



● Stress oxydant dans le rein de la drépanocytose

L'insuffisance rénale chronique est une complication majeure de la drépanocytose, qui peut conduire à l'urémie terminale (environ 20% des patients ayant des signes de néphropathie atteindront ce stade). Les traits caractéristiques de la néphropathie drépanocytaire sont d'une part la vaso-occlusion et l'hypoperfusion médullaire, d'autre part l'augmentation de la perfusion corticale et du débit de filtration glomérulaire (DFG). Les mécanismes reliant les phénomènes hémodynamiques et les lésions fibreuses et inflammatoires de la néphropathie constituée sont mal connus. Nath et coll.¹ ont étudié le rôle des métabolites actifs de l'oxygène – à l'origine du stress oxydant – chez la souris transgénique produisant l'hémoglobine S, et chez des patients drépanocytaires. L'hypothèse de base était que l'hémoglobine S se scindant facilement libérait de l'hème lipophile pro-oxydant.

Les index mesurés du stress oxydant étaient les suivants : dans le rein de la souris : peroxydation lipidique et contenu en hème du tissu rénal homogénéisé ; expression de l'enzyme protectrice hème oxygénase HO-1, induite par les oxydants, qui dégrade l'hème en biliverdine ; chez l'homme : l'expression de cette enzyme dans le rein d'un patient décédé et dans les cellules endothéliales circulantes. On sait que ces dernières sont augmentées dans la drépanocytose.²

Les résultats ont été les suivants chez la souris : 1) la créatinémie des souris transgéniques était plus basse que celle des témoins, reflétant très probablement l'augmentation du DFG. Il existait une congestion médullaire mais pas de lésions de fibrose ou de sclérose glomérulaire ; 2) la peroxydation lipidique et le contenu en hème des reins étaient augmentés ; 3) l'activité HO-1 ($\times 1,3$) et son ARN messenger ($\times 5$) étaient augmentés dans les microsomes des reins des souris transgéniques, traduisant la dégradation d'un contenu excessif d'hème dans le rein, et indirectement l'existence d'un stress oxydant accru ; 4) des souris transgéniques ont reçu une substance pro-oxydante, le BSO, qui provoque une déplétion en thiols, entraînant consécutivement dans ce groupe d'animaux, comparativement aux animaux non traités, une aggravation et une extension de la congestion artériolo-capillaire, qui débordait la médullaire pour atteindre le cortex rénal.

Dans le rein du patient décédé l'enzyme HO-1 était exprimée dans les tubules et les cellules interstitielles alors qu'elle n'était pas exprimée dans le rein humain normal. Dans les cellules endothéliales humaines circulantes, l'enzyme HO-1 (testée par la méthode à l'immunoperoxydase) était exprimée plus fortement chez les patients drépanocytaires que chez les témoins normaux.

Les auteurs soulignent que le stress oxydant peut être favorisé par divers facteurs :

a) l'association d'un contenu excessif du rein en hème provenant de la scission de l'hémoglobine et d'un accroissement de la consommation d'oxygène par les tubules rénaux rendue nécessaire par l'augmentation obligée de la réabsorption de sodium consécutive à celle du DFG ;

b) des concentrations plasmatiques élevées de cytokines pro-oxydantes, par exemple le TNF α et l'interleukine 6 ;

c) des phénomènes d'ischémie-reperfusion ;

d) la génération de formes actives de l'oxygène par les hématies falciformées elles-mêmes ou les cellules endothéliales auxquelles elles adhèrent.

Les auteurs suggèrent que le stress oxydant est un des éléments de l'état inflammatoire qui caractérise la drépanocytose avec d'autres facteurs comme par exemple l'hyperleucocytose et l'expression accrue des molécules d'adhérence dans les cellules endothéliales.

Un point remarquable est l'absence de fibrose glomérulaire et rénale chez les souris transgéniques, qui pourrait avoir sa contrepartie chez l'homme, seulement 20% des patients environ développant une néphropathie. Deux explications sont suggérées par les auteurs :

- la surexpression rénale de HO-1 qui a un effet protecteur ; la moindre prédisposition de la souris – comparativement au rat – à développer une glomérulosclérose et une fibrose interstitielle (par exemple après réduction néphronique).

Au total cette étude ouvre des perspectives pour l'investigation (et à terme le traitement ?) de la néphropathie et d'autres complications viscérales de la drépanocytose. Elle attire aussi l'attention sur un rôle possible du stress oxydant dans les lésions vasculorénales d'autres néphropathies et les moyens de sa détection.

Adresse de correspondance :

Dr Alain Kanfer
Hôpital de jour de médecine
Hôpital Tenon
4, rue de la Chine
F-75020 Paris



Références

1. Nath KA, Grande JP, Haggard JJ, Croatt AJ, Katusic ZS, Solovey A, Heibel RP. Oxidative stress and induction of heme oxygenase-1 in the kidney in sickle cell disease. *Am J Pathol* 2001 ; 158 : 893-903.
2. Solovy A, Lin Y, Browne P, Wayner E, Heibel RP. Circulating endothelial cells in sickle cell anemia. *N Engl J Med* 1997 ; 337 : 1584-90.

● Une nouvelle chymase des cellules musculaires lisses est exprimée au cours de l'hypertension artérielle

Le système rénine-angiotensine joue un rôle essentiel dans le contrôle de la pression artérielle et de l'équilibre hydro-sodé. La succession de réactions protéolytiques qui transforment l'angiotensinogène en angiotensine I (Ang I) puis angiotensine II (Ang II) dépend de plusieurs enzymes. La rénine est une aspartyl-protéase qui clive l'angiotensinogène en Ang I. L'Ang I peut être transformée en Ang II par de nombreuses enzymes¹ mais en physiologie, les plus importantes sont l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) et la chymase. L'angiotensine II est le principal peptide biologiquement actif et ses effets sont médiés par les récepteurs AT1 et AT2. L'enzyme de conversion et la chymase appartiennent à des familles d'enzymes différentes. L'enzyme de conversion est ubiquitaire et appartient à la famille des métalloprotéases. La forme membranaire de l'ECA est présente sur de nombreuses cellules dont les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et épithéliales. Il existe aussi une forme soluble, plasmatique, sécrétée par les cellules endothéliales. Les chymases appartiennent à la famille des sérine-protéases, proches de la chymotrypsine. Il en existe plusieurs isoformes classées en deux sous-groupes, α -chymase et β -chymase. Les chymases ont été retrouvées dans les mastocytes et les cellules endothéliales cardiaques, il n'existe pas de forme circulante. Les chymases génèrent l'Ang II de façon beaucoup plus efficace que l'enzyme de conversion.² Puisque les parois vasculaires sont les sites principaux de formation et d'action de l'Ang II, l'absence de synthèse locale de chymase, à l'exception des vaisseaux myocardiques, était étonnante. Guo et coll.³ ont fait l'hypothèse que d'autres cellules vasculaires, et en particulier les cellules musculaires lisses vasculaires pouvaient synthétiser une chymase. Leur hypothèse était juste, et ce groupe vient de cloner chez le rat une nouvelle forme de chymase, synthétisée spécifiquement par les cellules musculaires lisses vasculaires (RVCH: rat vascular chymase) et dont l'expression est augmentée dans les cellules musculaires lisses vasculaires d'une lignée de rats spontanément hypertendus.

Le clonage de cette nouvelle chymase a été effectué à partir d'ADN complémentaire (ADNc) de cellules musculaires lisses d'artère pulmonaire de rat. La stratégie employée est la suivante: extraction des ARN totaux et transcription inverse de tous les ARNm en ADNc, puis amplification des ADNc par PCR en utilisant en 3' une amorce complémentaire d'une séquence adaptatrice introduite au cours de la transcription inverse, et en 5', une amorce complémentaire d'une séquence conservée et commune à toutes les sérine-protéases, permettant ainsi une amplification spécifique des sérine-protéases. Parmi tous les ADNc amplifiés et séquencés, un ADNc ayant une homologie significative de 84% avec la chymase des mastocytes de rat a été sélectionné et son intégralité établie par la technique de PCR nichée (5'RACE PCR). Cet ADNc complet code pour une protéine de 247 acides-aminoés et de poids moléculaire 30 000 Da. L'identité du clone isolé a été établie par des expériences de transfection stable d'une lignée cellulaire et en testant la capacité des extraits cellulaires à transformer l'angiotensine I en angiotensine II et l'inhibition de cette activité par la chymostatine, un inhibiteur spécifique de l'activité chymase. Les études par Southern blot montrent que le gène codant pour cette nouvelle chymase est distinct des gènes codant pour les chymases déjà décrites. L'ARNm de RVCH n'est pas détectable par RT-PCR dans les tissus sains entiers, le poumon, le cœur, le rein ou bien le foie, mais la protéine ainsi que l'ARNm RVCH sont présents dans les cellules musculaires lisses

en cultures isolées de l'artère pulmonaire et de l'aorte de rat normal. De même, l'ARNm de RVCH peut être mis en évidence par hybridation in situ au niveau des cellules musculaires lisses d'artères pulmonaires de rat atteints d'hypertension pulmonaire provoquée par injection de toxine microtalline, suggérant que son expression peut être induite dans des cellules proliférant de manière active, comme les cellules en culture ou bien les cellules musculaires lisses d'artères pulmonaires hypertrophiques.

Il est intéressant de noter que des taux plus élevés d'ARNm et de protéine de RVCH sont retrouvés dans les cellules musculaires lisses cultivées à partir d'artères pulmonaires et d'aorte de rat de la lignée SHR, spontanément hypertendus, comparés aux cellules des rats contrôles. De plus, cette augmentation d'expression de la RVCH semble corrélée à l'augmentation d'une activité chymase et de conversion d'angiotensine I en angiotensine II, conduisant les auteurs à faire l'hypothèse d'une relation entre une expression augmentée de RVCH et l'existence de l'hypertension artérielle pulmonaire.

Ce groupe est allé encore plus loin dans la démonstration du rôle physiopathologique de la RVCH dans l'hypertension artérielle, en générant des souris transgéniques surexprimant cette chymase spécifiquement dans les cellules musculaires lisses vasculaires. Les souris transgéniques pour la RVCH souffrent d'hypertension systémique sévère, comparable à celle des rats transgéniques pour la rénine et l'angiotensinogène humains, ou bien des rats invalidés pour le gène de la NO synthase endothéliale. L'hypertension s'accompagne d'une prolifération des cellules musculaires lisses et d'un épaississement des média aortiques et des artères mésentériques.⁴

Tous ces résultats suggèrent que la chymase des cellules musculaires lisses vasculaires joue un rôle dans la physiopathologie de l'hypertension artérielle systémique. Des inhibiteurs spécifiques de cette chymase pourraient constituer une nouvelle classe thérapeutique d'anti-hypertenseurs.

Adresse de correspondance:

Dr Geneviève Nguyen
Directeur de recherche
INSERM U489
Hôpital Tenon
4, Rue de la Chine
F-75020 Paris



Références

1. Akasu M, Urata H, Kinoshita A, Sasaguri M, Ideishi M, Arakawa K. Differences in tissue angiotensin II-forming pathways by species and organs in vitro. *Hypertension* 1998; 32: 514-20.
2. Urata H, Kinoshita A, Misono KS, Bumpus FM, Husain A. Identification of a highly specific chymase as the major angiotensin II-forming enzyme in the human heart. *J Biol Chem* 1990; 265: 22348-57.
3. Guo C, Ju H, Leung D, Massaelli H, Shi M, Rabinovitch M. A novel vascular smooth muscle chymase is upregulated in hypertensive rats. *J Clin Invest* 2001; 107: 703-15.
4. Ju H, Gros R, You X, Tsang S, Husain M, Rabinovitch M. Conditional and targeted overexpression of vascular chymase causes hypertension in transgenic mice. *Proceed Natl Acad Sci USA* 2001; 13: 7469-74.