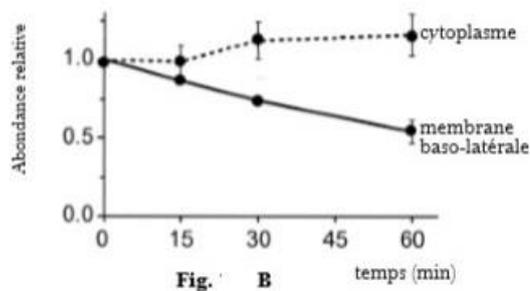
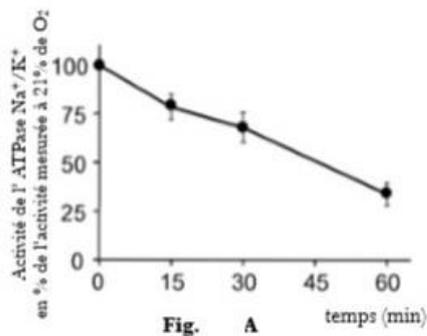
Dans les deux expériences, le temps 0 correspond au passage d'une atmosphère contenant 21% de dioxygène à une atmosphère sans dioxygène.

Figure A : Mesure de l'activité de l'ATPase Na+/K+

Figure B : Mesure de l'abondance de la sous unité α de l'ATPase Na+/K+ dans :

- les membranes basales et latérales (voir document 1.1) des cellules de l'épithélium alvéolaire : trait plein
- la fraction cytoplasmique : traits en pointillés

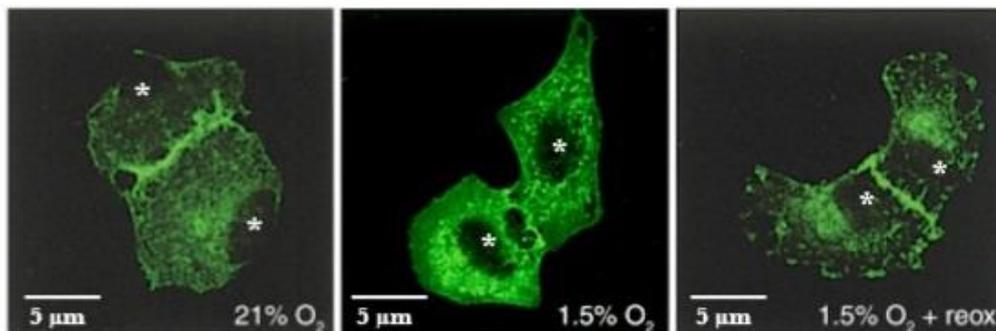
Les résultats sont présentés sous forme d'un graphique indiquant l'abondance relative de la protéine par rapport à celle mesurée au temps t=0 de l'expérience.



Document 7 : Activité des ATPases Na+/K+

Cette étude est réalisée sur des cellules épithéliales alvéolaires génétiquement modifiées qui possèdent un gène rapporteur. Le gène codant la green fluorescent protein (GFP) est placé en aval des séquences régulatrices du gène codant l'une des sous unités de l'ATPase Na^+/K^+ . Les résultats sont observés sous microscope confocal qui permet de faire la mise au point dans un plan intracellulaire.

- C1 : cellules épithéliales placées dans une atmosphère à 21% de dioxygène
- C2 : cellules épithéliales placées dans une atmosphère à 1,5% de dioxygène
- C3 : cellules épithéliales placées dans une atmosphère à 1,5% de dioxygène puis à 21% de dioxygène (noté "reox")



Les * indiquent les positions des noyaux des cellules.

On ne tiendra pas compte de la position relative des deux cellules (les cellules en culture peuvent s'associer différemment des cellules de l'épithélium alvéolaire *in vivo*).

Document 8 : localisation de l'ATPase en conditions d'hypoxie

Utilisez les documents 4 à 8 pour montrer comment l'altitude perturbe le fonctionnement de l'épithélium alvéolaire.

D'après les informations du tableau du document 4 l'augmentation d'altitude entraîne une diminution de la pression partielle en dioxygène. A 5000 m d'altitude, la pression partielle en O_2 est ainsi diminuée de moitié par rapport à la pression partielle au niveau de la mer.

Le document 5 montre que l'hypoxie entraîne une diminution du flux de Na^+ .

Interprétation : l'hypoxie inhibe le fonctionnement des canaux Na^+ , cette inhibition est réversible puisque le flux revient à la valeur normale lorsque les cellules sont réoxygénées.

Les résultats du northern blot du document 6 montrent que l'expression de la sous unité alpha est moins importante lorsque les cellules sont placées en hypoxie pendant 18h (H18) ce qui suggère qu'en conditions d'hypoxie les sous unités alpha donc les canaux Na^+ sont moins nombreux. Ce qui explique la diminution du flux de Na^+ observée. D'autre part, lorsque les cellules après avoir été mises en conditions d'hypoxie sont placées dans des conditions d'oxygénation normales (21% d' O_2), l'expression des sous unités alpha est identique à celle des témoins (+48) h.

Conclusion provisoire : l'hypoxie entraîne une diminution de la quantité de canaux à Na^+ en inhibant l'expression du gène de la sous unité alpha du canal. Cette inhibition est réversible.

Le document 7 A permet de constater que l'activité de la pompe Na⁺/ K⁺ diminue en conditions d'hypoxie puisqu'au bout d'une heure, elle n'est plus que de 25% de son activité en conditions d'oxygénation normale. Le document 7B montre une diminution de l'abondance des pompes Na⁺/K dans la membrane basolatérale des cellules alvéolaires de l'ordre de 50% après une heure en conditions d'hypoxie. Dans ce même temps la quantité d'ATPases reste constante puis augmente dans le cytoplasme.

Hypothèse : l'hypoxie provoque une délocalisation des ATPases, celles-ci s'accumulent dans le cytoplasme au lieu de rejoindre les membranes basolatérales. Localisées dans le cytoplasme les ATPases ne permettent plus le transport du Na⁺.

Les données du document 8 confirment cette hypothèse puisque l'on observe que les ATPases se localisent dans le cytoplasme des cellules placées en conditions d'hypoxie (1,5% d'O₂ dans les conditions B). Le document 8 montre aussi que ce phénomène est réversible puisqu'en milieu réoxygéné les ATPases se relocalisent au niveau des membranes.

Conclusion : Ainsi l'hypoxie, pouvant survenir après une ascension rapide, provoque une diminution de l'expression des canaux sodiques et une modification de l'adressage des pompes Na⁺ K⁺ ATPases ; les flux de Na⁺ sont perturbés et les fluides restent, s'accumulent dans les alvéoles pulmonaires pouvant être à l'origine des œdèmes.