

Unité de néphrologie expérimentale facultaire : état des lieux et projets d'avenir

Experimental nephrology Unit : overview and research projects

**M. Deschodt-Lanckman¹, M.-H. Antoine¹, F. Debelle^{1,2}, A. Pozdzik^{1,2},
K. Gastaldello^{1,2}, I. Simon^{1,2}, C. Husson¹, E. De Prez¹, C. Tielemans^{1,2}
et J. Nortier^{1,2}**

¹ Unité de Néphrologie expérimentale, Laboratoire d'Hormonologie expérimentale, Faculté de Médecine, U.L.B. ;

² Service de Néphrologie, Dialyse et Transplantation rénale, Hôpital Erasme, U.L.B.

RESUME

Après un bref historique du Laboratoire, les thèmes de recherche – toxicologie rénale, physiopathologie de la fibrose interstitielle rénale et hormonologie – sont abordés dans la perspective d'un partenariat entre cliniciens chercheurs et chercheurs à temps plein. Les collaborations scientifiques nationales et internationales reflètent la nécessaire mise en commun des compétences, stimulant aussi l'apprentissage des plus jeunes à l'approche expérimentale de leur discipline future.

Rev Med Brux 2008 ; 29 (Suppl) : S 45-8

ABSTRACT

After a short historical background of the Laboratory, the main research topics – renal toxicology, physiopathology of renal interstitial fibrosis and hormonology – are described in the perspective of a partnership between research clinicians and full time scientists. National as well as international scientific collaborations underline the need of combining expertises, stimulating also the training of youngest colleagues to the experimental approach of their future discipline.

Rev Med Brux 2008 ; 29 (Suppl) : S 45-8

Key words : experimental nephrology, renal toxicology, renal interstitial fibrosis, hormonology

HISTORIQUE DU LABORATOIRE

Le **Laboratoire Pluridisciplinaire de Recherche Expérimentale Biomédicale** (LPREB) a été créé en octobre 1983 sous l'impulsion du Pr C. Toussaint. Il regroupait différentes unités de recherche fréquentées par des médecins de l'hôpital Erasme (Drs M. Goldman, D. Abramowicz, P. Kinnaert, J.L. Vanherweghem, R. Naeije, A. Detroyer, J.L. Vincent, T. Appelboom...). Une Unité de recherche centrée sur l'étude du métabolisme enzymatique des peptides était dirigée par M. Deschodt-Lanckman, laquelle assumait en outre la direction administrative et la coordination du laboratoire. Une Unité de néphrologie expérimentale a d'emblée fait partie du LPREB, notamment pour des études physiopathologiques menées sur la préparation de rein de chien isolé et perfusé artificiellement (N. Bourgeois et J.L. Vanherweghem).

Après plusieurs phases d'évolution, notamment la création en 1995 du Laboratoire d'Immunologie Expérimentale (Directeur Dr M. Goldman), l'Unité de recherche dirigée par M. Deschodt-Lanckman a été reconnue officiellement sous l'appellation de **Laboratoire de Recherche sur le Métabolisme des Peptides (LRMP)**, sur proposition de la Commission de la Recherche facultaire. Ce laboratoire a été fréquenté par les néphrologues – seniors, doctorants, mémorants en formation de Médecine interne ou Néphrologie – de l'hôpital. Depuis le départ à la retraite de M. Deschodt-Lanckman fin 2004, l'appellation **Unité de Néphrologie expérimentale** a reçu l'approbation de la Commission de la recherche. La faculté en a confié la direction à J. Nortier. Afin de promouvoir les collaborations et la mise en commun des ressources de fonctionnement et d'équipement au sein de la faculté de Médecine, l'Unité a été intégrée officiellement au Laboratoire d'Hormonologie expérimentale dirigé par le Pr. S. Meuris.

QUELQUES CHIFFRES ...

En dépit de sa taille (C. Husson et E. De Prez sont les seuls techniciens), l'Unité a mené des travaux de recherche qui ont conduit à un nombre non négligeable de thèses et de mémoires de 4^e doctorat en Médecine et de DES en Médecine interne et Néphrologie.

Deux thèses de doctorat en Sciences médicales sont actuellement en cours (Drs A. Pozdzik et K. Gastaldello).

Ces travaux ont pu être menés grâce à l'obtention de plusieurs contrats de recherche FRSM, de Crédits aux chercheurs du FNRS, de subsides de la Banque Nationale de Belgique, du soutien financier de la Fondation Erasme par l'intermédiaire de ses boursiers (J. Nortier, F. Debelle, A. Pozdzik et K. Gastaldello), de l'Association pour la Défense des Patients Insuffisants Rénaux (ADIR), du Groupement pour l'Etude, le Traitement et la Réhabilitation Sociale de l'Insuffisant Rénal Chronique.

THEMES DE RECHERCHE

Les thèmes de recherche de ces dernières années ont été en relation directe avec des observations cliniques particulièrement marquantes en Néphrologie comme la découverte par le Pr J.L. Vanherweghem d'une nouvelle néphropathie tubulo-interstitielle d'origine toxique, initialement dénommée « néphropathie aux plantes chinoises » et reconnue actuellement sous l'entité « néphropathie aux acides aristolochiques ». Notre équipe a mis au point un modèle animal expérimental (rat Wistar mâle) reproduisant les caractéristiques de la maladie rénale humaine, à savoir la fibrose interstitielle, l'atrophie tubulaire proximale et l'insuffisance rénale. Ce modèle fait l'objet d'études approfondies afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques conduisant à la fibrose interstitielle rénale, dénominateur commun de toutes les phases terminales des néphropathies. Il nous est également utile pour investiguer diverses stratégies pharmacologiques et immunologiques de prévention de la fibrose rénale (corticoïdes et immunosuppresseurs, inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, *Hepatocyte Growth Factor*, anticorps anti-TGF β ,...).

Le deuxième thème de recherche est en lien direct avec la carcinogénicité des acides aristolochiques, nous mettons en commun l'étude des biomarqueurs de néphrotoxicité et de cancérigénèse avec le groupe du Pr D. Phillips de l'*Institute of Cancer Research* (Sutton, UK). Ce dernier a réussi à mettre en évidence une mutation du gène du p53 spécifique aux acides aristolochiques.

Un troisième thème de recherche est lié également à la découverte par le Pr P. Ronco (hôpital Tenon, Paris) d'une forme particulière de glomérulonéphrite extra-membraneuse néo-natale liée

à un déficit maternel en une enzyme bien connue de notre Unité, l'endopeptidase neutre (NEP), présente chez l'être humain au niveau de nombreux organes dont les reins (glomérule et tubule proximal). Au moment de la grossesse, la non-expression de NEP chez la mère est à l'origine de la synthèse et du passage transplacentaire d'anticorps néo-formés, anticorps néphritogènes à l'égard du rein fœtal (lui-même exprimant de façon normale la NEP), causant ainsi une forme sévère de glomérulonéphrite extra-membraneuse néo-natale. Notre équipe a eu l'opportunité de suivre une famille présentant une telle déficience génétique en NEP (deux grossesses à risque d'allo-immunisation foeto-maternelle) en collaboration avec nos collègues néphrologues pédiatriques de l'HUDERF, l'équipe de périnatalogie d'Erasme et celle du Pr Ronco.

Enfin, en relation directe avec le Service de Dialyse de l'hôpital Erasme, l'Unité a développé depuis plusieurs années une expertise dans le domaine de la biocompatibilité des membranes d'hémodialyse par l'étude *in vivo* et *in vitro* de la réaction inflammatoire induite (activation leucocytaire et du complément, sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, effet sur la phagocytose) et l'étude des différents composants des circuits extra-corporels sur l'activation des plaquettes et de la coagulation. La biocompatibilité des solutions de dialyse péritonéale fait également l'objet d'études approfondies *in vivo* et *in vitro* (effets de ces solutions sur les fonctions leucocytaires et l'apoptose).

COLLABORATIONS NATIONALES ET INTERNATIONALES

Les thèmes de recherche décrits ci-dessus ont donné lieu à des collaborations nationales et internationales, parmi lesquelles les équipes des Pr I. Salmon (Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Erasme), F. Mascart (Immunologie, Hôpital Erasme), J. Devière (Lab. Gastro-entérologie expérimentale, Faculté de Médecine, campus Erasme), J.-P. Brion (Lab. Histologie, Faculté de Médecine, Campus Erasme), C. Schulman (Urologie, Hôpital Erasme), A. Michel (Lab. Chimie Biologique, Faculté des Sciences, Université de Mons-Hainaut), R. Vanholder (Service de Néphrologie,

*- Fagny C., doctorat en Sciences (1996). Régulation de l'expression de l'endopeptidase neutre à la surface des granulocytes neutrophiles humains.

- Tielemans C., agrégation de l'Enseignement supérieur (1996). Synthèse de monokines et expression leucocytaire de molécules d'adhérence (Mac1), du récepteur à l'endotoxine (CD14) et de l'antigène leucocytaire commun (CD45) induites par l'hémodialyse : études *in vivo* et *in vitro* sur le rôle de la nature chimique de la membrane de dialyse et de la contamination bactérienne du dialysat.
- Nortier J., agrégation de l'Enseignement supérieur (1997). Endopeptidase neutre 24.11 : implication dans le métabolisme peptidique et marqueur urinaire de pathologies rénales tubulaires.
- Debelle F., doctorat en Sciences médicales (2005). Modèle expérimental de fibrose rénale interstitielle induite par les acides aristolochiques (« plantes chinoises »).
- Lebeau C., doctorat en Sciences chimiques (2006). Néphrotoxicité des acides aristolochiques : approche expérimentale de l'atteinte tubulaire proximale.

RU Gent), D. Verbeelen & C. Van den Branden (*Dienst Nierziekten & Menselijke Anatomie, AZ-VUB, Brussel*), M.E. De Broe (*Lab. Nephrologie, UA Wilrijk-Antwerp*) et au niveau international, les équipes suivantes des Pr. H.H. Schmeiser (*Molecular Toxicology, German Cancer Institute, Heidelberg, Germany*), V.M. Arlt & D. Phillips (*Molecular Carcinogenesis, Institute of Cancer Research, Sutton, United Kingdom*), A. Adam (*Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, Québec, Canada*), P. Ronco & H. Debiec (*Unité Mixte INSERM-Université 702, Hôpital Tenon, Paris, France*) et M.F. Bourgeade (*Unité INSERM 542, Villejuif, France*).

PERSPECTIVES DE RECHERCHE

En continuité avec les thèmes de recherche décrits plus haut, l'Unité compte poursuivre l'étude de la physiopathologie et de la prévention de la fibrose rénale interstitielle par une approche *in vivo* (modèles animaux) mais aussi *in vitro* (cellules en culture). En complément aux techniques classiques d'histologie rénale et d'immunohistochimie, l'immunofluorescence est en cours de développement et grâce aux collaborations facultaires, l'accès à la cytométrie de flux nous est facilité.

De nouvelles collaborations sont établies depuis peu avec nos collègues cancérologues de l'Institut Bordet (étude et prévention de la néphrotoxicité des agents chimiothérapeutiques) ainsi qu'avec l'équipe de Néphrologie de l'Université de Zagreb (marqueurs précoces de l'atteinte tubulaire proximale dans la néphropathie dite des Balkans, dont il se confirme que l'étiologie est liée à l'exposition prolongée aux acides aristolochiques). En outre, grâce aux liens privilégiés établis de longue date entre l'U.L.B. et l'Université Jia Tong de Shanghai, nous espérons établir une collaboration scientifique avec le service de Néphrologie de l'Hôpital Rui Jin (Pr N. Chen).

VERS UNE PLUS GRANDE COLLABORATION HOSPITALO-FACULTAIRE

Comme l'histoire du Laboratoire l'a montré, nos thèmes de recherche se sont développés parce que des cliniciens ont remis en question leurs acquis, ont voulu investiguer davantage diverses questions en les abordant sur un mode plus expérimental au laboratoire. Des chercheurs à temps plein les ont aidés dans cette démarche, réalisant ainsi une collaboration hospitalo-facultaire bénéfique de part et d'autre. L'Unité de Néphrologie expérimentale entend bien poursuivre cette dualité d'approche et en faire bénéficier nos médecins en formation.

La formation spécifique en Néphrologie (DES) comprend 2 années à effectuer au terme de 4 années de « tronc commun » en Médecine Interne (6 ans au total). Traditionnellement, les médecins en formation passent une année dans le secteur transplantation et une année dans le secteur dialyse. Ils doivent en outre se former à la pratique de consultations de néphrologie

« générale », visant à prendre en charge des cas d'insuffisance rénale aiguë et chronique. En outre, à l'occasion de leur passage en hôpital académique, l'initiation à des protocoles de recherche clinique et/ou expérimentale représente une opportunité dont ils pourraient bénéficier. Il s'agit d'une approche complémentaire à leur formation clinique, permettant une remise en question des acquis, un apprentissage à l'élaboration d'un protocole, d'une méthodologie, à la récolte de résultats et à leur interprétation. La présentation écrite et la défense orale d'un mémoire est d'ailleurs requise en fin de DES. L'Unité de Néphrologie expérimentale met à leur disposition son infrastructure et ses chercheurs pour les intégrer à des travaux expérimentaux en cours et/ou les encadrer dans la réalisation de travaux plus personnels.

Remerciements

Nous tenons à remercier le Pr P. Kinnaert pour ses discussions constructives durant l'élaboration de nos protocoles expérimentaux ainsi que pour la relecture de nombreux manuscrits. Nos remerciements vont aussi au Pr S. Meuris pour son soutien sans faille dans nos recherches.

PUBLICATIONS SIGNIFICATIVES

1. Norden AGW, Scheinman SJ, Deschodt-Lanckman MM *et al.* : Tubular proteinuria defined by a study of Dent's (*CLCN5* mutation) and other tubular diseases. *Kidney Int* 2000 ; 57 : 240-9
2. Nortier J, Muniz Martinez MC, Schmeiser HH *et al.* : Urothelial Carcinoma Associated with the Use of a Chinese Herb (*Aristolochia fangchi*). *N Engl J Med* 2000 ; 342 : 1686-92
3. Nortier JL, Vanherweghem JL, Schmeiser HH : Chinese herbs and urothelial carcinoma. *N Engl J Med* 2000 ; 343 : 1269 (letter)
4. Gastaldello K, Husson C, Wens R, Vanherweghem JL, Tielemans C : Role of complement and platelet-activating factor in the stimulation of phagocytosis and reactive oxygen species production during haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2000 ; 15 : 1638-46
5. Dhondt A, Vanholder R, Tielemans C *et al.* : Effect of regional citrate anticoagulation on leukopenia, complement activation, and expression of leukocyte surface molecules during hemodialysis with unmodified cellulose membrane. *Nephron* 2000 ; 85 : 334-42
6. Debelle F, Nortier J, De Prez E *et al.* : Aristolochic acids induce renal failure and interstitial fibrosis in salt-depleted rats. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13 : 431-6
7. Muniz Martinez MC, Nortier J, Vereerstraeten P, Vanherweghem JL : Progression rate of Chinese-herb nephropathy: impact of *Aristolochia fangchi* ingested dose. *Nephrol Dial Transplant* 2002 ; 17 : 408-12
8. Muniz Martinez MC, Nortier J, Vereerstraeten P, Vanherweghem JL : Steroid therapy in chronic interstitial renal fibrosis: the case of Chinese-herb nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2002 ; 17 : 2033-4
9. Nortier J, Vanherweghem JL : Renal interstitial fibrosis and urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*). *Toxicology* 2002 ; 27 : 577-80
10. Nortier JL, Schmeiser HH, Muniz Martinez MC *et al.* : Invasive urothelial carcinoma after exposure to Chinese herbal medicine containing aristolochic acid may occur without severe renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2003 ; 18 : 426-8

11. Debelle F, Nortier J, De Prez E *et al.* : Effects of Dexfenfluramine on Aristolochic Acid Nephrotoxicity in a Rat Model for Chinese-herb Nephropathy. *Arch Toxicol* 2003 ; 77 : 218-26
12. Vanherweghem JL, Debelle F, Muniz Martinez MC, Nortier J : Chronic interstitial renal fibrosis, Fanconi syndrome and urinary tract carcinomas secondary to herbal remedies containing aristolochic acids (Chinese-herb nephropathy – Aristolochia nephropathy). In : De Broe ME, ed. *Clinical Nephrotoxins*. Amsterdam, Kluwer Academic Publisher 2003 : 579-86
13. Debelle F, Nortier JL, Husson CP *et al.* : The renin-angiotensin system blockade does not prevent renal interstitial fibrosis induced by aristolochic acids. *Kidney Int* 2004 ; 66 : 1815-25
14. Lebeau C, Debelle FD, Arlt VM *et al.* : Early proximal tubule injury in experimental aristolochic acid nephropathy : functional and histological studies. *Nephrol Dial Transplant* 2005 ; 20 : 2321-32
15. Nortier JL, Debiec H, Tournay Y *et al.* : Neonatal Disease in neutral endopeptidase alloimmunization : lessons for immunological monitoring. *Pediatric Nephrology* 2006 ; 21 : 1399-405
16. Arlt VM, Stiborova M, vom Brocke J *et al.* : Aristolochic acid mutagenesis : molecular clues to the aetiology of Balkan endemic nephropathy-associated urothelial cancer. *Carcinogenesis* 2007 ; 28 : 2253-61
17. Nortier JL, Zlotta A, petein M, Depierreux M, Muniz Martinez MC, Vanherweghem JL : Upper urinary tract carcinoma after intake of Aristolochia fangchi : value of urinary cytology in end-stage « Chinese-herb nephropathy ». In : Jeffries LP, ed. *Trends in Cancer Research*. New York, Nova Science Publishers, 2007 : 219-29
18. Lemy A, Wissing KM, Rorive S *et al.* : Late onset of urothelial bladder carcinoma after renal transplantation for end-stage aristolochic acid nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2008 *in press*
19. Pozdzik A, Salmon I, Debelle F *et al.* : Aristolochic acid induces proximal tubule apoptosis and epithelial to mesenchymal transformation. *Kidney Int* 2008 *in press*
20. Debelle F, Vanherweghem JL, Nortier JL : Aristolochic acid nephropathy : a worldwide problem. *Kidney Int* 2008 *in press*

Correspondance :

J. NORTIER
 Unité de Néphrologie expérimentale
 Laboratoire d'Homornologie expérimentale (S. Meuris)
 Faculté de médecine U.L.B.
 Campus Erasme
 Route de Lennik 808
 1070 Bruxelles
 E-mail : jnortier@ulb.ac.be