

La transition épithélio-mésenchymateuse Une explication à la fibrinogenèse des greffons

Encore aujourd'hui, près de 50% des greffons rénaux durent moins de dix ans. Tandis que l'incidence du rejet aigu est passée sous la barre des 10% grâce aux traitements immunosuppresseurs, on assiste toujours à la destruction – relativement silencieuse – des transplants. Des facteurs de causalité ont été identifiés, comme la toxicité chronique des inhibiteurs de la calcineurine (ciclosporine et tacrolimus), les infections urinaires ou encore les rejets aigus, mais le mécanisme de cette fibrose rapide des greffons reste inconnu.

PAR LE DR ALEXANDRE HERTIG*

DANS TOUS LES TISSUS, la matrice extracellulaire est déposée par des cellules spécialisées, les fibroblastes. En cas de plaie, ou plus généralement d'agression, les fibroblastes d'habitude quiescents sont activés, en « myofibroblastes ». Leur fonction est de participer au processus de réparation des tissus, notamment en consolidant la matrice. Dans les situations où l'agression n'est pas éradiquée, et perdure, le processus continu de réparation entraîne une fibrose interstitielle qui entrave la fonction de l'organe (cirrhose, cardiomyopathie hypertrophique, lésions tubulo-interstitielles des insuffisants rénaux chroniques, etc.). Ainsi, les fibroblastes, essentiels à la phase aiguë d'une agression, sont, à plus long terme, néfastes. Jusqu'il y a peu,

il était entendu que les fibroblastes résidant naturellement dans les tissus étaient à eux seuls responsables de la progression de la fibrose, mais il a été démontré que les cellules épithéliales elles-mêmes pouvaient, dans les suites d'une agression, et pour peu qu'elles y survivent, se transformer en cellules fibroblastiques, dans un processus appelé « transition épithélio-mésenchymateuse » (TEM).

Le concept que les cellules épithéliales (dans le rein, les cellules tubulaires) aient une telle plasticité est étonnant mais pas incroyable : au cours de l'embryogenèse, le néphron est formé grâce au phénomène inverse de transition mésenchymo-épithéliale, à partir du bourgeon métanéphrique. Après que des travaux expérimentaux ont démontré, chez la souris dont l'uretère a été ligaturé, que le tiers des fibroblastes dérivait de l'épithélium tubulaire (1), plusieurs groupes de recherche ont souhaité mesurer l'importance de ce phénomène de TEM dans la physiopathologie de la fibrose des greffons.

Un épithélium est caractérisé par le fait que les cellules qui le composent sont étroitement liées les unes aux autres, et reposent sur une membrane basale. À l'inverse, les fibroblastes sont isolés les uns des autres, et sont mobiles (la composition de leur cytosquelette est très différente). Pour montrer que les cellules tubulaires rénales subissent une transition vers un phénotype fibroblastique, il faut montrer qu'elles perdent l'expression de marqueurs épithéliaux typiques, comme les molécules



Aggressés, les fibroblastes se transforment en myofibroblastes

d'adhésion (E-cadhérine), et dans le même temps qu'elles ont acquis l'expression de marqueurs mésenchymateux (comme la vimentine, un filament intermédiaire caractéristique des fibroblastes). Il fut d'abord montré, par un groupe canadien, que les greffons fibreux se distinguaient des greffons non fibreux par le fait que leurs cellules épithéliales exprimaient bel et bien des marqueurs de TEM (dans une proportion importante : environ le tiers des cellules épithéliales) (2). Mais pour montrer qu'il existe un lien de causalité entre l'expression de ces marqueurs de TEM et la fibrose du greffon, il fallait prouver que la TEM précédait la fibrose, et que l'expression de marqueurs de TEM serait, dans le temps, suivie d'une fibrose interstitielle marquée. C'est ce que nous avons fait, en analysant les biopsies, dites de surveillance, réalisées dans trois centres parisiens (Tenon, Saint-Louis et Necker). Ces biopsies sont de plus en plus pratiquées en transplantation rénale pour dépister le plus tôt possible un problème sur le greffon

(récurrence de la maladie rénale primitive, rejet aigu, toxicité médicamenteuse, etc.).

Il s'avère qu'après une transplantation cadavérique, 30 à 40 % des greffons montrent des signes de TEM dès le troisième mois de la greffe (3). Il est intéressant de relever que, d'une part, le temps d'ischémie froide (entre le prélèvement et l'implantation) et le score de tubulite (agression de l'épithélium tubulaire par les lymphocytes T du receveur) sont associés à l'intensité du score de TEM, et, d'autre part, que le score de TEM peut être élevé alors même que l'anatomopathologiste ne détecte pas de problème majeur (rejet ou fibrose, par exemple) sur la biopsie.

Une vision dynamique. Cependant, les patients dont le greffon a plus de 10 % des tubes rénaux « en transition » à trois mois ont un score de fibrose interstitielle significativement plus élevé à un an (4). Ainsi, alors que les colorations de routine (trichrome de Masson) permettent de mesurer la fibrose rénale à un temps t, les marqueurs de TEM offrent une vision dynamique, très sensible, de la fibrogenèse. Il est permis de penser qu'ils permettraient également de mesurer la fibrogenèse dans les reins natifs, et dans d'autres organes : la TEM est un phénomène biologique d'abord identifié dans le rein adulte, mais les épithéliaux du foie, du poumon, et des vaisseaux (l'endothélium) montrent également des signes de TEM en pathologie humaine.

Il reste à prouver que les cellules épithéliales ainsi transformées

ont la capacité de rejoindre l'interstitium pour fournir de nouveaux fibroblastes, mais, en attendant, ces travaux suggèrent que la TEM est un mécanisme important de fibrogenèse du greffon. Si d'autres équipes, indépendantes, le confirment, cela aura deux conséquences. D'abord, les patients à haut risque de fibrose rapide seront identifiés tôt, et traités avec une attention particulière. Ensuite, des agents anti-TEM ont montré un effet thérapeutique majeur chez l'animal, qui empêchent la progression de la fibrose interstitielle, voire la font régresser (5). C'est autant d'espoir pour les patients transplantés qui ne souhaitent pas retourner en dialyse.

* Urgences néphrologiques et transplantation rénale, et INSERM U702, hôpital Tenon, Paris.

(1) Iwano M, Plieth D, Danoff TM, Xue C, Okada H, Neilson EG : Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis, *J Clin Invest* 2002, 110:341-350.

(2) Vongwiwatana A, Tasanarong A, Rayner DC, Melk A, Halloran PF : Epithelial to mesenchymal transition during late deterioration of human kidney transplants : the role of tubular cells in fibrogenesis, *Am J Transplant* 2005, 5:1367-1374.

(3) Hertig A, Verine J, Mougenot B, Jouanneau C, Ouali N, Sebe P, Glotz D, Ancel PY, Rondeau E, Xu-Dubois YC : Risk factors for early epithelial to mesenchymal transition in renal grafts, *Am J Transplant* 2006, 6:2937-2946.

(4) Hertig A, Anglicheau D, Verine J, Pallet N, Touzot M, Ancel PY, Mesnard L, Brousse N, Baugey E, Glotz D, Legendre C, Rondeau E, Xu-Dubois YC : Early epithelial phenotypic changes predict graft fibrosis, *J Am Soc Nephrol* 2008, 19:1584-1591.

(5) Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, Mammoto T, Charytan D, Strutz F, Kalluri R : BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury, *Nat Med* 2003, 9:964-968.

Dialyse avec membranes à haut flux Une amélioration franche de la survie

Une étude prospective européenne publiée en mars 2009, l'étude MPO, a permis de montrer que l'utilisation des membranes de dialyse à haute perméabilité était associée à une diminution de la mortalité de plus d'un tiers, chez les patients hypoalbuminémiques ou diabétiques, par rapport aux membranes à basse perméabilité. Explications du Pr Thierry Hannedouche, co-auteur de l'étude.

EN HÉMODIALYSE conventionnelle, le taux de mortalité reste important, de l'ordre de 10 à 15 % par an. Depuis les débuts de la dialyse, la question de l'amélioration de la survie par des modifications techniques s'est posée. Parmi les modifications simples pouvant être apportées, le type de membrane utilisée dans le dialyseur, notamment la composition chimique et les performances de filtration, sont des facteurs importants. Les anciennes membranes celluloses ont progressivement été remplacées par des membranes synthétiques, plus biocompatibles et de plus en plus performantes en termes d'épuration.

L'hypothèse de départ de l'étude européenne prospective MPO (*Membrane Permeability Outcome*) (1) était donc de savoir si les membranes synthétiques à haute performance d'épuration, dites à haut flux, permettraient d'augmenter la survie des patients en hémodialyse chronique par rapport à des membranes synthétiques de même composition mais de faible performance (bas flux). Des travaux antérieurs, rétrospectifs ou épidémiologiques, le laissaient supposer, mais il n'existait pas d'étude prospective ayant une puissance suffisante pour le démontrer.

Inclusion de patients hypoalbuminémiques. Afin d'augmenter les chances de trouver un effet positif des membranes à haut flux, le groupe d'étude MPO a choisi de s'intéresser à des malades hypoalbuminémiques, à haut risque de mortalité. De même, pour éviter les biais de survie, les malades recrutés étaient des patients incidents, c'est-à-dire ayant commencé la dialyse depuis moins de trois mois. Les patients recrutés ont été randomisés en deux groupes : un groupe traité avec des membranes synthétiques

à haute perméabilité et l'autre groupe avec des membranes synthétiques à basse perméabilité, de même composition chimique. Près de 60 centres européens ont participé, la majorité des patients étant italiens, espagnols ou français.

Si, du fait de difficultés de recrutement initiales, les critères d'inclusion ont dû être élargis à des patients normoalbuminémiques, l'analyse principale a porté, comme initialement prévu, sur les 493 patients éligibles dont l'albumine sérique était ≤ 40 g/l. Le critère de jugement principal était la mortalité globale. Les critères secondaires étaient les complications, les hospitalisations et les décès de cause particulière (cardio-vasculaire, infectieuse ou nutritionnelle). Le suivi moyen des patients a été de 3,5 ans.

Il y a eu, toutes causes confondues, 132 décès pendant la période de suivi parmi les patients hypoalbuminémiques, ce qui correspond à un taux de mortalité de 8,8 % par an. Les résultats ont montré une réduction significative de la mortalité de 37 % dans le groupe traité par membrane à haute perméabilité par rapport au

groupe traité par membrane à basse perméabilité.

Un bénéfice également chez les patients diabétiques. Par ailleurs, tous les patients diabétiques (n=158) ont été inclus dans une analyse de sous-groupe. Même si ces résultats doivent être considérés avec plus de précautions du fait du caractère *post-hoc* de l'analyse, il apparaît que l'utilisation de membranes à haute perméabilité est également associée, chez les patients diabétiques, à une réduction significative de 38 % de la mortalité par rapport aux membranes à basse perméabilité. L'analyse des critères secondaires n'a pas fait apparaître de différence significative entre les deux groupes. En revanche, cette étude a permis de créer une base de données importante qui reste à être exploitée. Des analyses secondaires sont en cours. Mais ce qu'on peut d'ores et déjà retenir est la supériorité nette des membranes à haute perméabilité, en termes de survie, pour les patients hypoalbuminémiques et diabétiques, qui représentent la grande majorité des patients traités par dialyse chronique en Europe. En effet, d'après des données épidé-

miologiques nationales et internationales, 70 à 75 % des patients traités par dialyse seraient hypoalbuminémique, et 25 à 45 %, selon les pays, seraient diabétiques. Actuellement, en pratique quotidienne, ces membranes à haut flux sont les plus utilisées en France et dans beaucoup de pays européens. Elles représentent près de 70 % du marché. Cette utilisation était jusqu'à présent uniquement fondée sur un certain nombre d'indices de supériorité et sur leur meilleure capacité d'épuration. Cette étude permet de conforter les habitudes actuelles, en montrant que l'amélioration de l'épuration se traduit effectivement en avantages cliniques pour le patient. Elle permet également de justifier auprès des institutions le surcoût que représente leur achat.

> Dr CAMILLE CORTINOVIS

D'après un entretien avec le Pr Thierry Hannedouche, CHU de Strasbourg.

(1) Locatelli F, Martin-Malo A, Hannedouche T, Loureiro A, Papadimitriou M, Wizemann V, Jacobson SH, Czekalski S, Ronco C, Vanholder R : Membrane Permeability Outcome (MPO) Study Group. Effect of membrane permeability on survival of hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2009;20(3):645-54. Epub 2008 Dec 17.