

## **Figure 1**

La reproductibilité et la cinétique de prolifération des cellules urothéliales intrarénales au décours de l'IR dans le rein normal (J0), à 18, 24 et 48 heures ainsi que 3 et 8 jours après l'ischémie rénale de 45 minutes.

L'index de prolifération est le rapport du nombre de cellules urothéliales KI67 positives par le nombre total des cellules urothéliales. Moyenne effectuée à partir de n=4 animaux pour chaque temps et chaque groupe, le comptage est réalisé à partir de 6 champs de grossissement x 400 / animal. IC 95% - correspond à un intervalle de confiance de 95 %.

#### **Figure 4**

**A.** Schéma de la microdissection laser réalisée à partir de la coupe congelée au niveau 1. La microdissection laser a été réalisée avec *Leica LMD Laser Microdissection system*.

**B.** La RT PCR quantitative à partir des échantillons obtenus par microdissection laser, cDNA de FGF7 ; n =4 animaux par groupe, « \* » indique la différence statistiquement significative  $p < 0,01$

Après microdissection, les échantillons sont conservés dans le tampon RLT Qiagen S.A.S. (Allemagne) à -80°C. L'extraction des ARN est réalisée avec *RNeasy Micro Kit* Qiagen S.A.S. (Allemagne). La RT PCR est faite selon le protocole décrit dans nos articles.

**C.** Photographie de microscopie électronique à transition de l'urothélium intrarénal au niveau du versant pariétal de la médullaire externe de rein normal, Grossissement x 25 000. On observe une monocouche de cellules urothéliales, des noyaux des cellules mésenchymateuses et des cellules endothéliales veineuses.

**D.** Microphotographie représentant la couche sous-urothéliale de cellules musculaires lisses  $\alpha$ -SMA positives. Niveau 2. Grossissement x 100 et x 400

RUC – cellules urothéliales intrarénales (*renal urothelial cells*) ;

↓ indique les cellules mésenchymateuses ;

V – veine ;

A – artère ;

\*\* – espaces urinaires ;

MI – Médullaire interne

## Figure 5

La reproductibilité et la cinétique de prolifération des cellules urothéliales intrarénales et cellules tubulaires au décours de l'ischémie réperfusion dans le rein normal (J0), à 18, 24 et 48 heures ainsi que 3 et 8 jours après l'ischémie rénale de 45 minutes.

La prolifération est calculée dans : le cortex rénal (C) «  », au niveau des cellules urothéliales intrarénales (RUC) «  » dans la zone cortico – médullaire (CM), «  » ; et dans la médullaire interne (M) «  ».

Le calcul de l'index de prolifération pour les cellules urothéliales intrarénales est présenté dans la légende de figure 1 de l'annexe.

L'index de prolifération des cellules tubulaires est le rapport du nombre de cellules tubulaires KI67 positives par le nombre total des cellules tubulaires dans le champ. Moyenne effectuée à partir de n=4 animaux pour chaque temps et chaque groupe, le comptage est réalisé à partir de 3 champs de grossissement x 400 / animal. IC 95% - correspond à un intervalle de confiance de 95 %.

## Figure 6

Absence de prolifération des cellules urothéliales intrarénales, et des tubules rénaux à 24 heures (**A**) et à 48 heures (**B**) suivant la réperfusion dans le modèle de l'ischémie (45 minutes) et une néphrectomie controlatérale.

Présence d'une prolifération des cellules urothéliales intrarénales à 24 heures (**C**) et des cellules tubulaires de la zone cortico-médullaires à 48 heures (**D**) après réperfusion chez des souris qui ont reçu une injection intra péritonéale de FGF7 recombinant (Palifermin, Swedish Orphan Biovitrum, Stockholm, Sweden, 60 µg/kg), 24 heures avant l'ischémie - réperfusion et une néphrectomie controlatérale.

Présence d'une prolifération des cellules urothéliales intrarénales à 24 heures (**E**) et des cellules tubulaires de la zone cortico-médullaires à 48 heures (**F**) dans le modèle de l'ischémie – réperfusion unilatérale (sans néphrectomie).

Plan de coupe niveau 1. Immunohistochimie: anticorps anti-Ki67, grossissement x 100.

\*\* – espaces urinaires ; v – veine ; a – artère ;

### Figure 7

Index de prolifération des cellules urothéliales intrarénales : ■ - correspond au modèle de l'ischémie - réperfusion avec néphrectomie controlatérale ; ■ - l'ischémie-réperfusion avec la néphrectomie controlatérale chez les souris prétraitées avec du FGF7 ; ■ - l'ischémie-réperfusion sans néphrectomie controlatérale. Le calcul de l'index de prolifération est décrit précédemment ; n=4 animaux pour chaque temps et chaque groupe, le comptage est réalisé à partir de 6 champs de grossissement x 400 / animal.

### Figure 8

Index de prolifération des cellules tubulaires de la zone cortico-médullaire:

■ - correspond au modèle de l'ischémie-réperfusion avec une néphrectomie controlatérale ; ■ - ischémie-réperfusion avec néphrectomie controlatérale chez les souris prétraitées avec du FGF7 ; ■ - ischémie - réperfusion sans néphrectomie controlatérale. n=4 animaux pour chaque temps et chaque groupe, le comptage est réalisé à partir de 3 champs de grossissement x 400 / animal. La différence entre le groupe de souris qui ont subi IR avec néphrectomie controlatérale, sans et avec prétraitement par FGF7 est statistiquement significative  $p < 0,01$

### Figure 9

RT PCR quantitative. L'expression de FGF7, à partir de mRNA des extraits de reins totaux obtenus chez les souris normales (**RN**), et à 24 heures (**Néph + IR 24h**) après la réperfusion dans le modèle de l'ischémie avec néphrectomie controlatérale. (n=5 animaux par groupe).

La différence est statistiquement significative  $p = 0,04$

### **Figure 10.**

Dosage de l'urée plasmatique (par méthode colorimétrique) à 24h chez les souris dans les modèles d'ischémie - réperfusion avec néphrectomie controlatérale, avec (FGF7, néph, IR24h) ou sans (néph, IR24h) prétraitement par FGF 7. La différence entre ces groupes est statistiquement significative  $p = 0,005$ . Le groupe de contrôle est composé des souris qui ont subi une opération blanche. (n=6 animaux par groupe).

### **Figure 11.**

Index de dilatation tubulaire. Pourcentage des tubules proximaux dilatés définis dans les reins des souris de contrôle (**RN**) comme inférieur à 5%, chez les souris recevant une injection de FGF7 48 heures avant sacrifice (**Inj FGF7**) ; chez les souris qui ont subi une ischémie-réperfusion avec la néphrectomie controlatérale (**Néph, IR 24h**) ainsi que dans le groupe de souris prétraitées par FGF7, J-1 avant IR et la néphrectomie controlatérale (**FGF7, Néph, IR24h**). Les souris des deux derniers groupes sont sacrifiées 24 heures après l'opération. (n= 3 animaux par groupe). Le comptage des tubules proximaux dilatés est réalisé à partir de 6 champs de grossissement x 400 / animal dans les zones corticales et cortico-médullaires du rein.