



HAL
open science

Apport de la TEP-IRM en imagerie fonctionnelle rénale pour l'évaluation des mesures de néphroprotection

Laetitia Normand

► To cite this version:

Laetitia Normand. Apport de la TEP-IRM en imagerie fonctionnelle rénale pour l'évaluation des mesures de néphroprotection. Imagerie médicale. Université de Lyon, 2019. Français. NNT : 2019LYSE1093 . tel-02268312

HAL Id: tel-02268312

<https://theses.hal.science/tel-02268312>

Submitted on 20 Aug 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



N°d'ordre NNT :

2019LYSE1093

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale N° 205
(ECOLE DOCTORALE INTER- DISCIPLINAIRE SCIENCES SANTE)

Spécialité de doctorat : Science et Santé

Soutenue publiquement le 01/07/2019, par :
Laetitia, Marie, **Gabrielle NORMAND**
Née le 31 Octobre 1988 à Vanier, Québec, Canada

**Apport de la TEP-IRM en imagerie
fonctionnelle rénale pour l'évaluation
des mesures de néphroprotection**

Devant le jury composé de :

JANIER, Marc Professeur des Universités, CHU de Lyon

Président

HENG, Anne Elisabeth Professeur des Universités, CHRU d'Auvergne Rapporteur

GRENIER, Nicolas Professeur des Universités, CHU de Bordeaux Rapporteur

DE SEIGNEUX, Sophie Professeur des Universités, Hôpitaux Universitaires de Genève
Examinatrice

JUILLARD, Laurent Professeur des Universités, CHU de Lyon

Directeur de thèse

LEMOINE, Sandrine MCU-PH, CHU de Lyon

Codirectrice de thèse

Résumé en français

La progression de l'incidence de l'insuffisance rénale chronique dans le monde nécessite d'améliorer les mesures visant à ralentir sa progression et son évolution vers l'insuffisance rénale terminale. Le régime pauvre en protéines ou la prévention des épisodes d'ischémie-reperfusion appartiennent à ces mesures de néphroprotection mais leur bénéfice n'est qu'incomplètement compris. Le rein étant un des organes les plus vascularisés, rapporté à son poids, l'évaluation concomitante de la perfusion rénale ($[^{15}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$), du métabolisme oxydatif ($[^{11}\text{C}]\text{acetate}$) puis du contenu tissulaire en oxygène (BOLD-IRM) est fondamentale dans la mesure où ces trois mesures ne sont pas corrélées de manière linéaire. La TEP-IRM, appareil hybride combinant les fonctionnalités de la TEP et de l'IRM, permet une évaluation concomitante de ces trois paramètres de manière non invasive et sur rein isolé ce qui permet de l'utiliser en recherche clinique pour l'évaluation de l'effet de différentes interventions.

Les régimes pauvres en protéines ont démontré qu'ils permettaient un ralentissement du déclin de la fonction rénale mais le mécanisme à l'origine de cet effet bénéfique n'est pas connu. Nous avons démontré que le contenu en AGE (Advanced Glycation End Products ou protéines modifiées) d'une charge protéique était responsable de la mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale avec une augmentation de la perfusion et du métabolisme oxydatif plus importants après une charge protéique riche en AGE par rapport à une charge protéique pauvre en AGE. Nos résultats permettent de s'interroger sur l'intérêt d'une alimentation pauvre en AGE pour les insuffisants rénaux chroniques au-delà d'une restriction protéique pure. La prévention des épisodes d'ischémie-reperfusion est également particulièrement importante dans le cadre de la néphroprotection alors que la revascularisation d'une sténose de l'artère rénale s'accompagne obligatoirement de lésions de reperfusion. L'utilisation de la ciclosporine avant la dilatation d'une sténose de l'artère rénale dans le cadre d'un pré conditionnement a permis de réduire les lésions rénales chez la souris mais ce bénéfice clinique n'a pas été démontré chez l'homme. L'étude CICLOSAAR qui a pour but d'évaluer le bénéfice d'un pré conditionnement par la ciclosporine A avant dilatation d'une sténose de l'artère rénale sur des paramètres fonctionnels rénaux (perfusion, métabolisme oxydatif et contenu tissulaire en oxygène) est en cours.

Dans un second temps et afin d'améliorer l'applicabilité clinique de ces techniques d'imagerie fonctionnelle, nous avons démontré que l'acétate, qui était jusque-là utilisé comme un marqueur de métabolisme oxydatif, pouvait également être utilisé comme un marqueur de perfusion rénale grâce à la modélisation de son *uptake* par le rein.

Au total, la TEP-IRM est un outil fondamental pour l'évaluation des paramètres fonctionnels rénaux de manière non invasive chez l'humain. La mise en évidence de l'impact du contenu en AGE sur la perfusion et le métabolisme rénal devrait permettre d'affiner nos conseils diététiques aux insuffisants rénaux pour prévenir la progression de la maladie vers l'insuffisance rénale terminale. L'étude CicloSAAR actuellement en cours devrait permettre d'améliorer les mesures mises en œuvre pour protéger le rein des lésions de reperfusion après dilatation d'une sténose de l'artère rénale. Enfin, nos résultats sur la forte corrélation entre les données de perfusion en acétate et en eau devraient permettre d'utiliser ce traceur pour obtenir la perfusion et le métabolisme oxydatif à l'issue d'une seule injection de radio-traceur et renforcer l'applicabilité clinique de ces techniques.

Titre en anglais : Contribution of PET-MRI in the evaluation of therapeutic strategies to slow down chronic kidney disease progression

Résumé en anglais

The increase in the incidence of chronic renal failure worldwide requires improvements in measures to slow its progression to end-stage renal failure. The low-protein diet or the prevention of episodes of ischemia-reperfusion belong to these measures of nephroprotection but their benefit is only incompletely understood. The kidney is one of the most vascularized organs, compared to its weight, the concomitant evaluation of renal perfusion ($[^{15}\text{O}] \text{H}_2\text{O}$), oxidative metabolism ($[^{11}\text{C}]$ acetate) and tissue content in oxygen (BOLD-IRM) is fundamental in that these three measures are not linearly correlated. PET-MRI, a hybrid device combining the functionalities of PET and MRI, allows a concomitant evaluation of these three parameters in a non-invasive and isolated kidney way which allows to use it in clinical research for the evaluation of the effect of different interventions.

Low-protein diets have been shown to slow down the decline in renal function, but the mechanism behind this beneficial effect is not known. We have demonstrated that the AGE (Advanced Glycation End Products) content of a protein load is responsible for the mobilization of the renal functional reserve with an increase in perfusion and oxidative metabolism after a high- AGE high- protein compared to a low- AGE high- protein load. Our results make it possible to question the interest of a low-AGE diet for chronic renal insufficiency beyond a pure protein restriction. The prevention of episodes of ischemia-reperfusion is also particularly important in the context of nephroprotection, whereas the revascularization of a stenosis of the renal artery is necessarily accompanied by reperfusion injury. Use of ciclosporin prior to dilation of renal artery stenosis in pre-conditioning reduced renal damage in mice, but this clinical benefit has not been demonstrated in humans. The CICLOSAAR study, which aims to evaluate the benefit of pre-conditioning with ciclosporin before dilation of renal artery stenosis with renal functional parameters (perfusion, oxidative metabolism and tissue oxygen content) is in progress.

In a second step and to improve the clinical applicability of these functional imaging techniques, we have shown that acetate, which was previously used as a marker of oxidative metabolism, could also be used as a marker of renal perfusion through the modeling of its uptake by the kidney.

In total, PET-MRI is a fundamental tool for the evaluation of renal functional parameters in a non-invasive way in humans. Demonstrating the impact of the AGE content of a protein load on perfusion and renal metabolism should help refine our dietary advice to patients with chronic kidney disease to prevent progression of the disease to end-stage renal failure. The current CicloSAAR study is expected to improve the measures implemented to protect the kidney from reperfusion injury after dilatation of renal artery stenosis. Finally, our results on the strong correlation between acetate and water perfusion data should allow this tracer to be used to obtain perfusion and oxidative metabolism after a single radio tracer injection and reinforce clinical applicability of these techniques.

Mots clés en français : TEP-IRM, paramètres fonctionnels rénaux, régimes pauvres en protéines, ischémie- reperfusion

Mots clés en anglais : PET-MRI, renal functional parameters, low protein diets, ischemia reperfusion injury

Thèse effectuée dans :

Laboratoire CarMeN- INSERM U1060 (Dr Hubert Vidal)

Equipe 5- Cardioprotection (Pr Michel Ovize)

IHU OPERA – Cardioprotection U1060 CarMeN Bâtiment B13
59 Boulevard Pinel 69500 BRON

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Laurent Juillard

Merci de participer à mon jury de thèse de doctorat. Je souhaite vous témoigner ma reconnaissance pour m'avoir fait confiance très tôt au cours de l'internat ainsi que pour vos encouragements répétés et votre gentillesse. Soyez assuré de ma gratitude et de tout mon respect.

A Madame le Docteur Sandrine Lemoine

Merci de ta disponibilité, tes conseils, et tes encouragements. Je te suis sincèrement reconnaissante pour tout ce que tu m'as permis de réaliser.

A Monsieur le Professeur Nicolas Grenier

Merci d'avoir accepté de participer à ce jury. Je vous remercie également de l'attention que vous avez portée à ce travail, en ayant accepté d'en être le rapporteur.

A Madame le Professeur Anne- Elisabeth Heng

Merci d'avoir accepté de participer à ce jury. Je vous remercie également d'avoir accepté d'être rapporteure de ce travail.

A Madame le Professeur Sophie de Seigneux

Je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

A Monsieur le Professeur Marc Janier

Merci d'avoir accepté de participer à ce jury. Vous dirigiez le Master 1 sur les traceurs qui m'a donné envie de m'intéresser à l'imagerie fonctionnelle.

A Sybille

PUBLICATIONS INTERNATIONALES

Publiées :

Normand G, Lemoine S, Villien M, Le Bars D, Merida I, Irace Z, Troalen T, Costes N, Juillard L. **AGE Content of a Protein Load Is Responsible for Renal Performances: A Pilot Study.** Diabetes Care. 2018 Jun;41(6):1292-1294.

Soumis dans la revue *Nuclear Medicine and Biology* :

Normand G, Lemoine S, Villien M, Le Bars D, Merida I, Irace Z, Troalen T, Costes N, Juillard L. **Acetate is also a perfusion tracer for renal evaluation purposes.**

TABLE des MATIERES

ABBREVIATIONS	3
Table des figures	4
1. Physiologie Rénale	9
2. Imagerie fonctionnelle rénale	31
2.1 Evaluation fonctionnelle rénale de paramètres non corrélés linéairement	31
2.2 Différentes techniques pour différents paramètres	33
2.2.1 Tomographie par Emission de Positrons	33
2.2.1.2.1 Mesure de perfusion rénale	36
2.2.3.2.2 Mesure du métabolisme oxydatif	38
2.2.4 L'imagerie par résonance magnétique ou IRM	41
2.3 La TEP-IRM, appareil hybride pour une évaluation globale	47
3. IRC et Néphroprotection	48
3.1 Contrôle de la pression artérielle	50
3.1.1 Niveau de preuve et cibles	50
3.1.2 Rôle de la pression et de la dysfonction endothéliale	51
3.1.3 Rôle de l'autorégulation du débit sanguin rénal	52
3.2 Contrôle de la protéinurie	54
3.2.1 Niveau de preuve et cibles	54
3.2.2 Diminution de la pression intra-glomérulaire	55
3.2.3 Amélioration de la sélectivité de la membrane basale glomérulaire	55
3.3 Restriction en sel	57
3.3.1 Généralités	57
3.3.2 Mécanismes	59
3.4 Régime hypoprotidique	60
3.4.1 La réserve fonctionnelle rénale	62
3.4.1.2.1 Protéines animales versus végétales ?	65
3.4.1.2.2 Les céto- analogues	66
3.5 Prévention des lésions d'ischémie-reperfusion	74
3.5.1 Concept d'ischémie reperfusion	74
3.5.2 Cas de la sténose athéromateuse de l'artère rénale	75
Hypothèses et buts de la thèse	82
Résultats et discussion	84
1. Impact du contenu en AGE d'une charge protéique sur l'hémodynamique rénale et sur la progression de l'IRC	84
1.1 Introduction	84
1.2 Publication 1: AGE content of a protein load is responsible for renal performances: a pilot study- Normand et al, <i>Diabetes Care</i> , April 2018	84
1.2 Conclusion	86
2.1 L'acétate est un marqueur de perfusion rénale	93
2.1 Introduction	93

2.2 Article 2: Acetate is also a perfusion tracer for renal purpose	93
2.3 Conclusion.....	95
Références bibliographiques	97
CONCLUSION GENERALE	110

ABBREVIATIONS

ADH: hormone anti diurétique
AGE: Advanced glycation end products
AMP: Adénosine monophosphate cyclique
ASL : Arterial spin labelling
AT2: Angiotensine de type 2
ATP: Adénosine triphosphate
BOLD: Blood Oxygen Level Dependant
CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
CML : Carboxymethyl- Lysine
CsA : Ciclosporine A
DFG : Débit de filtration glomérulaire
DSR : Débit sanguin rénal
ERDF : Endothelium derived relaxing factor
ET-1 : Endothéline de type 1
FAN : Facteur atriale natriurétique
HTA : Hypertension artérielle
GIP : glucose- dependant insulintropic peptide
IGF : Insulin like Growth Factor
IR : ischémie- reperfusion
IRA : Insuffisance rénale aigue
IRC : Insuffisance rénale chronique
MCP-1 : monocyte chemoattractant protein-1
MG : MethylGlyoxal
mPTP : pore de transition de perméabilité mitochondriale
PAF : Platelet activating factor
PAH: Para Amino Hippuric acid
PDGF: platelet-derived growth factor
PGE2: Prostaglandine de type 2
ROS: Reactive oxygen species
SAAR : Sténose athéromateuse de l'artère rénale
TCD : Tube contourné distal
TCP : Tube contourné proximal
TEP : Tomographie par émission de positron
TGF-b : Transforming growth factor- beta
t-PA : Activateur tissulaire du plasminogène
TXA2 : Thromboxane A2

TABLE des FIGURES

Figure 1. Structure du néphron. Adapté de Gray's Anatomy (1918).	Page 9
Figure 2. Le glomérule. Adapté du manuel du collège universitaire des enseignants de néphrologie.	Page 10
Figure 3. Evolution des pressions hydrostatiques dans le lit vasculaire rénal de l'artériole afférente à la veinule rénale (en mmHg). Adapté de « Physiologie Rénale et désordres hydroélectrolytiques », M. Paillard, Hermann, Editeurs des Sciences et des Arts.	Page 17
Figure 4. Le rétro- contrôle tubulo glomérulaire, adapté de Koeppen and Stanton	Page 22
Figure 5. Principaux transports au niveau des cellules tubulaires du tube contourné proximal- adapté du collège universitaire des enseignants de néphrologie.	Page 27
Figure 6. Relation non linéaire entre débit sanguin rénal, consommation en oxygène et contenu tissulaire en oxygène. Adapté d'Evans et coll.	Page 32
Figure 7: Schématisation de l'effet de volume partiel faisant apparaitre un objet plus petit en raison d'une résolution insuffisante.	Page 34

Figure 8 : Corrélation entre les mesures de DSR par technique des microsphères et TEP à l'eau marquée chez le cochon.

.....Page 35

Figure 9. Exemple d'un modèle monocompartmental, validé pour décrire le comportement de l'eau dans le rein et extraire K_1 soit le reflet de l'entrée de l'eau dans le rein, validé comme marqueur de perfusion rénale.

.....Page 36

Figure 10.

Corrélation entre les mesures de DSR par technique du PAH et TEP à l'eau marquée.

.....Page 37

Figure 11. Cycle de Krebs.

.....Page 38

Figure 12. Corrélation entre l'évaluation du métabolisme oxydatif rénal par turn-over de l'acétate par technique TEP à l'acétate marqué et mesure de la différence artériovoineuse rénale en oxygène par technique sanglante chez l'animal.

.....Page 39

Figure 13. Exemple d'un modèle monocompartmental validé pour décrire le comportement de l'acétate dans le rein et extraire k_2 soit le reflet de la sortie de l'acétate du rein, validé comme marqueur du métabolisme oxydatif rénal.

.....Page 39

Figure 14. a: exemple de décroissance du signal d'IRM au cours d'une séquence d'écho de gradient (ligne brisée : cortex ; ligne pleine : médullaire externe). La pente de la droite est égale à R_2^* ; b : exemple de décroissance du signal d'IRM dans le rein gauche au cours d'une séquence d'écho de gradient.

.....Page 43

Figure 15. Avantages et limites des différentes techniques d'analyse des données de BOLD.	Page 46
Figure 16. Evolution du taux de mortalité en fonction du niveau de fonction rénale	Page 48
Figure 17. Evolution du débit de filtration glomérulaire (DFG) en fonction de l'apport protéique quotidien (1,3g/kg/jour versus 0,58g/kg/jour)	Page 60
Figure 18. Effets d'un régime pauvre en protéines sur l'hémodynamique intra glomérulaire	Page 61
Figure 19. Effet d'une charge protéique (steak de viande) sur la clairance de l'Inuline (cercles pleins) et de la Créatinine (carrés ouverts)	Page 63
Figure 20. Schématisation des lésions d'ischémie-reperfusion. Ca ²⁺ : Calcium, ROS : Espèces réactives d'Oxygène, mPTP : Pore de transition de perméabilité mitochondriale. La surcharge calcique mitochondriale entraînant l'ouverture du mPTP	Page 76
Figure 21. Résultats de créatinine (A), histologiques (B) et de la capacité de rétention calcique (C) chez des souris <i>sham</i> , ischémique (sans protection), des souris ayant bénéficiée d'un pré- conditionnement à la CsA 3 mg/kg, à 10 mg/kg 10 min avant l'ischémie ou à 3 mg/kg 1h avant l'ischémie.	Page 77

Apport de la TEP IRM en imagerie fonctionnelle rénale dans l'évaluation des mesures de néphroprotection

Introduction

1. Physiologie Rénale

Un rein humain contient environ 1 000 000 de néphrons et de tubules associés : le néphron dérive du blasphème métanéphrogénique, et les canaux collecteurs dérivent du bourgeon urétéral.

1.1 Structure du Rein

1.1.1 Néphron

Les néphrons sont entourés de tissu interstitiel où cheminent vaisseaux et nerfs et sont chacun composés d'un glomérule, d'un tube proximal avec un tube contourné (TCP) puis un tube droit, un tube intermédiaire (portion fine, branche fine descendante, et ascendante de l'anse de Henlé), un tube distal avec un tube droit (*pars recta*, branche large ascendante de l'anse de Henlé), puis la *macula densa* et un tube contourné (*pars convoluta*), qui se jette dans le système des canaux collecteurs (1) (D'après « Physiologie Rénale et désordres hydroélectrolytiques », M. Paillard, Hermann, Editeurs des Sciences et des Arts)(Figure 1).

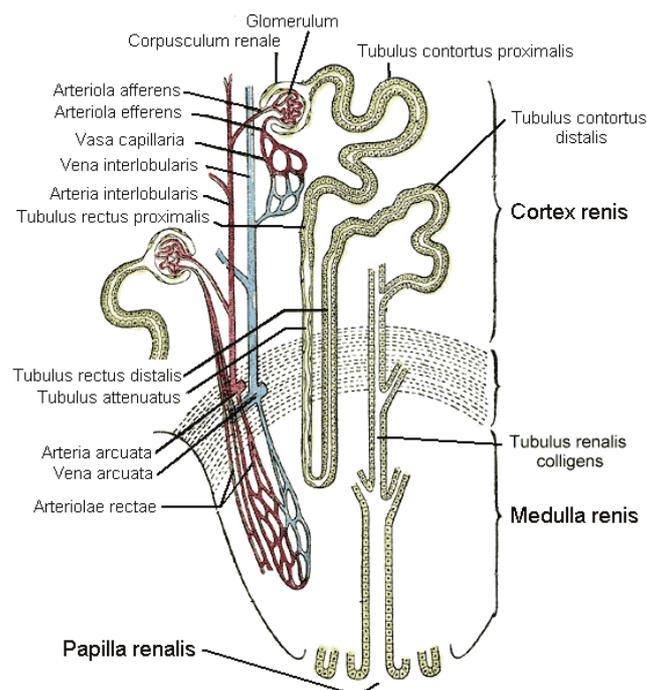


Figure 1 : Structure du néphron. Adapté de Gray's Anatomy (1918).

1.1.1.1 Glomérule

Le glomérule est une sphère dont le diamètre est de 150 à 250 μm . Le glomérule comprend une enveloppe, la capsule de Bowman et un flocculus, système de capillaire et permet la filtration du sang puis la formation d'urine primitive (Figure 2). Il possède un pôle urinaire où s'insère le tube contourné proximal et un pôle vasculaire où pénètre l'artériole afférente ; et d'où sort l'artériole efférente (2,3). Les capillaires glomérulaires qui forment le flocculus constituent un système porte artériel, entre l'artériole afférente et l'artériole efférente du glomérule, par lequel passe la quasi-totalité du débit sanguin rénal, soit 20% du débit cardiaque (3).

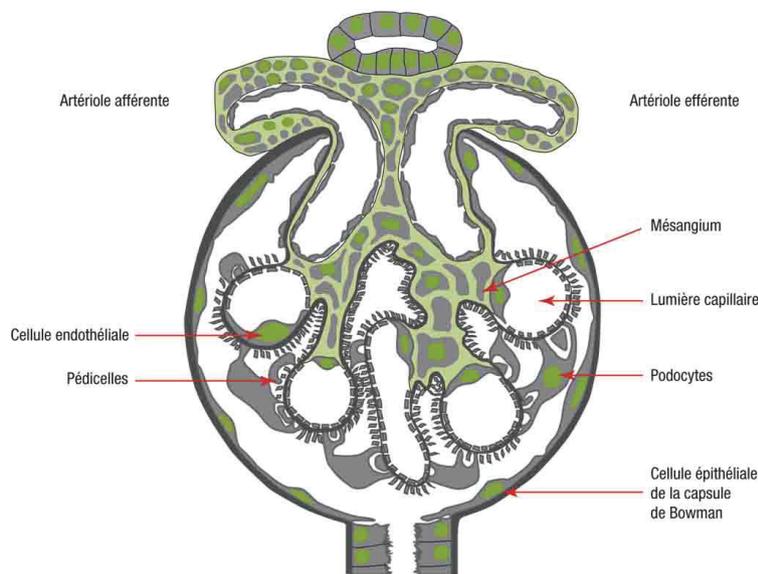


Figure 2 : Le glomérule. Adapté du manuel du collège universitaire des enseignants de néphrologie.

Le lobule glomérulaire

L'artériole afférente se divise en 3 à 8 branches qui, chacune, vont donner naissance à des capillaires anastomosés autour d'une tige tissulaire parfois ramifiée, la tige mésangiale, l'ensemble formant le lobule glomérulaire. Les capillaires des différents lobules se réunissent pour former l'artériole efférente.

L'endothélium

Les cellules endothéliales, représentent plus de la moitié des cellules du flocculus et entourent complètement la lumière des capillaires glomérulaires. Cette cellule possède un cytoplasme mince de 30 à 40 nm d'épaisseur, perforé de nombreuses fenêtres arrondies dont le diamètre est en moyenne de 70 nm, perméables au plasma. Les cellules endothéliales synthétisent plusieurs substances anti coagulantes et ayant des propriétés vasoactives : la prostacycline (PGI₂), puissant inhibiteur de l'interaction des plaquettes avec l'endothélium et vasodilatatrice, l'*endothelium derived relaxing factor* (EDRF), inhibiteur des fonctions plaquettaires et vasodilatateur ; l'antithrombine III ; la thrombomoduline, qui entraîne un rétro contrôle négatif sur la génération de thrombine et l'activateur tissulaire du plasminogène (t.PA) qui participe à la fibrinolyse. Par ailleurs, les cellules endothéliales produisent localement des hormones vasoconstrictrices comme l'endothéline 1 (ET-1) et le thromboxane A₂ (TxA₂) (4).

La membrane basale glomérulaire

La membrane basale glomérulaire est formée de 3 couches : la *lamina densa* centrale, la plus épaisse et électroniquement dense, est bordée, en dedans, par la *lamina rara interna* et en dehors par la *lamina rara externa*, moins épaisse et électroniquement moins dense.

Plusieurs types de molécules sont présents dans la membrane basale glomérulaire humaine : du collagène IV et V, des glycoprotéines multifonctionnelles (laminine, fibronectine, entactine, vitronectine), des protéoglycanes (sulfate d'héparane, sulfate de chondroïtine)(5).

Le podocyte

Le podocyte présente un corps cellulaire volumineux prolongé par des processus ramifiés dont naissent les pédicelles. Deux pédicelles voisins limitent la fente épithéliale. L'ensemble des fentes épithéliales forme un réseau extra cellulaire sinueux par où passe l'ultrafiltrat glomérulaire.

Le mésangium

Les cellules mésangiales ont de multiples prolongements cytoplasmiques qui renferment de nombreux microfilaments en faisceaux, et contiennent de l'actine, de la myosine, de la desmine et de la vimentine soit des structures contractiles efficaces. La perméabilité du mésangium, la surface de filtration glomérulaire et le coefficient d'ultra filtration glomérulaire peuvent donc être modifiés par l'état de contraction des cellules mésangiales.

La contraction des cellules mésangiales en culture est provoquée par : l'angiotensine de type 2 (AT2), l'hormone anti diurétique (ADH), le TxA2, les leucotriènes, le *platelet activating factor* (PAF), les complexes immuns, l'histamine, et la norépinéphrine ou inhibée par : la PGE2, le facteur anti.natriurétique (FAN) et la dopamine. Sous l'effet de l'AT2 et de l'ADH,

la contraction des cellules mésangiales s'accompagne d'une diminution de la filtration glomérulaire (Baisse du Kf, coefficient de filtration) (7).

1.1.1.2 Appareil juxta glomérulaire

L'artériole afférente, l'artériole efférente et le mésangium extraglomérulaire forment avec la *macula densa*, l'appareil juxta-glomérulaire. La *macula densa* correspond à l'ensemble constitué par la partie du tube distal qui jouxte le mésangium et les artérioles juxtaglomérulaires. L'artériole afférente et plus rarement l'artériole efférente contiennent des cellules épithélioïdes, ou cellules à grains, qui renferment des granules entourés d'une membrane. Les granules de l'artériole afférente contiennent également de l'angiotensine II, et des enzymes lysosomaux comme la phosphatase acide et la cathepsine B. L'appareil juxtaglomérulaire contient également de nombreuses fibres nerveuses sympathiques et des terminaisons de type adrénérergiques sont également présentes (3) .

1.1.1.3 Tube urinifère

Le tube urinifère est constitué d'une couche de cellules épithéliales reposant sur une membrane basale plus ou moins épaisse et parfois pluristratifiée, dont la composition semble assez proche de celle de la membrane basale glomérulaire. La membrane plasmique des cellules épithéliales a une double polarité anatomique et fonctionnelle : l'une apicale et l'autre latérobasale (2).

Le tube contourné proximal

Le tube contourné proximal est la partie la plus longue et la plus large du tube. Les cellules du tube contourné proximal, riches en anhydrase carbonique, contiennent un appareil d'endocytose composé de tubules apicaux, de petites vésicules couvertes et de vacuoles.

Le tube droit distal

Les cellules épithéliales du tube droit distal possèdent de nombreuses et grandes mitochondries occupant ces prolongements et témoignant d'une activité métabolique intense.

Les cellules situées dans la médullaire expriment une activité Na^+/K^+ ATPase plus importante que dans le cortex en lien avec leur activité de réabsorption.

Le tube contourné distal

Le tube contourné distal (TCD) est plus court et comporte des cellules plus petites que le TCP. Les membranes latérales et basales sont riches en Na^+/K^+ ATPase et se développent en cas de réabsorption active accrue de sodium (2).

Les canaux collecteurs

Les canaux collecteurs sont faits de cellules claires ou principales, les plus nombreuses, et de cellules sombres ou intercalaires, surtout présentes dans le cortex et la médullaire externe.

Les cellules intercalaires sont riches en anhydrase carbonique.

1.1.2 Vascularisation

L'artère rénale se divise en deux branches principales : l'une antérieure, prépyélique et l'autre postérieure, rétropyélique. La branche antérieure se divise en quatre artères segmentaires, qui irriguent respectivement le pôle supérieur, les segments supérieur et moyen de la partie antérieure, et le pôle inférieur du rein. Les artères segmentaires sont des artères terminales, leur oblitération entraînant, en aval, une ischémie définitive (1). Les artères segmentaires donnent naissance aux artères interlobaires qui cheminent le long des crêtes formées par les colonnes de Bertin dans le sinus. Les artères arquées, nées de chaque côté des artères interlobaires, pénètrent dans les colonnes de Bertin puis ont un trajet incurvé autour de la pyramide de Malpighi, entre médullaire et cortex ; au long de ce trajet, les artères arquées donnent naissance aux artères interlobulaires sur leur versant cortical. Les artères interlobulaires donnent naissance aux artérioles afférentes dont chacune irrigue un glomérule.

1.2 Vascularisation rénale et filtration glomérulaire

La microcirculation glomérulaire est le siège du processus d'ultrafiltration du sang, première étape de la formation de l'urine. La microcirculation péri-tubulaire assure les apports en substrats énergétiques pour les différentes structures tissulaires du rein et permet les phénomènes de réabsorption et de sécrétion tubulaire afin de maintenir la composition du milieu intérieur.

1.2.1 Débit sanguin rénal

Le débit sanguin par gramme de rein est très élevé comparée aux autres débits sanguins régionaux, et homogène chez toutes les espèces mammifères étudiées : entre 3.5 et 5 mL/min/g, soit environ 20% du débit cardiaque chez l'homme (8). Il existe des variations de l'ordre de 12 à 30% chez le sujet normal au repos ; de l'ordre de 1209 ± 256 mL/min/1.73m² de surface corporelle. Chez la femme, le débit sanguin rénal rapporté à la surface corporelle

est plus faible, en moyenne à 982 ± 184 mL/min/ 1.73m^2 . Entre 6 mois et 1 an chez l'enfant, le DSR rapporté à 1.73m^2 de surface corporelle est à 50% de la valeur adulte, qu'il atteint vers 3 ans (8). A l'inverse, le vieillissement s'accompagne d'une perte de fonction rénale, jusqu'à 50% de sa valeur vers l'âge de 90 ans.

La répartition intra-rénale du débit sanguin rénal n'est pas homogène avec une diminution du DSR par gramme de tissu du cortex à la médullaire. En effet, 90% du DSR destiné au cortex, la médullaire ne recevant ainsi que 10% du DSR.

Le débit sanguin rénal est déterminé par la pression artérielle de perfusion et les résistances vasculaires de telle sorte que toute modification du DSR repose sur une adaptation des résistances vasculaires. Il existe ainsi une première résistance pré glomérulaire, responsable d'une chute des pressions intravasculaires moyennes de 120-100 mmHg à 60-45 mmHg dans le capillaire glomérulaire, selon des mesures invasives réalisées chez le chien. L'artériole afférente constitue l'essentiel des résistances pré glomérulaires mais l'artère inter lobulaire pourrait également être responsable d'une baisse de pression de l'ordre de 30 mmHg. La paroi de cette artère est riche en fibres musculaires lisses, en terminaisons nerveuses adrénergiques, et potentiellement dopaminergiques ; et peut, dans certaines conditions, synthétiser des prostaglandines et de la rénine. Ainsi, l'artère inter lobulaire semble participer activement à la régulation du DSR alors que les plus gros vaisseaux (artères rénales, artères lobaires et arquées) dans les résistances vasculaires rénales totales est en effet négligeable. Par la suite, la résistance artériolaire efférente va être responsable d'une 2eme chute de pression, de 60-45 mmHg à 20-15 mmHg environ, entre le capillaire glomérulaire et le capillaire post glomérulaire (Figure 3). Enfin, les résistances veineuses post artériolaires ne représentent pas moins de 20% des résistances vasculaires rénales

totales et reflètent essentiellement la pression tissulaire intra-rénale. De fait, la paroi des veines rénales ne contient pas de fibre musculaire lisse (9,10).

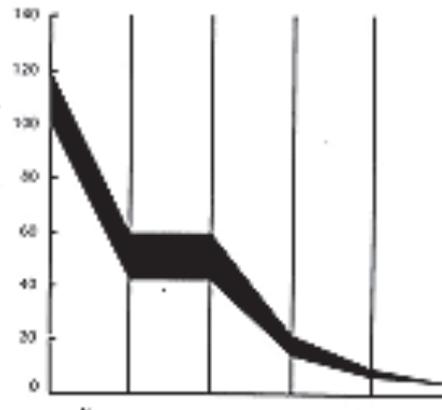


Figure 3 : Evolution des pressions hydrostatiques dans le lit vasculaire rénal de l'artériole afférente à la veinule rénale (en mmHg). En abscisse, site de mesure de la pression allant de l'artériole afférente le plus à gauche à la veinule rénale le plus à droite en passant par (de gauche à droite) : capillaire glomérulaire puis artériole efférente puis capillaire post glomérulaire puis veinule rénale. En ordonnée, pression mesurée en mmHg. Adapté de «Physiologie Rénale et désordres hydroélectrolytiques», M. Paillard, Hermann, Editeurs des Sciences et des Arts.

1.2.2 La filtration glomérulaire

Le débit plasmatique rénal correspond à 20% du débit cardiaque et environ 20% de ce débit traverse la membrane capillaire du glomérule pour former le filtrat glomérulaire soit environ 120 mL/min et environ 180 L/24H, dont la composition correspond à un ultrafiltrat plasmatique. Le rapport entre le débit de filtration glomérulaire et le débit plasmatique, de l'ordre de 20% chez l'homme, correspond à la fraction filtrée.

1.2.2.1 Déterminants de la filtration glomérulaire

Le gradient de pression hydrostatique (ΔP) à travers le capillaire glomérulaire favorise le processus de filtration. La pression hydrostatique capillaire (P_{cg}), mesurée chez le rat hypopénique ou euvolémiq, est environ de 45 mmHg, et diminue très peu du début à la fin du capillaire (11). La pression hydrostatique dans la capsule de Bowman est faible et stable (10 mmHg) soit un gradient de pression hydrostatique (ΔP) résultant de l'ordre de 35 mmHg. A l'inverse, le gradient osmotique ($\Delta \Pi$) retient le plasma dans le capillaire. La barrière glomérulaire étant très peu perméable aux protéines, l'ultrafiltrat ne contient que 10-20 mg.L de protéines (11). La pression osmotique à l'entrée du capillaire, considérée comme équivalente à celle du sang artériel, est d'environ 20 mmHg, correspondant à une concentration de protéines de 60 g.L. Les protéines sont alors progressivement concentrées dans le capillaire au fur et à mesure du processus de filtration ; au début de l'artériole efférente, la concentration mesurée en protéines est à 75 g.L, correspondant à une pression osmotique de 35 mmHg, valeur égale au gradient de pression hydrostatique (ΔP) chez le rat (11). La pression osmotique ne croit pas de manière linéaire mais augmente rapidement au début du capillaire lorsque la différence entre le gradient de pression hydrostatique et de pression osmotique est grande, puis de plus en plus lentement pour rejoindre le gradient de pression hydrostatique avant la fin du capillaire, point à partir duquel le processus de filtration s'arrête : il y a équilibre de filtration.

La pression moyenne d'ultrafiltration (P_{uf}) est la différence entre le gradient de pression hydrostatique (ΔP) et le gradient de pression osmotique ($\Delta \Pi$). Le coefficient d'ultrafiltration K_{uf} est le produit de la surface de filtration d'un glomérule par la perméabilité hydraulique de la paroi capillaire par unité de surface. Cette surface de filtration peut être régulée par les

cellules mésangiales glomérulaires qui contiennent des myofilaments contractiles (6). La contraction de ces myofilaments diminue Kuf en diminuant la surface de filtration. Ainsi le DFG individuel par néphron est égal au produit de Kuf par Puf soit $DFG_{in} = Kuf \times Puf$.

Quatre facteurs modulent le DFG : les variations de débit plasmatique glomérulaire, du gradient de pression hydrostatique capillaire, du gradient de pression osmotique capillaire et du coefficient d'ultrafiltration.

Variations du débit plasmatique glomérulaire

L'augmentation du débit plasmatique glomérulaire après perfusion intraveineuse de plasma est accompagnée d'une élévation du débit de filtration glomérulaire, d'autant plus importante si le Kuf est élevé (9). Chez l'homme et le chien, où le Kuf est bas et où il n'y a donc probablement pas d'équilibre de filtration, l'augmentation du débit plasmatique rénal n'a qu'un effet modéré sur le DFG (10).

Variations du gradient de pression hydrostatique capillaire (ΔP)

Une augmentation de ΔP s'accompagne d'une élévation du DFG individuel et inversement. Cette valeur dépend essentiellement des résistances artériolaires pré glomérulaires (artérioles afférentes) et post glomérulaires (artérioles efférentes) ainsi que de la pression artérielle moyenne. Une constriction de l'artériole afférente, réalisant une augmentation de la résistance artériolaire rénale, a comme conséquences une diminution du débit plasmatique rénal et une diminution de la pression hydrostatique capillaire (P_{cg}) avec, comme conséquence, une diminution du DFG. Une constriction de l'artériole efférente diminue le débit sanguin rénal et tend donc à diminuer le DFG (9).

1.2.2.2 Régulation du débit sanguin rénal et de la filtration glomérulaire

Le DSR n'est pas gouverné par les besoins métaboliques, comparativement à d'autres organes, puisque le rein ne consomme que 10 à 15% de l'oxygène qui lui est présenté. Le rôle majeur de la circulation rénale semble être de protéger la filtration glomérulaire contre d'importantes variations hémodynamiques.

Régulation intrinsèque

Le débit sanguin rénal, et de chaque néphron, est maintenu relativement constant lors de chaque variations importantes de la pression artérielle moyenne entre 80 et 140 mmHg : c'est l'autorégulation du DSR qui persiste sur rein dénervé et au moins en partie, sur le rein isolé- perfusé, indépendamment des influences humorales ou nerveuses. A partir d'études sur le rat (espèce possédant des néphrons superficiels accessibles), il a été mis en évidence qu'il existait également une autorégulation du DFG pour un domaine de pression artérielle identique à celui de l'autorégulation du DSR, dépendant principalement des variations des résistances artériolaires pré glomérulaires (10). Ces mesures directes confirment que le débit sanguin glomérulaire est maintenu principalement par l'adaptation de la résistance de l'artériole afférente, la résistance de l'artériole efférente variant peu avec un gradient hydrostatique capillaire stable. La papavérine, myorelaxant de la fibre musculaire lisse, en supprimant toute vasomotricité artériolaire, abolit l'autorégulation du DSR et du DFG. Si la pression artérielle moyenne chute en dessous de 80 mmHg, l'autorégulation devient insuffisante et le DSR ainsi que le DFG chutent avec une chute du DFG plus importante en raison d'une chute de la pression hydrostatique capillaire.

Deux mécanismes sont proposés pour expliquer l'auto régulation : le mécanisme myogénique et le rétrocontrôle négatif tubulo-glomérulaire. Le mécanisme myogénique s'explique par la présence de cellules musculaires lisses au niveau de l'artériole afférente. En cas d'augmentation de la pression de perfusion, l'ouverture des canaux calciques sensibles à l'étirement provoque une entrée de calcium dans la cellule musculaire lisse. La vasoconstriction active qui en résulte compense la vasodilatation passive initiale due à l'augmentation de pression transmurale. Ainsi, l'augmentation de la résistance afférente, par diminution du calibre artériolaire, protège le glomérule et maintient le DSR constant (9). L'autorégulation du DSR persiste au moins en partie lorsque le rétrocontrôle tubulo-glomérulaire est très diminué (en présence de diurétique de l'anse par exemple) ou supprimé (par détournement du flux tubulaire du tube proximal). La réponse myogénique immédiate persiste en présence d'Indométhacine inhibant la synthèse des prostaglandines rénales ou d'un inhibiteur de l'angiotensine de type II. In vitro, sur des artérioles isolées, la vasoconstriction de l'artériole afférente causée par une élévation de la pression de perfusion, s'accompagne d'une dilatation passive de l'artériole efférente. Concernant le rétrocontrôle tubulo-glomérulaire, il s'explique par la proximité anatomique entre le début du tube contourné distal (*macula densa*) et le glomérule. Une perfusion croissante de NaCl au niveau de la fin du tube contourné proximal, s'accompagne d'une augmentation du débit de fluide tubulaire et une augmentation de la concentration de NaCl au niveau de la *macula densa*. Ces modifications sont expliquées par le fait que la réabsorption de NaCl sans eau, dans la branche large ascendante de Henlé, diminue. Ces modifications s'accompagnent d'une diminution du DFG du même néphron. Le signal au niveau de la *macula densa* semble être la variation de composition du fluide tubulaire plutôt que la variation du débit. En effet, sous

l'effet de Furosémide, qui inhibe la réabsorption de NaCl au niveau de la branche large, une augmentation du débit de perfusion de l'anse de Henlé n'est plus responsable d'une réduction du DFG. La variation de la concentration de chlore semble être déterminante puisque la microperfusion de sulfate de sodium supprime le rétrocontrôle (12) (Figure 4).

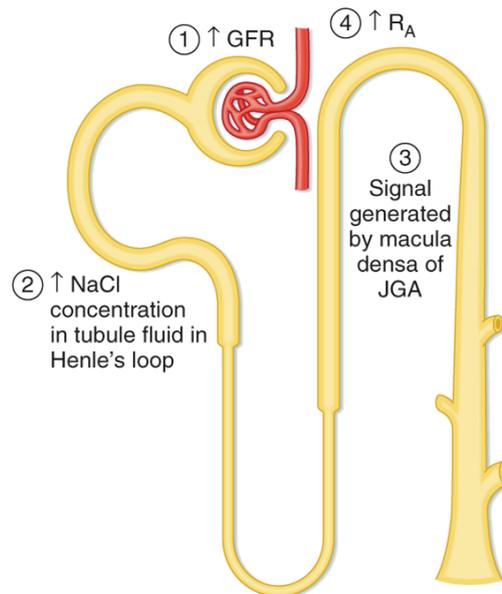


Figure 4 : Le rétro- contrôle tubulo glomérulaire, adapté de Koeppen and Stanton (13).

1. Augmentation du DFG, 2. Augmentation de la concentration en NaCl au niveau de la branche large ascendante, 3. Signal au niveau de la macula densa, 4. vasoconstriction de l'artériole afférente.

Les mécanismes effecteurs de la réponse ont été étudiés chez le rat doté de glomérules superficiels. L'augmentation du débit de perfusion dans l'anse de Henlé, de 5 à 40 nL/min est responsable d'une diminution du débit sanguin glomérulaire et du DFG individuel respectivement de 35% et 20% (10). L'augmentation de résistance de l'artériole afférente explique la diminution du débit sanguin glomérulaire mais la baisse du DFG s'explique par une baisse conjointe de la pression hydrostatique dans le capillaire glomérulaire et du débit

sanguin glomérulaire. Le médiateur entre la macula densa et la structure vasculaire pourrait être l'adénosine.

Par ailleurs, le rein synthétise plusieurs substances vasoactives qui exercent leur effet localement : les hormones du système rénine-angiotensine, les dérivés de l'acide arachidonique et le système kinine-kallicréine. Nous allons nous attacher à décrire les deux premiers.

Système rénine- angiotensine intra rénal

Tous les composants nécessaires à la synthèse locale d'angiotensine II sont présents dans l'appareil juxta glomérulaire. La rénine, synthétisée par les cellules granulaires de l'artériole afférente, est libérée dans l'interstitium rénal, ce qui permet la formation locale d'angiotensine I convertie en angiotensine II, d'autant que l'enzyme de conversion est exprimée sur la membrane des cellules endothéliales glomérulaires. L'angiotensine II est un des plus puissants agents vasoconstricteurs connus et le réseau vasculaire rénal est plus particulièrement sensible à son effet vasoconstricteur (14). La perfusion dans la circulation générale de doses d'angiotensine II ne modifiant pas la pression artérielle systémique, ou sa perfusion directe dans l'artère rénale, entraîne une élévation dose-dépendante des résistances vasculaires rénales ainsi qu'une diminution du DSR. Le DFG est diminué de manière moins importante en raison d'une augmentation de la fraction filtrée, constatations en faveur d'une action prédominante de l'angiotensine II sur l'artériole efférente (15).

Dérivés de l'acide arachidonique

Les principaux dérivés de l'acide arachidonique dans le rein proviennent de la voie de la cyclooxygénase. Ce sont les prostaglandines E2, D2, I2 ou prostacycline et la thromboxane A2. Les prostaglandines E2, D2 et I2 sont vasodilatatrices alors que la thromboxane A2, vasoconstrictrice, n'est synthétisée qu'en quantité très faible en situation physiologique. La perfusion dans l'artère rénale, chez le chien et le lapin, d'acide arachidonique, de PGI2, D2 ou E2 entraîne généralement une augmentation du DSR. Chez le rat, un effet vasoconstricteur paradoxal est observé, avec une diminution du DSR et du DFG (15). Ces effets variables sont expliqués probablement par une activation locale plus ou moins importante du système rénine-angiotensine par les prostaglandines. En effet, en présence d'un inhibiteur de l'angiotensine de type II, la perfusion de prostaglandine I2 entraîne constamment une augmentation du DSR et du DFG (14). La localisation des effets des prostaglandines sur la microcirculation a été précisée chez le rat porteur de glomérules superficiels et il a été démontré qu'en présence d'un inhibiteur d'angiotensine II, les prostaglandines entraînent une diminution constante à la fois des résistances artériolaires afférente et efférente, avec une augmentation conséquente des débits sanguin glomérulaire et de filtration glomérulaire individuel, le K_{uf} restant inchangé (15).

Les interactions entre les différents systèmes hormonaux de régulation sont multiples : l'angiotensine II, par exemple, stimule la synthèse des prostaglandines rénales aussi bien *in vivo* que *in vitro*. Inversement, les prostaglandines stimulent la sécrétion de rénine par le glomérule. Les glomérules synthétisent également de nombreuses autres substances, pour la plupart dotées de propriétés vasomotrices : adénosine, histamine, PAF. L'endothéline est synthétisée par les cellules endothéliales et agit comme un très puissant vasoconstricteur, diminuant le DSR et le DFG. L'ERDF, également libéré par l'endothélium, a une action opposée.

Régulation extrinsèque

Système nerveux

Le rein est un des organes les plus richement innervés. L'innervation efférente post ganglionnaire est exclusivement sympathique et principalement noradrénergique. Les terminaisons nerveuses efférentes se distribuent à l'ensemble des vaisseaux du cortex rénal, à tous les éléments de l'appareil juxta glomérulaire et aux tubules. Il existe également des terminaisons dopaminergiques au pôle vasculaire des glomérules. Une stimulation électrique importante des nerfs rénaux entraîne une augmentation des résistances vasculaires rénales, avec une diminution du DSR et du DFG. En cas de stimulation moins intense, le DFG reste normal en raison d'une action prédominante sur l'artériole efférente responsable d'une augmentation de la fraction filtrée. Les nerfs rénaux efférents modulent l'hémodynamique rénale par un double mécanisme : directement via les récepteurs α_1 vasoconstricteur et indirect par un effet β_1 activant le système rénine-angiotensine local.

Hormones extra rénales

Les effets presseurs de l'ADH sont observés à des doses supérieures à celles nécessaires pour obtenir une action anti diurétique maximale. Ces effets hémodynamiques de l'ADH sont liés à l'interaction de l'ADH avec des récepteurs vasculaires de type I, responsables d'une augmentation du calcium ionisé cytosolique dans la cellule. Ils se distinguent de l'effet antidiurétique, dépendant d'une interaction hormonale avec des récepteurs de type V2, qui stimulent l'adénylate cyclase et donc augmentent l'AMPc intracellulaire (15).

Adaptation du DSR et du DFG

Dans des conditions basales, à l'euvolémie et après des apports normaux en eau et en sel, les systèmes hormonaux et le système nerveux ne semblent pas jouer un rôle déterminant mais leur rôle devient primordial en cas de modifications des conditions basales ; par exemple, en cas d'hypovolémie aiguë, avec une diminution de l'ordre de 30% de la pression artérielle systémique, la diminution du DSR et du DFG reste modérée, de 33% et 20% respectivement, en raison d'une augmentation de la fraction filtrée. L'augmentation de la fraction filtrée est liée à l'effet vasoconstricteur prédominant de l'ATII et du système sympathique sur l'artériole efférente. Par ailleurs, en cas de perfusion d'Indométhacine, la même hémorragie s'accompagne d'un effondrement du DSR et du DFG d'environ 90%, soulignant le rôle majeur des prostaglandines rénales vasodilatatrices dans la limitation de la baisse du DFG et du DSR lors d'une hypovolémie aiguë (16).

1.3 Le tubule rénal et la réabsorption de sodium

1.3.1 Généralités

L'ultrafiltration du plasma sanguin à travers la membrane glomérulaire délivre au tubule rénal un liquide dont la composition est celle du milieu interstitiel. Le rôle du tubule est alors de : réabsorber la majeure partie de l'eau et des substances dissoutes essentielles au maintien de la composition du milieu intérieur. Ainsi le tubule rénal réabsorbe plus de 99% des 180L d'eau et 25.000 mmol de sodium filtrés par 24h, ce qui permet d'excréter 1 à 2L d'eau par jour et 100 à 200 mmol de sodium par 24h ; et de permettre l'élimination des produits de dégradation du métabolisme.

La réabsorption de sodium par le rein, de l'ordre de 99% de la charge alimentaire, constitue l'essentiel de la consommation d'énergie par le rein. Environ 66% du sodium filtré est réabsorbé de manière iso-osmotique avec de l'eau dans le tubule proximal et 24% sont réabsorbés dans l'anse de Henlé (essentiellement dans la branche large), puis 9% le sont dans le tubule distal et le canal collecteur cortical et médullaire.

1.3.2 Tubule proximal

Les principales fonctions du tube proximal sont : de réabsorber la majeure partie des substances dissoutes ultrafiltrées par la glomérule (sodium, potassium, chlore, bicarbonate, phosphate, mais aussi acides aminés, glucose, certains acides organiques du cycle de Krebs) ; de réabsorber par les phénomènes d'endocytose, les protéines qui ont traversé la membrane glomérulaire en faible quantité ; de favoriser l'élimination de produits de dégradation du métabolisme, en limitant leur réabsorption tubulaire (urée, acide urique) ou en les sécrétant (acide urique, bases organiques endogènes) ; d'initier l'acidification de l'urine et de synthétiser et de sécréter de l'ammoniac, ce qui permet d'excréter les acides produits par le métabolisme ; de sécréter des médicaments ; et de synthétiser le principal métabolite actif de la vitamine D, le 1-25 (OH)₂D₃, à partir du 25(OH)D₃ d'origine hépatique.

Le principal système de transport actif proximal, dont la source d'énergie est l'ATP produite dans la cellule, est la Na⁺/K⁺ ATPase présente dans la membrane baso latérale. L'activité de la Na⁺/K⁺ATPase maintient une concentration intracellulaire de sodium basse et de potassium élevée. Le sodium traverse la membrane luminale des cellules tubulaires proximales de différentes manières, principalement par l'intermédiaire de divers

transporteurs protéiques assurant un co-transport électrogénique ou électroneutre de sodium couplé à d'autres substances. En raison de la disposition asymétrique de la Na^+/K^+ ATPase et des propriétés différentes des membranes luminale et basolatérale, se réalise un transport vectoriel de sodium et d'autres solutés de la lumière tubulaire vers le capillaire péri-tubulaire. La réabsorption d'eau se fait essentiellement par la voie transcellulaire, grâce au transport transcellulaire des substances dissoutes de manière isoosmotique.

La première phase de réabsorption proximale du sodium est caractérisée par un transport transcellulaire de sodium, couplé par des transporteurs luminaux spécifiques à des substances autres que le chlore. Les cotransports luminaux sodium- D glucose et sodium- acides aminés sont réalisés par des protéines spécifiques avec une sortie vers le capillaire péri-tubulaire assurée par des transporteurs spécifiques de manière indépendante (Figure 5).

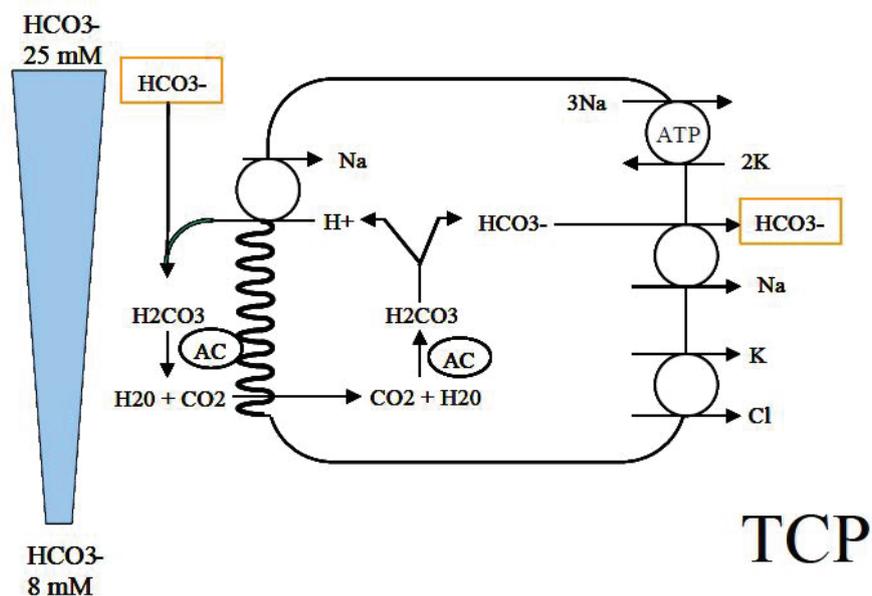


Figure 5 : Principaux transports au niveau des cellules tubulaires du tube contourné proximal- adapté du collège universitaire des enseignants de néphrologie.

1.3.3 Anse de Henlé

Les branches fines de l'anse de Henlé sont situées dans la partie interne de la médullaire externe et dans la médullaire interne du rein. Les branches fines de l'anse de Henlé sont le siège de mouvements passifs d'eau et de substances dissoutes presque exclusivement, suivant les gradients de concentration transépithéliaux (déterminés par la composition du milieu interstitiel médullaire). Le rôle principal des branches fines est avant tout la génération du gradient cortico-papillaire grâce aux mécanismes de concentration et de dilution de l'urine, le faible débit sanguin et le mécanisme de multiplication de concentration à contre-courant. Les branches fines descendantes sont, par la suite, responsable d'une concentration du fluide tubulaire en raison d'une forte perméabilité à l'eau et faible aux solutés, et d'une sécrétion nette de solutés. Dans la branche large ascendante, 1^{er} segment du néphron distal, sont réabsorbés d'importantes quantités de NaCl, NaHCO₃, calcium et magnésium. La branche large ascendante permet également de diluer le fluide tubulaire en raison d'une imperméabilité de la membrane luminale à l'eau.

1.3.4 Tubule distal

Ce segment correspond à la partie débutante du tube distal et est caractérisé par une activité Na⁺/K⁺ATPase très développée au niveau du pôle basolatéral maintenant une concentration intra cellulaire de sodium basse. Le tube contourné distal est quasiment imperméable à l'eau et est caractérisé par une réabsorption active transcellulaire de Na⁺ avec une entrée luminale par des canaux sélectifs et une sortie basolatérale par la pompe Na⁺/K⁺ATPase.

1.3.5 Canaux collecteurs

Les principales fonctions des canaux collecteurs sont : de réguler finement les bilans de sodium et de potassium sous l'influence de l'aldostérone ; de réguler le bilan d'eau sous l'influence de l'ADH ; d'assurer l'acidification de l'urine pour permettre l'élimination de la charge acide sous forme d'ammonium et d'acidité titrable. Le canal collecteur cortical possède une activité $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ basolatérale importante. La perméabilité intercellulaire du sodium étant très faible, l'activité de la $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ permet l'absorption de sodium et la sécrétion de potassium par la cellule principale du canal collecteur cortical.

Comme nous venons de le voir, le rein possède donc une régulation fine de son débit de perfusion glomérulaire entre artériole pré et post glomérulaire afin de maintenir constante une pression de perfusion entre 80 et 140 mmHg. La fonction principale du rein étant de produire l'urine afin d'équilibrer le bilan de l'eau et du sodium essentiellement, l'évaluation du métabolisme oxydatif rénal, dévoué à la réabsorption de sodium, puis du contenu tissulaire résiduel en oxygène, est essentielle. La perfusion rénale et le métabolisme oxydatif rénal sont donc deux paramètres fondamentaux pour décrire la réponse rénale à différentes interventions et dans différents contextes physiologiques ou pathologiques. Cependant, si d'autres paramètres fonctionnels peuvent être évalués de manière non invasive, comme la filtration glomérulaire grâce aux mesures de clairance urinaire ou de décroissance plasmatique, d'autres paramètres ne le sont pas chez l'humain tels que la perfusion, le métabolisme oxydatif ou le contenu tissulaire en oxygène.

2. Imagerie fonctionnelle rénale

2.1 Evaluation fonctionnelle rénale de paramètres non corrélés linéairement

L'imagerie fonctionnelle *in vivo* est aujourd'hui le seul outil permettant une étude dynamique des modifications hémodynamiques et métaboliques rénales en lien avec différentes interventions physiologiques ou dans certains contextes pathologiques. L'absence d'utilisation de produits iodés et le caractère non invasif des techniques utilisées permettent la répétition des mesures de **perfusion rénale**, de **métabolisme oxydatif rénal** et de **contenu en oxygène** (17–22). Leurs pertinences, dans le cadre de la recherche, repose sur plusieurs études ayant validé ces différentes techniques, indépendamment, contre leurs *gold-standards* plus invasifs. Par ailleurs, ces paramètres n'étant pas corrélés de manière linéaire (23), il est primordial de les évaluer de manière concomitante. En effet, comme nous l'avons décrit plus haut, une des fonctions primordiales de la médullaire rénale est d'assurer la concentration adéquate de l'urine, ce qui nécessite le maintien d'un gradient de concentration cortico-papillaire, d'environ 50 mOsm/kg dans le cortex superficiel jusqu'à environ 1200 mOsm/kg dans la médullaire la plus profonde. Ce gradient est maintenu par 2 mécanismes : le maintien d'un débit sanguin médullaire bas et le maintien d'une réabsorption active de sodium le long de la branche ascendante large de l'anse de Henlé, nécessitant une consommation d'énergie et donc d'oxygène importante. La médullaire rénale est ainsi particulièrement sensible à l'hypoxie et donc aux épisodes d'ischémie-reperfusion. Dans la plupart des organes, la pression régionale en O₂ est étroitement corrélée avec le débit sanguin régional, la consommation d'O₂ étant relativement constante ce qui n'est pas le cas dans le rein. Dans le rein, il n'y a pas de corrélation entre le débit sanguin rénal et le contenu en oxygène : quand le débit sanguin rénal augmente, il y a une augmentation du débit de filtration glomérulaire et donc de la charge filtrée en sodium. Cette

augmentation de la charge filtrée va entraîner une augmentation du métabolisme oxydatif et donc de la consommation en oxygène via la réabsorption tubulaire, contribuant à la diminution du contenu en oxygène (figure 6). A l'inverse, en aval d'une sténose significative de l'artère rénale, il a été démontré que la réduction de la perfusion rénale, ne s'accompagnait pas d'une réduction du contenu en oxygène en raison de la mise en jeu de mécanismes de protection contre l'hypoxie tissulaire avec un contenu tissulaire en oxygène qui restait stable (20).

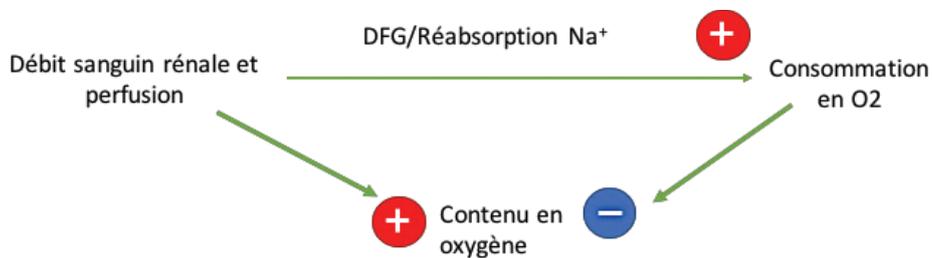


Figure 6 : Relation non linéaire entre débit sanguin rénal, consommation en oxygène et contenu tissulaire en oxygène. Adapté d'Evans et coll (23).

Les modifications du contenu tissulaire en oxygène peuvent ainsi être secondaires soit à une modification de la perfusion ou à une modification du métabolisme oxydatif avec le risque d'une hypoxie médullaire en cas d'augmentation de la réabsorption tubulaire ou d'une diminution de sa perfusion (24).

Il est donc primordial de pouvoir mesurer la perfusion, le métabolisme oxydatif et le contenu tissulaire en oxygène concomitamment afin de décrire, de manière globale, la performance rénale. Cependant, actuellement en clinique, nous ne disposons plus que de la mesure du débit de filtration glomérulaire sur les 2 reins. Nous n'avons en effet plus la possibilité de mesurer la perfusion rénale depuis la disparition du PAH (Para AminoHippuric Acid). Notre équipe de recherche s'est intéressée aux développements

d'outils de mesures pour caractériser au mieux cette performance rénale et décrire l'ensemble des paramètres physiologiques rénaux. **Ces outils doivent permettre de réaliser des mesures sur reins séparés, régionales, non invasives et quantitatives, couplées à une étude morphologique.** Nous disposons donc de plusieurs techniques d'imagerie permettant d'évaluer ces paramètres fonctionnels rénaux que nous allons décrire dans le chapitre suivant.

2.2 Différentes techniques pour différents paramètres

Ces paramètres évaluant la performance rénale sont accessibles avec des méthodes d'imagerie fonctionnelle, telles que la tomographie d'émission de positons (TEP) à l'eau et l'acétate marqués, l'imagerie par résonance magnétique avec notamment la technique BOLD (Blood Oxygen Level Dependant) et plus récemment la combinaison hybride et simultanée TEP-IRM.

2.2.1

Tomographie par Emission de Positrons

2.2.1.1 Principe physique

La Tomographie par Emission de Positons (TEP) est un outil d'exploration fonctionnelle qui permet des mesures de métabolisme oxydatif rénal grâce à l'acétate marqué au ^{11}C et de perfusion rénale grâce à l'eau marquée à l' $^{15}\text{O}_2$. La TEP utilise des traceurs marqués avec des isotopes d'atomes habituellement présents dans l'organisme. Les isotopes utilisés se désintègrent en émettant un positon (β^+ , antiélectron). Cette émission est immédiatement

suivie de la dématérialisation du positon et d'un électron lors d'un choc (annihilation). Cette annihilation produit deux photons gamma de 511 keV émis selon une même direction mais dans un sens opposé. En effet, les capteurs situés tout autour du patient détectent les photons d'annihilation en coïncidence (c'est-à-dire ceux qui arrivent en même temps), ce qui permet d'identifier la ligne sur laquelle se trouve l'émission des photons. Un système informatique reconstitue ensuite l'image à l'aide d'un algorithme de reconstruction. Les images obtenues sont de 2 types: statiques (correspondant à la sommation de l'ensemble des événements, permettant de tracer des régions d'intérêts) et des images dynamiques (correspondant à la sommation des événements pendant des intervalles de durées prédéfinies) permettant de mesurer séquentiellement l'activité tissulaire au niveau des reins et de l'aorte. Grâce à l'analyse des images, il est possible de tracer des régions d'intérêt (ROI) sur les images anatomiques, corticales ou médullaires. Les images dynamiques reconstruites sont ensuite « calées » afin de pouvoir obtenir une courbe définissant l'évolution de la radioactivité en fonction du temps et ensuite de pouvoir en déduire les valeurs des paramètres d'intérêt.

Les limites de la technique reposent avant tout sur son coût, la dépendance au cyclotron pour la production des traceurs et l'irradiation engendrée. Il faut également prendre en considération l'effet de volume partiel (la perte d'activité apparente dans les petits objets ou les régions en raison de la résolution limitée du système d'imagerie, Figure 7) et l'effet de spill-over (inverse de l'effet de volume partiel avec gain apparent d'activité des petits objets) particulièrement gênant pour le rein en raison de la proximité entre la médullaire et le cortex, et fortement dépendant de la résolution de l'image obtenue et donc de la puissance de la caméra.

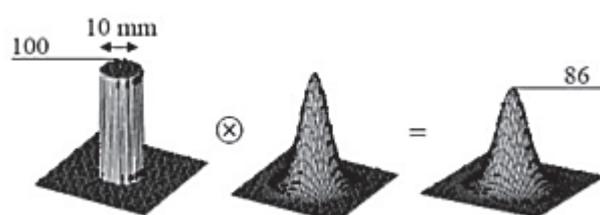


Figure 7: Schématisation de l'effet de volume partiel faisant apparaître un objet plus petit en raison d'une résolution insuffisante. Adapté de P. Ciuciu.

2.2.1.2 Applications cliniques

2.2.1.2.1 Mesure de perfusion rénale

La mesure de la perfusion rénale en mL/g/min et du débit sanguin rénal (DSR) en mL/min est donc fondamentale pour l'évaluation de la physiologie rénale et des pathologies associées (25,26). La TEP à l'eau marquée à l'oxygène 15 ($[^{15}\text{O}]\text{-H}_2\text{O}$), a été validée par Juillard *et coll.*, chez le cochon contre le gold standard (modèle modifié de microsphères) (19) avec une mesure de perfusion corticale (ROI corticales) (Figure 8). Dans cette étude, la perfusion rénale chez le cochon obtenue grâce à la TEP à l'eau marquée à l'oxygène 15 ($[^{15}\text{O}]\text{-H}_2\text{O}$) a été comparée à celle obtenue après sacrifice de l'animal en récoltant les microsphères présentes dans le rein afin de quantifier la perfusion du rein de manière sanglante.

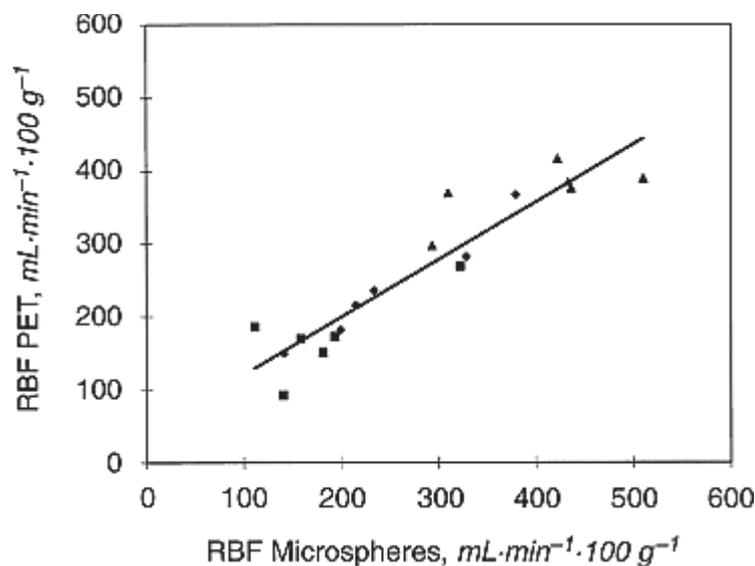


Figure 8 : Corrélation entre les mesures de DSR par technique des microsphères et TEP à l'eau marquée chez le cochon. Adapté de Juillard *et coll* (19). En abscisse, le

débit sanguin par techniques des microsphères et en ordonnée, le débit sanguin rénal mesuré en TEP à l'Eau marquée.

Le modèle validé est un modèle mono-compartimental où K_1 , l'efflux du marqueur de l'aorte (fonction d'entrée) vers le rein, correspond à la perfusion rénale en mL/g/min (Figure 9) dans la mesure où l'eau est librement diffusible (100%) et où il n'y a donc pas besoin d'appliquer un coefficient d'extraction du traceur dans le tissu.

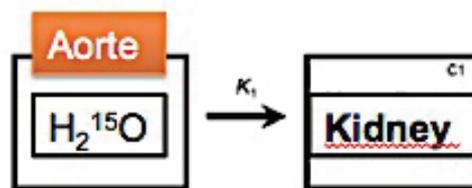


Figure 9 : Exemple d'un modèle monocompartmental, validé pour décrire le comportement de l'eau $H_2^{15}O$ dans le rein et extraire K_1 soit le reflet de l'entrée de l'eau dans le rein, validé comme marqueur de perfusion rénale.

Chez l'humain, la réalisation de mesure au PAH permettait la mesure du DSR avec une excellente corrélation entre la mesure en PAH et celle en TEP à l'Eau marquée (Figure 10). L'utilisation du PAH est cependant interdite désormais en raison d'alertes concernant la sécurité de son emploi et la perfusion rénale n'est donc plus mesurée en clinique. Seule l'imagerie fonctionnelle permet actuellement la mesure du DSR grâce à la TEP à l'eau marquée, mais actuellement utilisée uniquement en recherche clinique.

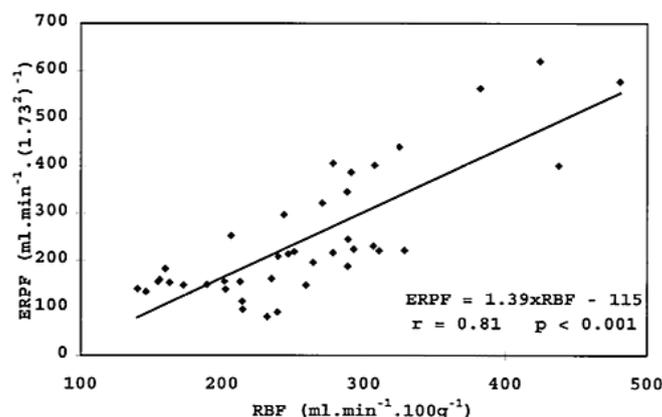


Figure 10 : Corrélation entre les mesures de DSR par technique du PAH et TEP à l'eau marquée. Adapté de Juillard *et coll* (21). En abscisse le débit sanguin rénal mesuré en TEP à l'Eau marquée et en ordonnée, le débit sanguin rénal estimé par la clairance du PAH.

2.2.3.2.2 Mesure du métabolisme oxydatif

Les reins sont les organes qui possèdent le métabolisme oxydatif le plus élevé, représentant 10 % de celui du corps total pour 1% du poids total (27). Ce haut niveau de métabolisme oxydatif intervient notamment dans la réabsorption du sodium qui représente l'essentiel de la consommation d'oxygène par les reins (28,29). Les méthodes de référence de l'étude du métabolisme oxydatif (différence artérioveineuse en oxygène ou mesure de la consommation en oxygène de tubules isolés (30)) ne sont pas applicables chez l'humain, rendant l'exploration du métabolisme oxydatif rénal limitée chez l'homme.

La TEP réalisée à l'acétate marqué au carbone 11 (¹¹C-acétate) permet une évaluation du métabolisme oxydatif rénal, grâce à une transformation rapide en Acétyl-CoA par le cycle de Krebs dans les cellules rénales (Figure 11). En effet, après injection intraveineuse, l'acétate est extrait du compartiment sanguin par les cellules rénales, puis capté par le cycle

de Krebs et relargué sous forme de $^{11}\text{CO}_2$. Il s'agit donc d'une évaluation indirecte de la consommation en oxygène.

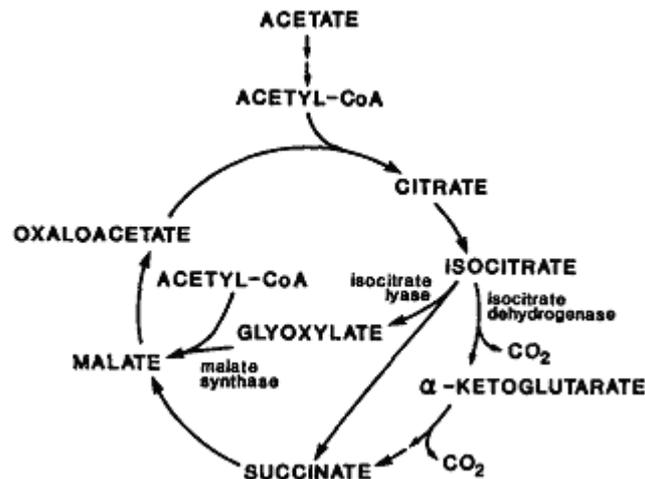


Figure 11. Cycle de Krebs. Transformation rapide du ^{11}C - acétate en Acétyl- CoA pour pénétrer dans le cycle de Krebs qui permet la libération d'énergie sous forme d'ATP. Le ^{11}C est ensuite relargué sous forme de $^{11}\text{CO}_2$.

Cette technique a été validée dans le cœur avec un modèle bi compartimental adapté (31) en raison de la présence d'un pool de glutamate dans le cœur (32). Par la suite, la validation de cette technique pour l'étude du métabolisme oxydatif rénal cortical a été réalisée par Juillard *et coll* après différentes interventions pharmacologiques, chez le cochon, (17). L'évaluation du métabolisme oxydatif rénal par TEP à l'acétate marqué au ^{11}C au niveau de ROI corticales est très bien corrélée à la consommation rénale en oxygène, mesurée par différence artério- veineuse sanglante chez des animaux (Figure 12).

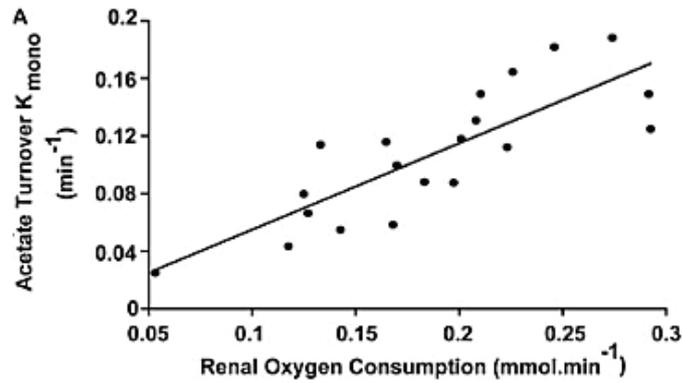


Figure 12. Corrélation entre l'évaluation du métabolisme oxydatif rénal par turn-over de l'acétate par technique TEP à l'acétate marqué en ordonnée et mesure de la différence artérioveineuse rénale en oxygène par technique sanguine chez l'animal en abscisse. Adapté de Juillard *et coll* (17).

Le modèle validé est également un modèle mono-compartmental où le k_2 , reflet de la sortie du traceur du rein, correspond au turn-over de l'acétate et donc au métabolisme oxydatif (Figure 13).

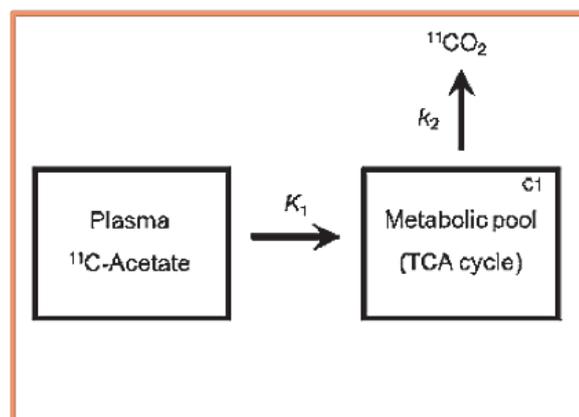


Figure 13. Exemple d'un modèle monocompartmental validé pour décrire le comportement de l'acétate dans le rein et extraire k_2 soit le reflet de la sortie de l'acétate du rein, validé comme marqueur du métabolisme oxydatif rénal : le ^{11}C

présent dans le plasma pénètre dans le rein où il est capté par le cycle de Krebs permettant la production d'ATP avec relargage de $^{11}\text{CO}_2$.

Enfin, Shreve et coll ont démontré que le métabolisme oxydatif rénal était clairement diminué chez l'homme dans le contexte de l'insuffisance rénale chronique et ce, alors que l'acétate n'est pas éliminé par le rein et ne s'accumule donc pas chez les patients insuffisants rénaux chroniques (33).

Cependant, il est important de souligner que la différence artério veineuse en oxygène est une mesure réalisée sur rein entier alors que les ROI ayant permis de valider la mesure sont des ROI corticales qui ne permettent donc que d'évaluer le métabolisme oxydatif cortical. Par ailleurs, à la différence du cœur qui possède une consommation en oxygène globalement homogène, la complexité de l'organisation cortico- médullaire du rein est responsable d'inhomogénéité du métabolisme oxydatif dont cette technique ne peut pas rendre compte.

2.2.4 L'imagerie par résonance magnétique ou IRM

2.2.4.1 Principe physique

L'IRM repose sur le principe de la résonance magnétique nucléaire qui utilise les propriétés quantiques des noyaux atomiques. L'IRM nécessite un champ magnétique puissant et stable produit par un aimant supraconducteur qui crée une magnétisation des tissus par alignement des spin des molécules d'eau. Des champs magnétiques oscillants plus faibles, dits de « radiofréquence », sont alors appliqués de façon à légèrement modifier cet alignement et produire un phénomène de précession qui donne lieu à un signal électromagnétique

mesurable. Le temps de répétition (TR) est l'intervalle de temps entre deux excitations. Le temps d'écho (TE) est l'intervalle de temps entre l'excitation et la survenue du signal IRM. Une séquence IRM est un ensemble d'impulsions excitatrices dont les paramètres (TE, TR) sont ajustés pour obtenir des images ayant un contraste donné T1 ou T2 en autres. Parmi les différentes techniques d'imagerie disponibles pour le rein, l'IRM possède un champ d'application très large notamment en raison de l'absence d'injection nécessaire de produits iodés néphrotoxiques. L'augmentation de la puissance du champ magnétique des derniers appareils IRM disponibles de 1.5 à 3 Tesla a permis d'améliorer la résolution spatiale et le ratio « signal to noise » (signal sur bruit).

2.2.4.2 Applications cliniques

Perfusion rénale

La technique par marquage de spin en ASL (Arterial Spin Labelling) permet d'obtenir une mesure de perfusion rénale sans utilisation de produit de contraste en utilisant l'eau contenue dans le sang comme traceur endogène (34). L'ASL est une technique non invasive qui marque les protons du sang artériel par une impulsion de radiofréquence. Si la faisabilité de cette technique a été démontrée dans le rein (35,36), la limite principale de cette technique repose sur le rapport signal/ bruit (signal- to- noise ratio, SNR), nécessitant la répétition des mesures pour permettre d'obtenir une moyenne plus fiable (37). Cette technique est cependant très sensible, notamment aux mouvements respiratoires, ce qui limite son utilisation chez l'humain non anesthésié et notamment pour l'étude des organes intra abdominaux en raison de la nécessité de tenue d'apnée qui limite le nombre d'acquisitions possibles. La mesure de perfusion rénale en ASL chez des sujets sains a cependant été validée au cours d'acquisition réalisée pendant la tenue d'apnée (35) alors que la réalisation de ces acquisitions paraît plus compliquée chez des patients insuffisants rénaux chroniques.

La technique a ainsi été comparée à la perfusion rénale obtenue par clairance au PAH avec une bonne corrélation pour des valeurs de DSR variant de 250 à 350 mL/min/m, après intervention pharmacologique (38). Enfin, cette technique a également été comparée au gold standard des microsphères avec une très bonne corrélation concernant les valeurs considérées comme physiologiques chez le cochon et après différentes interventions pharmacologiques (acétylcholine puis isoflurane) réalisées afin d'augmenter l'éventail de valeurs (39).

Mesure du contenu en oxygène

Le maintien d'une pression partielle en oxygène (pO₂) constante au niveau du parenchyme rénal est fondamental et les variations de la pO₂ dans le cadre d'une hypoxie chronique ont été rapportées comme étant des facteurs pronostiques majeurs du développement de la fibrose interstitielle et donc de la progression de l'IRC notamment dans le contexte de la néphropathie diabétique (40–43).

Dans le sang, l'oxy- hémoglobine, qui est diamagnétique, n'affecte pas le signal IRM. Au contraire, la désoxy-hémoglobine, qui est paramagnétique, va induire une décroissance plus rapide du signal IRM en séquence dédiée T₂*. La désoxy-Hb contient un atome de fer ferreux (Fe²⁺) libre dans la molécule d'hème. Par opposition à l'oxyhémoglobine, elle peut ainsi induire des perturbations dans le champ magnétique, mesurable avec des séquences spécifiques pondérées en T₂*. La valeur R₂* (= 1/T₂*, unité : 1/sec) est inversement proportionnelle à la concentration tissulaire en désoxy-Hb. Le principe de la mesure du signal BOLD repose sur l'acquisition d'images IRM au cours d'une séquence dite « d'écho de gradient » dans la plupart des cas. Dans cette séquence, plusieurs images d'une zone d'intérêt déterminée sont réalisées à des temps d'écho croissant, variant de quelques millisecondes à quelques dizaines de millisecondes. Le temps d'écho en IRM est l'instant où

l'on mesure l'intensité du signal après l'excitation initiale des protons (ou spins) par une onde de radiofréquence. Une série d'images est donc obtenue avec une intensité du signal diminuant progressivement, le « temps d'écho » pour chaque image s'éloignant progressivement de l'excitation initiale (moment où le signal est le plus élevé) (Figure 14a). Le signal BOLD correspond à la pente de la droite de régression entre le temps d'écho et le logarithme du signal IRM et est appelé $R2^*$. Cette droite de régression est corrélée à la concentration en désoxy-Hb et, par conséquent, au contenu tissulaire en oxygène. Plus le tissu est désoxygéné et plus la valeur absolue du signal $R2^*$ ou BOLD est importante (Figure 14b).

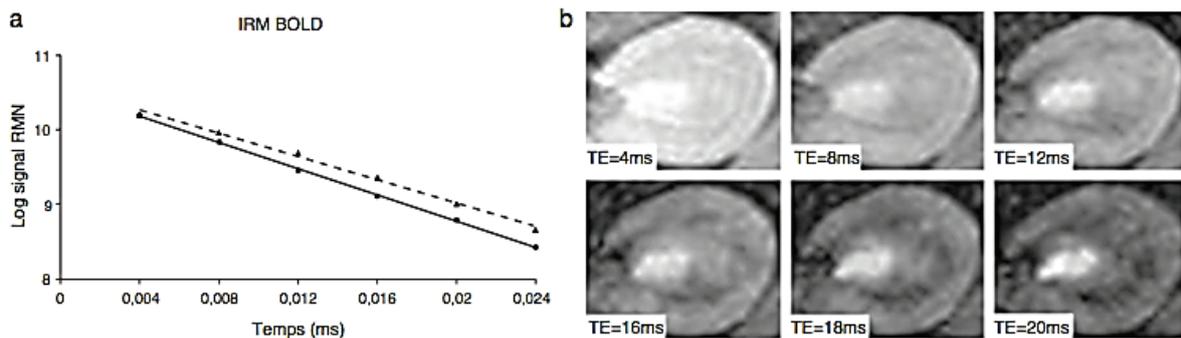


Figure 14: a : exemple de décroissance du signal d'IRM au cours d'une séquence d'écho de gradient (ligne brisée : cortex ; ligne pleine : médullaire externe). En abscisse, le temps en millisecondes et en ordonnée le signal Log en IRM. La pente de la droite est égale à $R2^*$; b : exemple de décroissance du signal d'IRM dans le rein gauche au cours d'une séquence d'écho de gradient. Adapté de Rognant *et coll* (44).

L'acquisition des séquences BOLD nécessite la tenue d'apnée en raison du risque d'artéfact lié au mouvement au cours des séquences $T2^*$ notamment pour les organes intra-abdominaux comme le rein. La puissance de l'IRM intervient également dans la qualité des

images obtenues avec une réduction du « signal to noise ratio » grâce aux IRM de 3 Tesla en raison d'une augmentation du $R2^*$ avec la puissance de l'aimant.

Afin de calculer les valeurs de $R2^*$ dans différentes régions du rein, des régions intérêts (ROIs) sont tracées manuellement sur une image obtenue lors des mesures. Plusieurs ROIs sont choisies aux niveaux cortical et médullaire. La moyenne corticale et médullaire de $R2^*$ est ensuite calculée pour les deux reins, et pour chaque rein individuellement. Les valeurs ainsi obtenues sont hautement reproductibles (45). La technique des ROIs décrite plus haute est la technique la plus fréquemment utilisée et reproductible sauf en cas d'insuffisance rénale chronique avancée en raison d'une dédifférenciation cortico médullaire ne permettant pas de distinguer suffisamment la médullaire du cortex (46).

Dans ce contexte, l'IRM-BOLD (Blood Oxygen Level Dependant) a été validé pour l'évaluation du contenu en oxygène du cortex et de la médullaire rénale chez le cochon. La forte corrélation entre les valeurs de $T2^*$ et les valeurs de pO_2 intra rénales invasives chez le cochon permet d'utiliser la valeur de BOLD comme marqueur de contenu en oxygène, sous réserve que les conditions de réalisation de l'examen soient standardisées (47).

L'apport du BOLD, comme mesure de l'oxygénation tissulaire, est primordiale pour la compréhension des pathologies touchant le rein dans la mesure où le lien entre perfusion et oxygénation n'est pas linéaire comme nous l'avons expliqué précédemment (23,48). En effet, une baisse du DSR ne s'accompagne pas forcément d'une réduction de la quantité d'oxygène délivré en raison de la mise en jeu de mécanismes de shunt artérioveineux en fonction des besoins métaboliques. A l'inverse, toute pathologie entraînant une augmentation de la réabsorption tubulaire ou une diminution de la perfusion médullaire peut induire un déséquilibre en faveur de la survenue d'une hypoxie (48).

Récemment, la perfusion corticale et la réponse médullaire au furosémide ont été décrites comme associées au déclin annuel de DFG (42). Dans le groupe de patients insuffisants rénaux chroniques de cette étude, le $R2^*$ de la médullaire était négativement associé au DFG estimé. Dans une autre étude, des valeurs de $T2^*$ corticales basses étaient associées au risque de déclin du DFG chez des patients diabétiques et non diabétiques (43). Enfin, dans le contexte de sténose athéromateuse de l'artère rénale (SAAR), il a été démontré que les valeurs de $R2^*$ étaient conservées au niveau cortical et médullaire pour des sténoses modérées témoignant d'un phénomène d'adaptation, et ce, malgré une diminution du DSR et du DFG (49).

Les limites de la technique BOLD sont liées à l'absence de réelle quantification de la pO_2 tissulaire. En effet, comme explicité, la méthode BOLD repose sur les modifications du rapport oxy- Hb/ désoxy- Hb qui dépend de la perfusion, de la consommation en oxygène, du volume sanguin circulant et de la dissociation de l'oxygène. Ces limites nécessitent de la prudence dans l'interprétation des résultats si les autres paramètres ne sont pas connus malgré une étude récente ayant proposé une formule d'estimation, validée chez le cochon pour extraire la pO_2 du $R2^*$ (50). Par ailleurs, les modalités de la réalisation de l'examen doivent être standardisées dans la mesure où de simples modifications de l'état d'hydratation ou de l'apport en sel sont responsables de modifications aiguës de l'oxygénation tissulaire rénale (51). Ainsi, une augmentation de l'apport hydrique (20 mL/kg) réalisée chez des volontaires sains était responsable d'une inhibition de la réabsorption active au niveau tubulaire, et donc d'une augmentation du flux médullaire puis d'une augmentation du contenu tissulaire en oxygène visible en $T2^*$ (52). Enfin, plusieurs études ayant démontré une variabilité inter individuelle élevée en fonction des méthodes d'analyse utilisées (46,53),

il convient de standardiser l'analyse des données pour obtenir des résultats fiables (Figure 15).

Technique	Principe	Strengths	Weaknesses
ROI	Manual placement of circles (called ROIs, 20–40 voxels each) in cortex and medulla	<ul style="list-style-type: none"> – Provides separate information on cortical and medullary R2* – Most frequently used method, easy to perform 	<ul style="list-style-type: none"> – Difficult to differentiate cortex from medulla in advanced CKD – Low reproducibility in CKD – Medullary ROI selection may be skewed by hypoxic regions in the cortex
Fractional hypoxia	Reports the percentage of R2* values of manually selected renal parenchyma above a certain threshold (usually 30 per second or >2.5 SDs above the average R2*)	<ul style="list-style-type: none"> – This parameter is easily understood by clinicians 	<ul style="list-style-type: none"> – The threshold for hypoxia is artificial – No formal assessment of medullary hypoxia
Compartmental method	The heterogeneity of renal oxygenation and its gamma distribution of R2* values is used to differentiate medulla from the cortex	<ul style="list-style-type: none"> – Smaller inter-observer variability than classical ROI technique – Allows analysis of separate cortical and medullary response to drug challenge 	<ul style="list-style-type: none"> – Vulnerable to abdominal susceptibility artefact – Inaccurate estimation in advanced CKD
TLCO or onion peel	Division of renal parenchyma from each slice in 12 layers of equal thickness, reporting mean R2* of each layer	<ul style="list-style-type: none"> – Semi-automatic procedure with lowest inter-observer variability – Large surface of renal parenchyma analysed – The steepness of the slope of the R2* curve connecting mean values of each layer depends less of absolute R2* values 	<ul style="list-style-type: none"> – No formal anatomic distinction between cortex and medulla

Figure 15 : Avantages et limites des différentes techniques d'analyse des données de BOLD. Adapté de Pruijm et coll (51).

2.3 La TEP-IRM, appareil hybride pour une évaluation globale

La TEP - IRM, en apportant une évaluation **concomitante** de la perfusion rénale, du métabolisme oxydatif rénal et du contenu tissulaire en oxygène, permet une évaluation globale du rein dans la mesure où ces trois paramètres ne sont pas corrélés de manière linéaire. Cette technique hybride combinant les fonctionnalités de la TEP et de l'IRM revêt un intérêt particulier dans le contexte de l'IRC dans la mesure où elle permet d'évaluer, de manière non invasive et sans injection d'iode, trois paramètres fonctionnels rénaux qui permettent de décrire la réponse rénale globale à différentes interventions. Comme cela a été détaillé dans la review de Pruijm *et coll*, l'évaluation du contenu tissulaire en oxygène par BOLD n'a d'intérêt qu'en cas d'évaluation concomitante de la perfusion rénale (51) par

ASL ou TEP à l'eau marquée. L'apport de la TEP à l'acétate marqué à l'évaluation globale du fonctionnement rénal n'est pas décrit dans cette review mais ce paramètre apporte une information déterminante dans la mesure où le métabolisme oxydatif rénal est très élevé et essentiellement dédié à la réabsorption de sodium, qui constitue sa principale consommation d'énergie (23).

Un appareil TEP-IRM est désormais disponible, au CERMEP à Lyon, permettant la réalisation concomitante de ces différentes mesures, en évitant les risques liés à l'irradiation de la tomodensitométrie TEP. Le CERMEP est un centre d'imagerie du vivant, situé sur le groupement hospitalier Est des Hospices Civils de Lyon, impliqué dans la recherche médicale à travers l'imagerie fonctionnelle.

L'apport de cette technique innovante a été testé pour évaluer différentes mesures de néphroprotection qui constituent la base de la prise en charge de l'insuffisance rénale chronique sans que le mécanisme exact de leur bénéfice en terme de protection rénale ne soit complètement compris et décrit pour certaines d'entre elles.

3. IRC et Néphroprotection

L'insuffisance rénale chronique (IRC) touche 600 millions d'adultes dans le monde, soit 1/10e de la population adulte alors que l'Organisation Mondiale de la Santé prévoit une augmentation de la prévalence de l'IRC de 17% au cours des 10 prochaines années (54).

L'évolution de l'insuffisance rénale vers des stades plus avancés de la maladie s'accompagne de complications cardio-vasculaires conduisant à un sur-risque de mortalité (55) (Figure 16), d'une altération de la qualité de vie des patients (56) ainsi que d'un coût significatif en terme de santé publique (57).

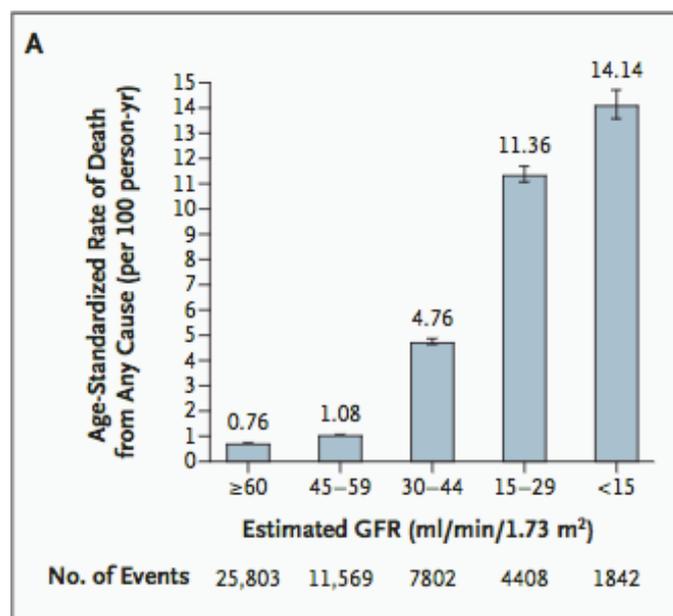


Figure 16. Evolution du taux de mortalité en fonction du niveau de fonction rénale (55)

La mise en place de mesures de néphroprotection permet de ralentir la progression de l'insuffisance rénale chronique pour prévenir la survenue de l'insuffisance rénale chronique terminale nécessitant l'initiation d'une technique de suppléance, à savoir la dialyse ou la transplantation. Les principales mesures de néphroprotection que nous avons retenue sont : le

contrôle de la pression artérielle et de la protéinurie, la mise en place d'un régime hyposodé et hypoprotidique, et la prévention des lésions d'ischémie-reperfusion. Le mécanisme physiopathologique par lequel ces mesures apportent un bénéfice en termes de néphroprotection est pourtant débattu pour certaines de ces mesures en l'absence de moyens d'évaluation directe. En effet, le bénéfice de ces différentes mesures a rarement été étudié du point de vue des paramètres fonctionnels rénaux mais plutôt en termes de ralentissement du déclin de fonction rénale sur plusieurs années. La TEP-IRM permet une évaluation presque immédiate du retentissement hémodynamique et métabolique de différentes interventions et revêt donc un intérêt particulier pour l'évaluation de certaines de ces mesures. Après avoir passé en revue l'ensemble des mesures de néphroprotection reconnues et fait le point sur le niveau de preuve actuel permettant de les recommander, nous avons essayé de définir ce que la TEP-IRM pourrait apporter afin de valider ces mesures ou de proposer des mesures correctives afin d'améliorer leur efficacité.

3.1 Contrôle de la pression artérielle

3.1.1 Niveau de preuve et cibles

Le contrôle de la pression artérielle est un facteur déterminant pour la prévention de la progression de l'IRC comme l'ont démontré de nombreuses études. Le bénéfice du contrôle de la pression artérielle semble reposer sur deux facteurs : la réduction rapide de la protéinurie et la réduction à plus long terme du déclin de fonction rénale. Cependant, la cible optimale n'est pas claire dans le contexte de l'IRC (58,59). Le contrôle de la pression artérielle en dessous de 130/80 mmHg permet un ralentissement du déclin de la fonction rénale, et une réduction du risque cardio vasculaire chez les patients insuffisants rénaux chroniques qui sont à très haut risque cardio-vasculaire comme l'a démontré une étude de méta-analyse ayant combiné le suivi à long terme des études AASK (chez les afro-

américains) et MDRD avec des suivis de 14 et 19 ans respectivement : un contrôle plus strict de la pression artérielle était associé à une réduction de la mortalité toute cause (hazard ratio à 0.87, 95% IC 0.76- 0.90) et à la réduction du risque de progression vers l'insuffisance rénale terminale (hazard ratio à 0.88 95% IC 0.78- 1.00) uniquement chez les patients présentant une protéinurie (60). Le bénéfice d'un contrôle plus strict (< 120 mmHg de pression artérielle systolique) est suggéré par l'étude SPRINT (61). En effet, l'HTA est responsable d'une hyperfiltration glomérulaire qui conduit progressivement à une néphroangiosclérose et donc à un déclin de la fonction rénale, d'autant plus marquée si la transmission de la pression systémique n'est pas amortie en raison d'une autorégulation défectueuse. Les dernières recommandations de la société européenne de cardiologie sont en faveur d'une cible < 130/80mmHg chez les patients de moins de 65 ans et < 140/90 mmHg chez les patients de plus de 65 ans en raison des risques associés à un contrôle trop strict chez les sujets âgés (62).

Comme nous l'avons dit, les critères de jugement, principaux et secondaires, des études sur lesquels reposent ces recommandations sont, avant tout, cliniques (déclin de DFG, événements cardio-vasculaires ou décès). Le bénéfice d'un contrôle de la pression artérielle n'a cependant pas été étudié à l'échelle des paramètres fonctionnels rénaux même si certains mécanismes physiopathologiques sont connus.

3.1.2 Rôle de la pression et de la dysfonction endothéliale

La néphroangiosclérose concerne les vaisseaux pré-glomérulaires (artères arquées, interlobaires et artérioles afférentes) mais également toutes les structures rénales. Les artères sont le siège d'une prolifération intimale par des myofibroblastes et du collagène, responsables d'une réduction de la lumière. L'artériolosclérose de l'artériole afférente est la plus fréquente, corrélée au degré d'hypertension, au sexe masculin et à l'âge (63,64) et

responsable d'une altération du DFG (65). Les cellules musculaires lisses vasculaires répondent aux forces de tension pariétale alors que les cellules endothéliales sont sensibles aux forces de cisaillement liées au flux ou *shear stress*. Au cours de l'évolution de la néphroangiosclérose, les cellules musculaires lisses disposent d'un cytosquelette permettant d'intégrer l'ensemble des stimuli hémodynamiques pour réguler l'expression génomique. En cas d'augmentation des stimuli mécaniques sur les cellules endothéliales, il est observé une augmentation de l'expression des cytokines et de la matrice extra-cellulaire (fibronectine, chaînes constitutives des molécules de collagène de type I) (66–68) expliquant l'inflammation et la fibrose. La libération des cytokines de type transforming growth factor (TGF-beta) et des isoformes du platelet-derived growth factor (PDGF) participe également aux lésions glomérulaires, en partie via une stimulation de la synthèse de matrice extra-cellulaire (67,69,70). Des études expérimentales suggèrent également que le TGF-beta pourrait participer à la production de matrice et au développement de la néphroangiosclérose. Dans un modèle animal, la réduction de la pression glomérulaire grâce à un inhibiteur du système rénine-angiotensine prévient l'augmentation de l'expression du gène de la cytokine et pourrait s'accompagner d'une régression de la glomérulosclérose si moins de 50% des glomérules sont atteints (67,69,71).

3.1.3 Rôle de l'autorégulation du débit sanguin rénal

Les espèces de rats Fawn-hooded, Brown Norway et Dahl présentent une altération spontanée de l'autorégulation rénale. Dans toutes ces espèces, sous l'effet de stimuli adaptés, il est observé la survenue de lésions glomérulaires de hyalinose segmentaire et focale post hyperfiltration, responsable d'une altération globale du parenchyme rénal. De la même manière, l'inhibition pharmacologique partielle de la capacité d'autorégulation rénale

par la nifédipine, dans un modèle de réduction néphronique, conduit de façon à une accélération de la progression des lésions de hyalinose segmentaire et focale (72).

Morphologiquement, chez l'homme, cette perte de la capacité d'autorégulation s'accompagne d'une dilatation des artéioles afférentes. Hill et coll ont ainsi démontré chez 22 sujets, qu'il existait, de façon prédominante chez les patients hypertendus, une excellente corrélation entre l'augmentation de diamètre de l'artéiole afférente et la présence de lésions d'hypertrophie ou de lésions de hyalinose segmentaire et focale secondaires sur le glomérule d'aval. Les trois quarts des glomérules viables étaient de type hyalinose segmentaire et focale, alors que seuls 11,2 % présentaient un aspect ischémique (73), suggérant que la perte d'autorégulation et l'hyperfiltration jouent un rôle primaire dans le développement de l'hypertension. Ces constatations ont également été faites sur 8 reins de patients âgés non hypertendus (74) mais uniquement focalement par rapport aux reins de patients hypertendus où l'atteinte était diffuse. Marcantoni et coll ont analysé l'aspect morphologique des glomérules de patients hypertendus, pour distinguer les glomérules devenus scléreux par un mécanisme supposé ischémique (glomérules scléreux présentant une rétraction du flocculus, entouré d'un matériel collagène PAS positif occupant la chambre urinaire, 42,2 %) des lésions vraisemblablement secondaires à l'hyperfiltration (glomérulosclérose globale homogène avec solidification associée du flocculus, 58,8 %) (75). Les données issues de ces observations conduisent à penser que la perte de l'autorégulation contribue à la progression des lésions rénales de néphroangiosclérose.

Les mécanismes par lesquels l'hypertension artérielle est pathologique pour le parenchyme rénal sont donc probablement multiples. Si la néphroangiosclérose peut survenir chez des patients à priori non hypertendus, le lien de causalité entre hypertension artérielle et néphroangiosclérose puis insuffisance rénale est cependant accepté par beaucoup, plaçant le

contrôle de l'hypertension artérielle comme une des principales mesures de néphroprotection. L'évaluation du retentissement hémodynamique et métabolique par TEP-IRM, avec notamment une mesure de la perfusion rénale, après différentes interventions pharmacologiques, permettrait d'évaluer l'impact direct de ces interventions au stade précoce de la néphroangiosclérose. Dans ce contexte, l'apport des techniques IRM notamment en ASL pour suivre les modifications de perfusion rénale ou en BOLD pour étudier l'impact sur le contenu tissulaire en oxygène, suite à différentes interventions, notamment médicamenteuses, nous semble séduisant.

3.2 Contrôle de la protéinurie

3.2.1 Niveau de preuve et cibles

La protéinurie est également un facteur de progression de l'insuffisance rénale chronique (76–79) et le maintien d'une protéinurie < 1 g/jour ou 500 à 1000 mg/g de créatininurie permet de ralentir le déclin de DFG dans le contexte de néphropathies glomérulaires (80,81). Les mécanismes proposés pour expliquer l'effet néfaste de la protéinurie sur la progression de l'insuffisance rénale chronique sont : la toxicité mésangiale, la surcharge tubulaire et l'hyperplasie, la toxicité des substances filtrées telles que la transferrine/fer et les acides gras liés à l'albumine et enfin, l'induction de molécules pro-inflammatoires telles que le monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) et les cytokines inflammatoires (82–85).

Cet objectif de protéinurie < 500 - 1000 mg/jour peut être difficile à obtenir et dans ces cas, les recommandations internationales sont en faveur d'un objectif de réduction d'au moins 50% de réduction par rapport à la valeur initiale, associée à une réduction de l'excrétion protéique (calculée sur l'urée urinaire) de moins de 3.5g/24h, selon les données d'une étude réalisée chez des patients présentant un syndrome néphrotique sur une glomérulonéphrite

extra-membraneuse (86). Dans le contexte de la néphropathie à IgA, une protéinurie > 500 mg/jour semble déjà associée à une augmentation du risque de progression de l'insuffisance rénale et dans ce contexte, il est actuellement recommandé de viser un objectif < 500 mg/jour chez tous les patients. Les critères de jugement de l'impact de la protéinurie sont encore ici des critères cliniques de progression de l'insuffisance, de déclin du DFG ou de décès. L'utilisation des traitements bloqueurs du système rénine-angiotensine, plus que tout autre anti hypertenseur, permet de réduire la protéinurie et de ralentir le déclin du DFG mais l'association de deux bloqueurs du système rénine-angiotensine n'a pas démontré de bénéfices supplémentaires et était associée à une augmentation du risque d'insuffisance rénale aigue et d'hyperkaliémie dans l'étude ONTARGET (87).

3.2.2 Diminution de la pression intra-glomérulaire

L'effet anti protéinurique des inhibiteurs du système rénine- angiotensine est compatible avec une diminution de la pression intra- glomérulaire, qui a été démontrée dans des études animales d'insuffisance rénale protéinurique (88,89). Cet effet est lié à une dilatation des artérioles afférentes et efférentes mais une dilatation préférentielle de l'artériole efférente par rapport aux autres anti- hypertenseurs.

3.2.3 Amélioration de la sélectivité de la membrane basale glomérulaire

Les inhibiteurs du système rénine- angiotensine semblent également améliorés la sélectivité de la membrane basale glomérulaire, indépendamment des modifications de l'hémodynamique glomérulaire comme l'ont démontré les travaux de Remuzzi *et coll* chez des rats après des études de microponction et de clairance au Dextran (90,91). Ces découvertes sont supportées par le fait que l'excrétion de protéines diminuent sur plusieurs semaines à plusieurs mois après l'introduction d'un inhibiteur du système rénine-

angiotensine alors que l'effet hémodynamique strict des inhibiteurs du système rénine-angiotensine survient rapidement après son introduction et est stable après (92). Par ailleurs, une administration d'angiotensine II ne permet pas de bloquer l'effet antiprotéinurique des inhibiteurs du système rénine-angiotensine malgré l'apparition d'une vasoconstriction rénale et systémique associée à une augmentation de la pression intra glomérulaire (93). Enfin, l'angiotensine II diminue l'expression de la néphrine, un des composants majeurs du diagramme de fente podocytaire et un composant majeur de la membrane basale glomérulaire (94). A l'inverse, l'expression de néphrine est augmentée par les inhibiteurs du système rénine-angiotensine (95).

3.2.3 Effet anti fibrosant

L'évolution de toutes les néphropathies s'accompagne d'une fibrose interstitielle et de dilatation tubulaire, même en cas de néphropathie glomérulaire initiale (96,97). Le degré de fibrose interstitielle est un meilleur indicateur de l'évolution du DFG et du pronostic à long terme que ne l'est la sévérité de l'atteinte glomérulaire initiale pour toutes les néphropathies glomérulaires (98–101). Les mécanismes qui concourent au développement de la fibrose interstitielle sont incomplètement compris mais pourraient impliquer une raréfaction des vaisseaux péri tubulaires, induit par l'hypoxie ou d'autres stimuli anti angiogéniques, et la production de cytokines pro inflammatoires par les cellules tubulaires (102). Par ailleurs, l'infiltration du rein par des macrophages et des lymphocytes T (103–109) associée à l'arrêt en phase G2/M du cycle cellulaire des cellules tubulaires épithéliales (110) pourraient concourir à la stimulation du TGF-beta et d'autres cytokines pro-fibrosantes. Dans ce contexte, les effets non hémodynamiques de l'angiotensine II semblent contribuer au développement de la fibrose interstitielle, médiés par les récepteurs de type 1 à l'angiotensine II, présents dans le glomérule (111). Des études animales ont suggéré que l'activation du récepteur type 1B, presque uniquement situé dans le glomérule, et pas le

récepteur 1A, à l'angiotensine II était à l'origine d'une accélération des lésions rénales (112). Cet effet est médié par la génération de médiateurs pro-fibrosants comme le TGF-beta, l'epidermal growth factor (EGF), et d'autres chémokines (113). Dans des modèles expérimentaux chez la souris, l'infusion d'angiotensine II induit une glomérulosclérose et une atrophie tubulaire alors que, chez les animaux qui sont déficients en récepteurs à l'EGF ou au TGF-alpha, ou après inhibition pharmacologique de l'angiotensine II, ces effets ne sont pas observés.

L'évaluation de l'effet des différents anti- hypertenseurs sur la réduction de la protéinurie notamment via la réduction de la pression intra glomérulaire ne peut pas être réalisée en TEP-IRM car les artérioles pré et post glomérulaires sont de diamètres trop petits pour permettre une évaluation en ASL. La technique d'évaluation de la perfusion rénale en TEP à l'eau marquée ne permet également pas de différencier les débits sanguins pré et post glomérulaire. Cependant, l'évaluation de la fibrose interstitielle, complication d'une protéinurie non contrôlée, est désormais validée par des techniques d'imagerie permettant une évaluation non invasive de ce facteur pronostic de toute néphropathie (114–116). Par ailleurs, l'évaluation de l'hypoxie tissulaire médullaire en BOLD-IRM, et une possible amélioration du contenu tissulaire en oxygène suite à l'introduction de traitements inhibiteurs du système rénine-angiotensine, immédiatement et à distance, pourrait être particulièrement intéressant afin de mieux comprendre le mécanisme de la néphroprotection offerte par ce type de traitement.

3.3 Restriction en sel

3.3.1 Généralités

Le sodium, consommé sous forme de sel (NaCl), est un composant majeur de notre alimentation. Le sodium est le principal cation extra-cellulaire et est le facteur déterminant dans la régulation du volume extra-cellulaire et donc du volume plasmatique. Environ 95% du sodium corporel se situe au niveau du liquide extra-cellulaire. L'importance de la réduction de l'apport en sodium et donc en sel est primordiale pour le contrôle de la pression artérielle. Les derniers KDIGO de 2012 recommandent un apport de moins de 90 mmol/jour de sodium pour les patients insuffisants rénaux chroniques non dialysés (117). Les dernières recommandations internationales de l'OMS en termes de diététique suggèrent qu'un régime pauvre en sel de l'ordre de 5 g de NaCl par jour devrait être encouragé chez tous les sujets, homme ou femme en raison d'un bénéfice sur la survenue de l'HTA et la morbi-mortalité cardio-vasculaire, d'autant plus que le risque des pathologies associées à l'HTA augmentent progressivement avec le niveau de pression artérielle (118,119). Aux USA, l'apport moyen en sodium est très élevé de l'ordre de 3600 mg/jour, très supérieur aux 1500 mg/jour (le sel ou NaCl est composé de 40% de sodium pur) recommandés par la société américaine de cardiologie (120). L'apport excessif en sodium a un rôle important, sinon déterminant dans la pathogénicité de l'élévation de la pression artérielle (121). Une réduction de l'apport en sodium chez l'homme diminue la pression artérielle chez des patients hypertendus et non-hypertendus, tout au long de la vie de l'enfance jusqu'à un âge avancé (118–120). L'effet de la réduction de l'apport en sodium sur la baisse de la pression artérielle est cependant plus important chez les sujets noirs, âgés et hypertendus (125). Les résultats de l'étude DASH- Sodium trial (Dietary Approaches to stop hypertension) ont démontré qu'une réduction de l'apport en sodium permettait de réduire le niveau de pression artérielle avant tout chez les sujets âgés par rapport aux sujets plus jeunes (127–129). De la même manière, la réponse du niveau de pression artérielle au changement de l'apport en sodium varie d'un sujet à l'autre, permettant de définir des hypertensions « dépendantes au

sel » ou non. Cette variabilité dans la dépendance au sel a été confirmée dans des études animales et est liée à la régulation de la natriurèse (127,128). Enfin, plusieurs études ont démontré qu'une réduction de l'apport en sodium permettait de réduire l'excrétion urinaire de protéines et que des patients insuffisants rénaux chroniques protéinuriques sous IEC soumis à une diététique pauvre en sel, présentaient une réduction supplémentaire de leur protéinurie et de leur niveau de pression artérielle (129,130).

3.3.2 Mécanismes

Les humains ont la capacité de survivre dans des conditions d'apports en sodium extrêmes, de l'ordre de moins de 10 mmol/jour chez les indiens Yanonami du Brésil jusqu'à plus de 450 mmol/jour dans le Nord du Japon (131). La capacité de certains humains à survivre dans un contexte d'apports en sodium très faible reflète la capacité du corps humain à conserver le sodium grâce à une réduction des pertes rénales et cutanée de sodium. A l'état d'équilibre, l'apport minimal en sodium pour remplacer les pertes est estimé à 8 mmol/jour soit 184 mg/jour (132). Un régime dépourvu en sel s'accompagne, chez le rat, d'une situation d'hypovolémie chronique avec une baisse modérée de la pression artérielle systémique et donc de la pression de perfusion artérielle rénale en raison de la mise en jeu de mécanismes de contre-régulation, notamment le système rénine-angiotensine et le système sympathique et vasopressinergique, activés par les barorécepteurs. Comparativement à un animal ayant un apport normal en sel, le DSR est réduit modérément et le DFG est inchangé en raison d'une augmentation de la fraction filtrée secondaire à une augmentation prédominante de la résistance de l'artériole efférente lorsque le système est stimulé modérément. Cette vasoconstriction de l'artériole efférente entraîne une augmentation de la pression hydrostatique capillaire glomérulaire avec une diminution du Kuf. Cette augmentation de la

pression hydrostatique capillaire glomérulaire maintient le DFG alors même que le DSR et le coefficient d'ultrafiltration sont abaissés (133,134). Chez l'homme, Burnier et coll ont démontré qu'une augmentation de 1g de sodium par jour en deçà de 3g par jour, quantifié sur recueil urinaire était responsable d'une augmentation de +72% d'insuffisance rénale chez des patients présentant une protéinurie < 1g/jour (62).

L'impact du sel sur les paramètres fonctionnels rénaux a déjà été évalué comme par Claris-Appiani et coll, pour démontrer qu'une charge en sel n'est pas responsable d'une élévation du DFG (135) mais entraîne uniquement une légère diminution de la fraction filtrée. Cette étude a confirmé que l'effet de la restriction en sel sur le ralentissement de la progression de l'IRC est un phénomène d'adaptation chronique et n'intervient que très peu en aigu. La TEP-IRM pourrait permettre également d'étudier l'effet d'une charge en sel sur le métabolisme oxydatif rénal et le contenu tissulaire en oxygène chez les sujets présentant une HTA volo-dépendante et chez ceux qui présentent une HTA non volo-dépendante, afin d'approfondir notre compréhension des mécanismes de régulation qui interviennent et proposer des thérapeutiques adaptées.

3.4 Régime hypoprotidique

Malgré des données discordantes (136), une restriction de l'apport alimentaire en protéines (inférieur à 0,8g/kg/jour) est acceptée par la communauté internationale comme participant au ralentissement de la dégradation de la fonction rénale (137). Les résultats de l'étude MDRD (Figure 17) ont montré une dégradation de la fonction rénale plus importante au cours des 4 premiers mois de l'étude dans le groupe soumis à un régime pauvre en protéines (0,58g/kg/jour) par rapport au groupe soumis à un régime riche en protéines (1,3g/kg/jour). Après 4 mois et jusqu'à la fin de l'étude (36 mois), le déclin du DFG était moins important dans le groupe soumis à un régime pauvre en protéines (-1,1 mL/min/ an soit - 28% par

rapport au groupe soumis au régime riche en protéines, $p = 0.009$) permettant de proposer cette mesure dans le cadre de la néphroprotection. Les régimes pauvres en protéines participent aux mesures de néphroprotection car chaque charge en protéines est responsable d'une hyperfiltration glomérulaire délétère par mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale.

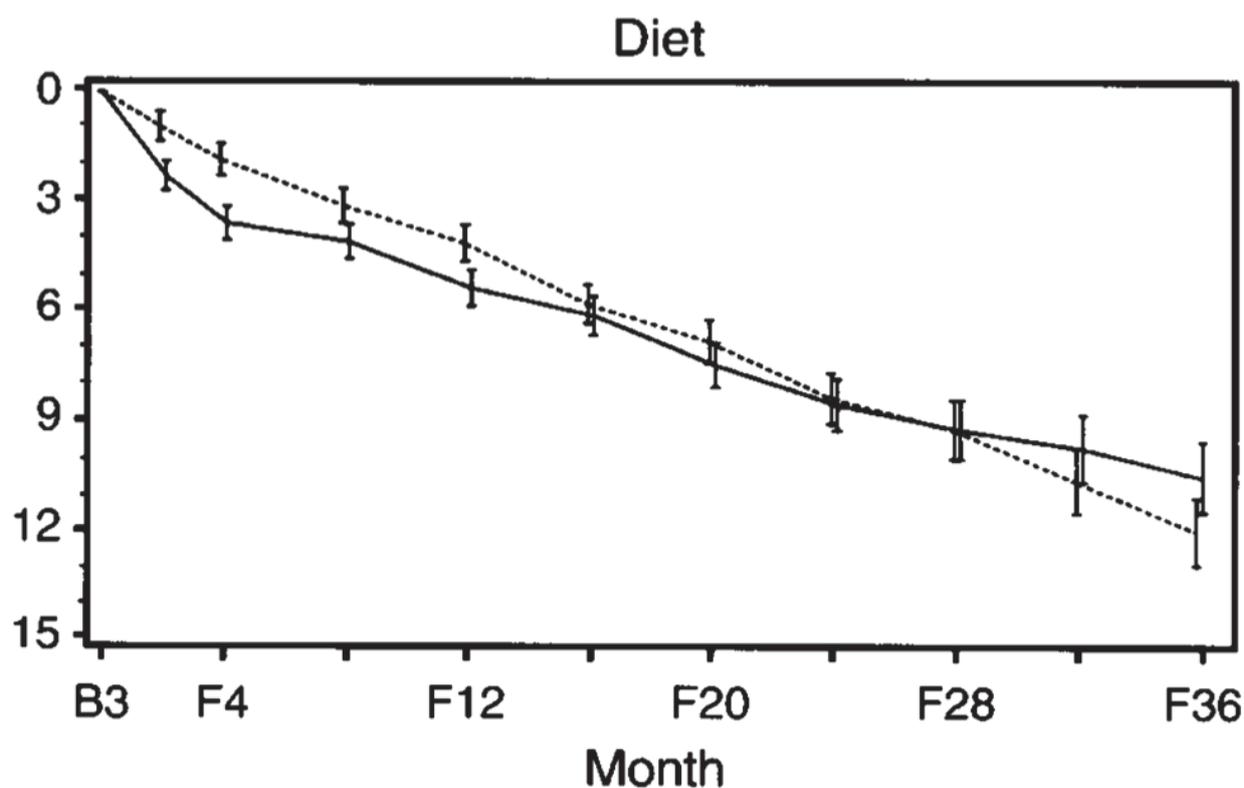


Figure 17. Evolution du débit de filtration glomérulaire (DFG) en fonction de l'apport protéique quotidien (1,3g/kg/jour = « Usual protein » en pointillé versus 0,58g/kg/jour = « Low protein » en continu) avec en ordonnée le temps en mois et en abscisse la perte de DFG estimée en mL/min (137)

3.4.1 La réserve fonctionnelle rénale

3.4.1.1 Définition et caractérisation

Modifications hémodynamiques

La réserve fonctionnelle rénale se définit par une augmentation du débit sanguin rénal et du débit de filtration glomérulaire par modulation de l'hémodynamique intra-rénale (138) (Figure 18).

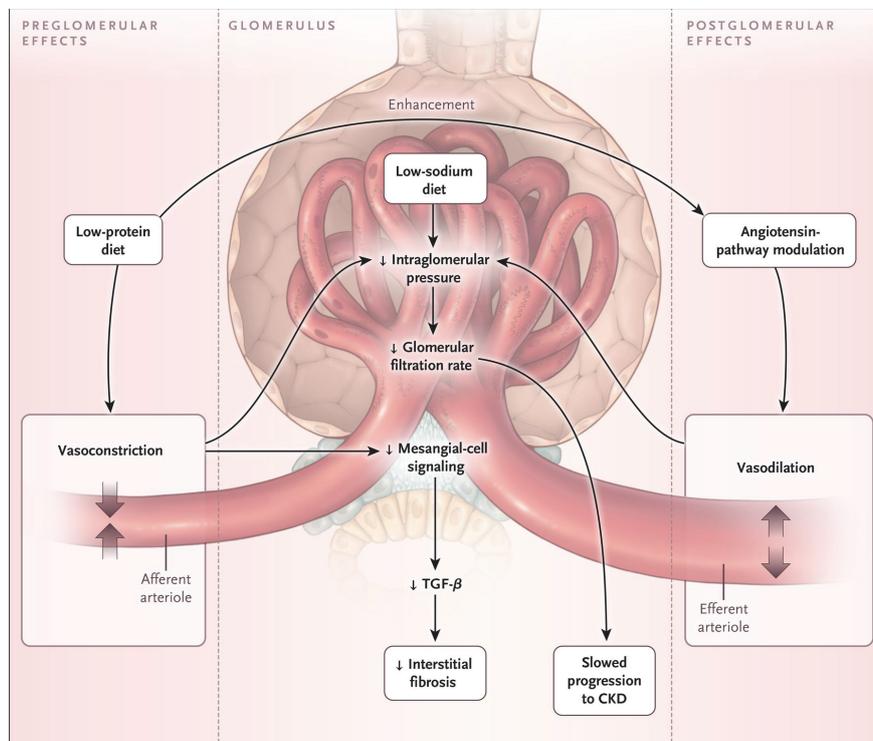


Figure 18. Effets d'un régime pauvre en protéine sur l'hémodynamique intraglomérulaire. D'après Kalantar-Zadeh *et coll* (139).

L'hyperfiltration glomérulaire induite par une charge protéique permet de mesurer cette réserve fonctionnelle mais le débit sanguin rénal est le facteur hémodynamique le mieux

décrit comme participant à la mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale. L'augmentation du DSR précède l'augmentation du DFG. L'impact de l'apport protéique sur le DSR et le DFG est connu depuis les années 1930, démontré par Shannon, Jolliffe & Smith en 1932 (140) puis par Pitts en 1935 chez des chiens soumis à des clairances rénales au Xylose après une charge en protéines (jusqu'à 40g/ kg). Cette augmentation ne se produisait pas après un repas équivalent en calorie, enrichi en glucide ou en lipide. Premen *et coll* ont démontré que des chiens soumis à une charge orale de viande cuite, correspondant à un apport en protéines de 10 g/kg, présentaient d'abord une élévation significative du débit sanguin rénal à partir de 60 minutes après la charge orale, élévation qui précédait l'élévation du DFG et persistait jusqu'à 2 heures après la fin de l'apport en protéines (141). Meyer *et coll.* ont démontré que l'augmentation du DFG (+40%) après une perfusion d'acides aminés chez le rat était liée avant tout à une augmentation du débit sanguin au niveau des capillaires glomérulaires et une augmentation modérée du gradient de pression trans-capillaire au niveau glomérulaire sans modification du coefficient d'ultra filtration (142). Dans un modèle de rein isolé-perfusé, caractérisé par une forte accumulation de toxines urémiques, une perfusion d'acides aminés produit une diminution, dose- dépendante et soutenue, des résistances vasculaires au niveau pré- glomérulaire (de 5 à 35%), associé à une augmentation de la consommation en O₂ (143) sans augmentation du DFG dans cette étude. L'effet était plus marqué en cas de perfusion d'acides aminés métabolisés par le rein tels que la glutamine à une concentration de 2 mM, mais était également observé avec des acides aminés non métabolisés par le rein à des concentrations plus importantes (8 mM) (143). Des analogues des acides aminés tels que l'alpha-aminobutyrate, la taurine, et la cycloleucine, co- transportés avec le sodium, mais non métabolisés, n'étaient pas responsables d'une vasodilatation pré-glomérulaire ou d'une augmentation de la consommation en oxygène (143). Enfin, chez l'humain, il a été démontré par Laville *et coll* qu'une charge orale en

protéines (1g/kg, viande rouge cuite) s'accompagnait d'une élévation significative de +26% du DFG mesuré par la clairance de l'inuline chez des sujets non insuffisants rénaux à 90 minutes (144) (Figure 19).

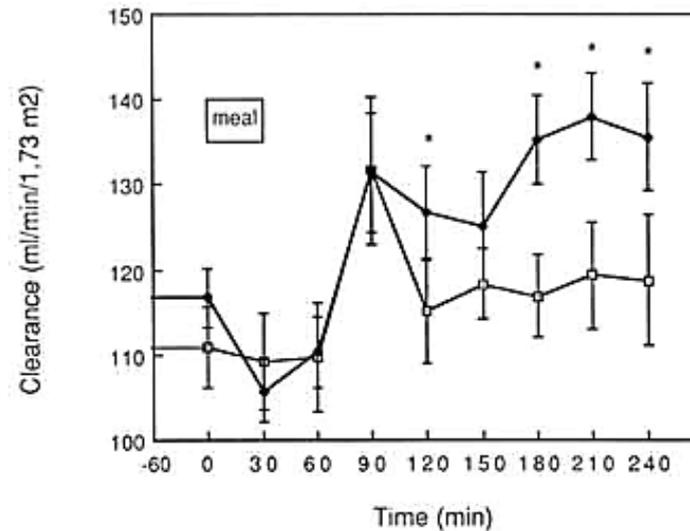


Figure 19. Effet d'une charge protéique (steak de viande) sur la clairance de l'Inuline (cercles pleins) et de la Créatinine (carrés ouverts) (144). En abscisse, le temps en min et en ordonnée, la clairance en mL/min/1.73m².

La mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale correspond à un mécanisme de protection, permettant de maintenir une fonction rénale subnormale, jusqu'à un certain degré, malgré une diminution du nombre de néphron fonctionnels (exemple du rein unique ou des réductions artificielles de masse néphronique (145)) ou en cas d'inadéquation entre le nombre de néphron et la charge à filtrer. Au cours de la grossesse, par exemple, l'hyper volémie induite nécessite une adaptation du rein pour permettre de lutter contre l'état de surcharge hydro. sodée (146), dans un contexte de diminution des résistances pré et post-glomérulaires (147).

Modifications histologiques

Les modifications histologiques observées dans un modèle d'hyperfiltration glomérulaire induite (après néphrectomie), concernent les trois types cellulaires du glomérule mais les cellules épithéliales sont les plus touchées. Deux semaines après une néphrectomie unilatérale, on observe ainsi une adhésion des cellules épithéliales à la capsule de Bowman au niveau du rein controlatéral. Par ailleurs, il est observé une augmentation du nombre de cellules mésangiales et de cellules de la matrice extra-cellulaire chez les rats soumis à un régime riche en protéines (148) alors que les rats soumis à un régime pauvre en protéines présentent des lésions histologiques moins sévères. Une étude animale menée sur des rats soumis à un régime riche en protéine (35% caséine), a permis de démontrer des altérations structurelles avec une augmentation de la surface de filtration glomérulaire, par rapport aux rats soumis à un régime pauvre en protéine (10% caséine) (149). Les anomalies histologiques consistaient notamment en un épaississement de la médullaire interne, en raison d'une hypertrophie de la branche large ascendante du tubule rénal (149).

Enfin, des études de clairance de certaines protéines (enzymes peroxydases anionique, neutres et cationiques), ont démontré que la réduction néphronique s'accompagnait également d'une modification de la polarité du glomérule au niveau du rein restant, contribuant à l'albuminurie (charge négative de l'albumine) (148).

3.4.1.2 Caractérisation des protéines impliquées

3.4.1.2.1 Protéines animales versus végétales ?

L'origine de la protéine, animale ou végétale, semble jouer un rôle déterminant dans la modulation de l'hémodynamique rénale après une charge en protéines. Williams *et coll.* ont ainsi démontré que des rats soumis à une alimentation composée de 24% de protéines de soja présentaient un DSR et un DFG moins élevés que des rats soumis à une alimentation

composée de 24% de caséine (protéine animale), alors que l'apport en sodium, en potassium et en phosphore était identique (150). Après néphrectomie unilatérale, les rats soumis à une alimentation composée de protéines de soja présentaient une mortalité réduite à 3 mois, une réduction de la protéinurie ainsi qu'une réduction des lésions histologiques rénales (150). Alors que les protéines animales sont responsables d'une production d'acides, les protéines végétales sont responsables d'une production de bases après leur dégradation. Dans ce contexte, Goraya *et coll.* ont démontré que, chez des patients insuffisance rénale chronique de stade II, un apport quotidien de protéines végétales pendant 30 jours, permettait une réduction de l'albuminurie, comparable à celle d'un traitement par bicarbonates oraux (151).

3.4.1.2.2 Les céto- analogues

Les céto- analogues sont des précurseurs d'acides aminés. Leur association au régime hypoprotidique dans l'IRC permettrait de prévenir la carence en acides aminés essentiels sans accroître l'apport azoté (152). Le bénéfice des régimes très pauvres en protéines supplémentés en céto- analogues a récemment été démontré par Garneata *et coll* (20). En effet, la réduction de DFG du groupe soumis à une alimentation très pauvre en protéines (0,3 g/kg de protéines végétales associé à 1 cuillère/ 5kg de céto analogues) était 57% moins importante que celle du groupe soumis à une alimentation pauvre en protéines (0.6g/kg, végétales et animales sans supplémentation) (152). Il est important de souligner que l'apport en protéines du groupe « pauvre en protéine » dans cette étude, constitue un apport très inférieur à l'apport moyen des populations occidentales. Par ailleurs, l'adhérence à ce régime était très faible avec seulement 42% des patients interrogés ayant accepté de participer et uniquement 14% dont l'adhésion au régime avait permis de les analyser à l'issue des 18 mois de l'étude.

3.4.1.3 Mécanismes impliqués dans la mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale

Les mécanismes précis des modifications hémodynamiques et fonctionnelles rénales observées après une charge en protéines, restent controversés. Plusieurs types de mécanismes ont été proposés et nous allons les détailler.

3.4.1.3.1 Agents vasoactifs

La mise en jeu d'agents vasoactifs tels que le glucagon, l'insuline ou l'IGF-1 (Insulin like Growth Factor) a été proposée sans que leur implication ait pu être clairement démontrée. Chez le rat, *in vivo*, l'injection intra-artérielle au niveau de l'artère rénale, d'un mélange de sérine, d'alanine, et de proline, s'accompagne d'une augmentation de DSR (+13%) mais n'est pas associée à une augmentation du DFG alors que la même injection systémique intraveineuse est responsable d'une élévation du DSR et du DFG chez le chien (153). Ces observations ont renforcé l'hypothèse de la nécessité d'un médiateur « systémique » des protéines pour permettre la stimulation de l'hyperfiltration glomérulaire induite. Le glucagon a été très largement étudié en raison d'une cinétique post-prandiale identique à celle du débit sanguin rénal et du débit de filtration glomérulaire suivant une charge en protéines (154). En effet, il existe une stimulation de la libération de glucagon par le pancréas après une charge orale en acides aminés (142). Par ailleurs, la somatostatine, un agent inhibant la libération de glucagon par le pancréas, prévient la mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale après une charge en protéines (155). Cependant, le rôle direct du glucagon sur la mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale a, depuis, été remis en cause en raison d'études démontrant l'absence d'effet hémodynamique d'une dose physiologique de glucagon (156,157). L'insuline, l'IGF-1 ainsi que le glucose ne sont également pas responsables de la mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale (146,148). Enfin,

l'élévation post- prandiale de différents peptides gastro- intestinaux endogènes tels que la gastrine, la substance P, la cholecystokinine ou le glucose- dépendant insulintropic peptide (GIP) a pu laisser croire qu'ils étaient responsables de l'hyperfiltration glomérulaire induite par une charge protéique. Leur infusion intra- veineuse à doses croissantes supra- physiologiques chez des animaux et des humains n'est cependant pas responsable d'une modulation suffisante de l'hémodynamique rénale pour permettre de les incriminer (158,159).

Mécanismes hémodynamiques glomérulaires

Dans les années 1980-1990, la théorie « hémodynamique » s'impose : en effet, il est observé une inhibition du rétro- contrôle tubulo- glomérulaire après une charge en protéines (160).

Seney *et coll* ont démontré que l'augmentation de l'apport en protéines (40% versus 6% de caséine) chez des rats, s'accompagnait d'une augmentation du DFG de 24 à 29% par rapport aux rats contrôles. L'étude de la réabsorption tubulaire chez ces rats a mis en évidence une moins bonne sensibilité du rétro- contrôle tubulo- glomérulaire (160). Des études complémentaires de micro- ponctions et micro- perfusions, chez les même rats, ont démontré que l'inhibition du rétro- contrôle tubulo- glomérulaire était liée à une diminution de NaCl (entre 30 et 50%) au niveau de la partie initiale du tube contourné distal, en raison d'une augmentation de la réabsorption de NaCl entre la partie distale du tube contourné proximal et la partie initiale du tube contourné distal, sans atteinte du mécanisme « senseur » (161). Cette hypothèse est corroborée par des études histologiques démontrant que des rats, soumis à un régime riche en protéines, présentent un épaissement de la branche large ascendante (149) en raison de la stimulation de la réabsorption d' amino- acides au niveau de la branche large ascendante. Cette réabsorption se faisant grâce à un co- transporteur Na- AA, la charge en sodium délivrée au tube contourné distal et à la *macula densa* est réduite,

inhibant le rétro contrôle tubulo- glomérulaire et entraînant une vasodilatation pré- glomérulaire. Ces études n'ont cependant pas démontré que l'inhibition du rétro- contrôle était le seul mécanisme impliqué dans l'hyperfiltration induite par les protéines.

Autres mécanismes glomérulaires

L'augmentation de la synthèse des prostaglandines vasodilatatrices a été démontrée chez des rats après une charge orale en protéines (+40%) (162) ou chez l'humain après perfusion d'acides aminés (+52%) (163). L'inhibition pharmacologique des cyclo-oxygénases, qui interviennent dans la synthèse des prostaglandines, par de l'aspirine ou de l'indométacine, prévient l'augmentation du DSR et du DFG après une charge orale en protéines ou une perfusion d'acides aminés (162). Par ailleurs, Bhardwaj *et coll.* ont démontré que, dans un modèle de rein isolé- perfusé, l'ablation de l'endothélium vasculaire prévient la vasodilatation induite par une infusion de L-Arginine (74), en faveur d'un rôle direct de l'endothélium dans la vasodilatation induite par les protéines.

Le rôle du système rénine- angiotensine a également été étudié: des rats, soumis à un régime riche en protéines, présentent une augmentation de l'expression rénale corticale des ARN messagers de la rénine mais pas de ceux de l'angiotensinogène (dans le foie ou le rein) (73). Par ailleurs, dans un modèle de rats néphrectomisés au 2/3, une infusion de Captopril (inhibiteur de l'enzyme de conversion), n'était responsable d'une amélioration de la perméabilité glomérulaire, que chez les animaux soumis à un régime riche en protéines par rapport à ceux soumis à un régime pauvre en protéines (75). Ruilope *et coll.* ont démontré qu'un pré- traitement par du Captopril restaurait l'augmentation du DSR et du DFG suivant une perfusion d'acides aminés, chez des sujets soumis à un régime pauvre en sel pendant 3 jours (le régime pauvre en sel s'accompagnait d'une disparition de l'hyperfiltration glomérulaire induite par la perfusion d'acides aminés). Cependant, l'utilisation d'IEC dans

ce contexte est discutable dans la mesure où les IEC inhibent aussi la synthèse de facteurs vasodilatateurs tels que les kinines.

Le monoxyde d'azote (166) ainsi que l'Endothelial Derived Relaxing Factor (EDRF) (142) (164) ont également été étudiés comme intermédiaires potentiels de l'hyperfiltration glomérulaire induite par les protéines, sans que la preuve de leur implication ait pu être faite.

Sur un modèle de rein isolé- perfusé, l'inhibition de la respiration mitochondriale par l'antimycine bloque la vasodilatation induite par une perfusion d'acides aminés dans le même modèle de rein isolé- perfusé ainsi que l'augmentation de la consommation en oxygène (143).

3.4.1.3 Perte de réserve fonctionnelle et progression de l'insuffisance rénale chronique

La perte de la réserve fonctionnelle traduit un état d'hyperfiltration glomérulaire persistant (138,167), notamment observé aux premiers stades de la néphropathie diabétique, et constitue un facteur de progression de l'insuffisance rénale (168,169).

Dans ce contexte, le bénéfice de régimes pauvres en protéines (inférieurs à 0.8 g / kg/ jr) a été accepté par la communauté internationale sur la base de méta analyses (170), sans explication physiopathologique claire. Il est important de rappeler que l'étude la plus importante en terme d'effectif portant sur le bénéfice des régimes pauvres en protéines était négative sur le critère de jugement principal, avec une diminution du DFG, à 3 ans, identique entre les 2 groupes de patients (alimentation « standard » à 1,3g de protéines /kg versus 0,58g de protéines/kg pour l'alimentation pauvre en protéines) (171).

Si le bénéfice des régimes pauvres en protéines est largement accepté, la qualité de la protéine s'impose comme un facteur déterminant des modifications hémodynamiques induites par une charge en protéines. En effet, Uribarri et coll ont récemment démontré que les modes de cuisson actuels des protéines, à haute température, dans de l'huile et peu d'eau,

étaient responsables de modifications structurelles irréversibles. Ces protéines modifiées par la cuisson notamment, appelés produits avancés de la glycation ou AGE (Advanced Glycation End Products), largement étudiés dans le diabète, sont responsables de l'activation de différentes voies de signalisation intra- cellulaires, notamment inflammatoires, et pourraient être responsables d'effets hémodynamiques.

Les produits avancés de la glycation ou AGEs (Advanced Glycation End Products)

Des travaux d'Uribarri *et coll* suggèrent que les effets d'une charge protéique sur l'hémodynamique rénale sont liés, avant tout, à la quantité d'AGE ingérée (172). En effet, les conditions expérimentales dans lesquelles ont été étudiées les modifications hémodynamiques rénales induites par les protéines (perfusions de protéines ou d'acides aminés, charge orales en protéines), étaient en fait responsables d'une charge en AGE selon des données récemment publiées (173). Uribarri *et coll* se sont attachés à décrire le contenu en AGE associé à plus de 500 aliments de notre alimentation quotidienne et ce, en fonction de différents modes de cuisson, pour démontrer l'effet propre de la cuisson sur la modification de la protéine. Ainsi, les steaks de viande de boeuf, utilisés dans les études princeps ayant conduit à la démonstration de la réserve fonctionnelle rénale, étaient responsables d'une charge significative de 9,500 kU AGE/ 100g. Ce contenu en AGE varie en fonction de la cuisson pour la même quantité de protéine : 800 kU/100g si viande cru et 9,500 kU si cuisson dans l'huile pendant 15 minutes. Les préparations d'acides aminés sont également responsables d'une charge en AGE d'environ 1,040 kU/ 100 g en raison des fortes températures nécessaires au processus de fabrication pour dénaturer les protéines et obtenir des acides aminés (173).

Génération endogène des AGEs

Les AGEs proviennent d'une réaction de glycation, réaction non enzymatique d'ajout d'un sucre sur un peptide ou un acide nucléique, rendant les cellules plus susceptibles au vieillissement, via la génération de ROS (Reactive Oxygen Species) et l'activation des voies de l'inflammation (174). Le MethylGlyoxal (MG) et la Carboxymethyl- Lysine (CML), principaux AGE circulants et tissulaires, sont majoritairement éliminés par le rein et s'accumulent avec l'âge (175,176).

AGEs et alimentation

Alors qu'il était admis que les AGE étaient majoritairement formés de manière endogène, il a été récemment démontré qu'ils proviennent directement de l'alimentation via des modes de préparation néfastes (cuisson à très haute température dans de l'huile et peu d'eau), chez le sujet sain et l'insuffisant rénal (173,177). Une charge orale en AGE s'accompagne d'une élévation significative des concentrations circulantes en CML à 90 minutes ainsi que d'une dysfonction endothéliale chez des patients diabétiques de type 2 (178,179) et chez des sujets sains (178). Stirban *et coll.* ont démontré qu'une charge orale équivalente en terme d'apport protéique mais sans AGE n'était pas responsable d'une dysfonction endothéliale chez des sujets sains (180).

Réciproquement, une réduction de l'apport alimentaire en AGE permet une réduction significative des concentrations sériques d'AGE et améliore les paramètres inflammatoires chez des sujets insuffisants rénaux diabétiques (181). Cependant, si la réduction de l'apport alimentaire en AGE semble bénéfique sur la progression de l'insuffisance rénale, la modification des habitudes alimentaires peut être difficile. Vlassara *et coll.* ont ainsi démontré que le sevelamer, agent chélateur utilisé pour la prise en charge de l'hyperphosphorémie, permettait une réduction de l'HbA1c, du MG et de la CML, effets non observés avec le Carbonate de Calcium, chez des sujets diabétiques (182)(183).

L'apport alimentaire moyen en AGE en Amérique du Nord est de $14,700 \pm 680$ kU/ jour (175), ce qui permet de définir un régime pauvre en AGE comme inférieur à 15, 000 kU/ jour (environ 3 repas de 5, 000 kU). On peut ainsi définir une charge protéique "faible en AGE" comme inférieure à 5,000 kU.

AGEs et insuffisance rénale chronique

Enfin, il a été montré que des souris âgées, soumises à une diététique riche en AGE, développaient une insuffisance rénale chronique associée à des lésions histologiques glomérulaires et tubulaires (184) alors que, chez l'homme, la quantité d'AGE ingérée participe aux variations inter-individuelles dans la progression de l'insuffisance rénale (176).

Dans ce contexte, nous avons conduit une étude clinique portant sur l'étude des paramètres fonctionnels rénaux après deux charges orales riches en protéines, l'une riche en AGE et l'autre pauvre en AGE chez des sujets sains, qui étaient leur propre contrôle afin d'étudier l'impact du contenu en AGE d'une charge protéique sur les paramètres fonctionnels rénaux (Article 1).

3.5 Prévention des lésions d'ischémie-reperfusion

3.5.1 Concept d'ischémie reperfusion

L'ischémie correspond à une diminution ou un arrêt du flux sanguin entraînant une diminution voire un arrêt du métabolisme oxydatif. La reperfusion est absolument nécessaire pour la survie de l'organe mais est, en elle-même, délétère. La survenue d'une hypoperfusion rénale dans un contexte de chirurgie, de sepsis, ou d'hypovolémie s'accompagne donc d'un risque de lésions ischémiques rénales. Du fait de l'hypoxie de la médullaire rénale, le rein est sensible à tout épisode d'ischémie-reperfusion (IR). Les causes d'IR en néphrologie sont nombreuses : transplantation rénale, clampages aortiques avec néphrectomie partielle, chirurgies vasculaires et épisodes d'hypoperfusion. Dans le contexte de la transplantation rénale, les lésions d'ischémie-reperfusion sont un facteur déterminant pour la survie du greffon. Dans une étude réalisée sur 3829 adultes, ayant bénéficié d'une 1^{er} transplantation rénale d'un donneur décédé, le risque de perte de greffon et de décès était

proportionnel au nombre d'heures supplémentaires d'ischémie froide (HR de 1.013 et 1.018, respectivement) (185). Les circonstances entourant le prélèvement, le transport et la transplantation augmentent l'immunogénicité du greffon, en augmentant l'expression des antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et la cascade des cytokines pro-inflammatoires pour favoriser les lésions d'ischémie-reperfusion (186–189). Le blocage des facteurs de co-stimulation de cette cascade, le CD28- b7, permet une amélioration de la dysfonction du greffon dans un modèle d'ischémie-reperfusion chez le rat (190).

L'insuffisance rénale aïgue (IRA) d'origine ischémique représente 80-90% des étiologies de l'IRA (191). Les conséquences de l'IRA sont nombreuses: augmentation de la mortalité intra-hospitalière et de la mortalité à long terme, persistance d'une maladie rénale chronique, dépendance vis à vis de la dialyse, et augmentation des coûts en terme de santé publique (192,193). La protection rénale est donc primordiale.

3.5.2 Cas de la sténose athéromateuse de l'artère rénale

3.5.2.1 Une situation fréquente non consensuelle

La sténose athéromateuse de l'artère rénale (SAAR) représente une cause d'hypertension artérielle (HTA) secondaire fréquente avec une incidence en constante augmentation (194). Chez l'adulte, la SAAR est le plus souvent associée à une maladie athéromateuse diffuse (195) dans un contexte de risque cardio vasculaire élevé (196). Les trois essais randomisés, réalisés sur le bénéfice d'une dilatation de cette sténose, n'ont pas montré d'amélioration de la fonction rénale après dilatation, probablement en lien avec une mauvaise sélection des sujets, les plus sévères ayant été revascularisés d'emblée et non inclus dans ces études (197–200).

3.5.2.2 Rôle des lésions d'ischémie-reperfusion

Au-delà de la sélection non pertinente des sujets, un autre paramètre n'a également pas été pris en

compte : les lésions liées à la reperfusion post-dilatation. L'importante perfusion rénale et les besoins élevés en oxygène et en ATP rendent le rein particulièrement sensible à l'ischémie. En condition physiologique, 80% de la consommation en oxygène du rein est liée à l'activité de la Na^+/K^+ -ATPase des cellules tubulaires. Le rein génère 95% de son ATP par phosphorylation oxydative. Ainsi les segments tubulaires composés d'un nombre important de pompes Na^+/K^+ -ATPase contiennent la plus grande densité de mitochondries. Lors de l'ischémie, le métabolisme anaérobie va prédominer et produire de manière insuffisante de l'ATP. Cette diminution de concentration intracellulaire en ATP va entraîner une entrée massive de sodium dans la cellule (201) conduisant à une augmentation intracellulaire de calcium (202) via l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ et une production massive de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS). Ainsi, le rétablissement du flux dans l'artère rénale au moment de sa dilatation est à l'origine d'un afflux de ROS et donc d'une inflammation secondaire. De nombreux stimuli vont entraîner l'ouverture du méga-pore connu sous le nom de pore de transition de perméabilité mitochondriale (mPTP), qui joue un rôle central dans les lésions de reperfusion, sujet d'étude au centre de l'activité de recherche de notre laboratoire (CaRMEN, IHU OPeRa) (199).

3.5.2.2.1 Le pore de transition de perméabilité

Il a été montré dans les années 1960 que de fortes concentrations de calcium étaient capables d'entraîner le gonflement mitochondrial (« swelling »). Ce gonflement mitochondrial pouvait être inhibé par la chélation du calcium (203). Ce gonflement est dû à une perméabilisation de la membrane interne de la mitochondrie (199) due à l'ouverture d'un mégapore non spécifique ne laissant passer que les molécules d'un poids inférieur ou égal à 1,5 kDa (205,206). Ce pore est connu sous le nom de pore de transition de perméabilité mitochondriale. Les facteurs induisant son ouverture sont une déplétion en ATP, une production excessive de ROS, une accumulation de calcium et une élévation de la concentration de phosphate inorganique (207). Conditions qui sont

réunies lors d'une ischémie prolongée suivie d'une réoxygénation (208,209). L'ouverture du mPTP entraîne une rupture des membranes mitochondriales et un relargage de molécule pro-apoptotiques provoquant la mort cellulaire (210) (Figure 20).

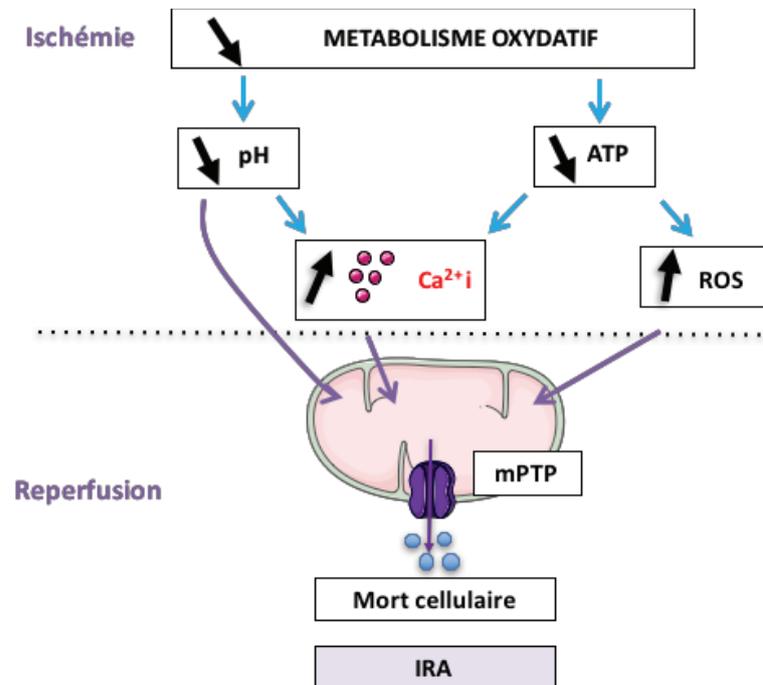


Figure 20: Schématisation des lésions d'ischémie-reperfusion. Ca²⁺: Calcium, ROS : Espèces réactives d'Oxygène, mPTP : Pore de transition de perméabilité mitochondriale. La surcharge calcique mitochondriale entraînant l'ouverture du mPTP.

3.5.2.2.2 Le préconditionnement

Il est possible de limiter certaines conséquences néfastes de l'ischémie-reperfusion par des manœuvres de protection, appelées « conditionnement pharmacologique », dans le but de retarder l'ouverture du mPTP. Il a été montré que la Cyclosporine A (CsA) permet de prolonger la fermeture du mPTP lors de la reperfusion et ainsi de diminuer les lésions cardiaques et rénales (210). Il a également été montré expérimentalement que l'injection d'un autre inhibiteur du mPTP (Bendavia) améliore le débit sanguin rénal (DSR) ainsi que le débit de filtration glomérulaire

(DFG) après dilatation d'une SAAR, avec une diminution de l'apoptose, du stress oxydant et de l'inflammation (211). Selon une publication récente, le bénéfice global du geste de dilatation proviendrait d'une amélioration du DFG et de l'oxygénation du rein contro- latéral et non du rein traité, montrant l'intérêt de mesurer ces paramètres fonctionnels par imagerie fonctionnelle sur rein séparés (212). Notons également que l'injection d'iode, liée en elle-même au geste technique de revascularisation, entraîne également un phénomène d'ischémie- reperfusion.

Nous avons montré que la CsA injectée à la reperfusion (post-conditionnement) permet de protéger la fonction rénale chez l'animal (210) mais la dose et le temps de l'injection par rapport à la dilatation jouent un rôle capital dans la protection obtenue. Nos résultats expérimentaux montrent que l'injection de CsA avant la dilatation (« pré conditionnement ») est plus efficace qu'une injection réalisée après (« post conditionnement ») (Figure 21).

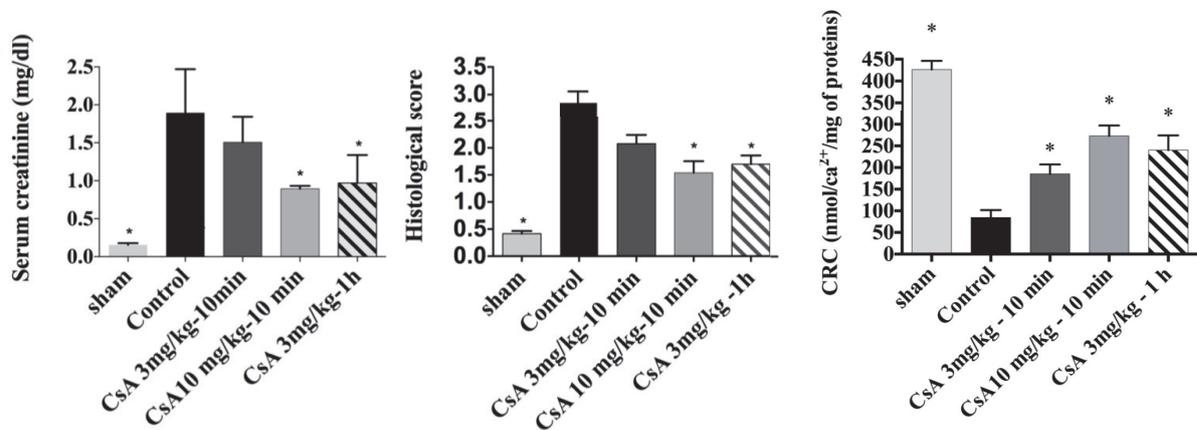


Figure 21: Résultats de créatinine (A), histologiques (B) et de la capacité de rétention calcique (C) chez des souris sham, ischémique (sans protection), des souris ayant bénéficiée d'un pré-conditionnement à la CsA 3 mg/kg, à 10 mg/kg 10 min avant l'ischémie ou à 3 mg/kg 1h avant l'ischémie.

La revascularisation d'une SAAR est un acte médical programmé permettant donc la réalisation d'un pré-conditionnement par rapport aux difficultés techniques rencontrées dans l'étude clinique portant sur le conditionnement pharmacologique au moment d'un infarctus du myocarde (étude CIRCUS) (213). En effet, cette étude était négative sur le critère de jugement principal, critère composite de décès, et de ré-hospitalisation, probablement en raison d'un timing d'injection inadéquat qui ne permettait pas d'avoir protégé correctement les mitochondries avant la revascularisation (injection de CsA réalisée après la survenue de l'infarctus). Jusqu'à présent, toutes les études cliniques avec conditionnement à la CsA ont été réalisées en post-conditionnement, sur un terrain vasculaire déjà nécrosé. Il s'agit donc ici d'une 1ère étude clinique de néphro-protection avec un pré-conditionnement par la CsA. Les sténoses considérées pour le protocole sont des sténoses serrées, pour lesquelles la baisse de débit paraît être responsable d'un retentissement intra parenchymateux caractérisé par un abaissement des index de résistance intra parenchymateux. Dans ce contexte, la dilatation s'accompagne d'une part d'une injection d'iode responsable d'un phénomène d'ischémie- reperfusion et d'autre part, si elle est couronnée de succès, d'un rétablissement du flux artériel rénal, relativement brutal, à l'origine d'une activation des voies de protection cellulaire et donc d'une ouverture du port de transition de perméabilité que nous cherchons à bloquer.

3.5.2.2.3 Etude CICLOSAAR (en cours)

Grâce à l'imagerie fonctionnelle rénale, nous avons souhaité évaluer l'efficacité de ce pré-conditionnement par la CsA sur la perfusion rénale mais également sur le DFG, le métabolisme oxydatif et le contenu en oxygène, 3 mois après la dilatation d'une sténose athéromateuse de l'artère rénale. L'imagerie fonctionnelle et la TEP-IRM en particulier nous permet de mesurer ces 3 paramètres de manière concomitante et d'obtenir ces mesures sur reins séparés, ce qui est indispensable dans une néphropathie asymétrique telle que la SAAR. La population cible est des

patients présentant une sténose athéromateuse de l'artère rénale pour laquelle une angioplastie est indiquée après décision lors de la RCP « sténose des artères rénales » au sein de l'Hôpital Edouard Herriot à Lyon. Le critère de jugement principal est la variation absolue du débit sanguin rénal total, par TEP, en utilisant de l'eau marquée $H_2^{15}O$ entre la mesure basale et celle réalisée à 3 mois. Le délai de 3 mois pour réévaluer les paramètres fonctionnels a été choisi en fonction d'une étude préliminaire réalisée sur des humains présentant une SAR (212) et afin que les phénomènes de fibrose et de remaniement puissent débiter. Les critères de jugement secondaires sont la variation absolue du contenu rénal en oxygène par BOLD IRM entre la mesure basale et celle réalisée à 3 mois ; la variation absolue du métabolisme oxydatif rénal par TEP à l'acétate marqué au ^{11}C entre la mesure basale et celle réalisée à 3 mois ; la variation absolue du débit de filtration glomérulaire par la clairance rénale mesurée entre la mesure basale et celle réalisée à 3 mois ; la variation absolue du débit sanguin rénal sur rein isolé (ischémique versus non ischémique), par TEP, en utilisant de l'eau marquée $H_2^{15}O$ entre la mesure basale et celle réalisée à 3 mois.

Les critères d'inclusion sont : Homme ou femme d'âge ≥ 50 ans ; Si sexe féminin : femme ménopausée. Le diagnostic de ménopause sera clinique avec l'absence de règles après 50 ans pendant une période de plus de 12 mois +/- associée à des signes cliniques tels que bouffées de chaleur, troubles de l'humeur ; Débit de filtration glomérulaire ≥ 25 mL/min/1.73m² ; Sténose artérielle rénale serrée ≥ 70 % diagnostiquée par échographie-doppler ou scanner ou IRM ; Pas de sténose serrée controlatérale ; Rein non hypotrophique ≥ 7 cm ; Sténose athéromateuse uniquement ; HTA résistante et/ou dégradation rapide de la fonction rénale et/ou épisodes d'OAP flash ; Décision collégiale de RCP d'angioplastie.

Les critères de non inclusion sont : participation simultanée à une autre recherche ; sujet majeur protégé par la loi ; sujet non affilié à un régime de sécurité sociale ou non bénéficiaire d'un tel régime ; sujet impliqué dans une procédure judiciaire ou emprisonné ; âge < 50 ans ; estimation du

débit de filtration glomérulaire $< 25 \text{ mL/min/1.73m}^2$; sténose artérielle rénale $< 70 \%$; PAS $> 180 \text{ mmHg}$ et/ou PAD $> 110 \text{ mmHg}$; sténose non athéromateuse de l'artère rénale ; sténose artérielle rénale bilatérale ; récusation à l'angioplastie après décision collégiale de RCP ; myélome ; allergie aux produits de contraste iodé ; contre-indication à la Ciclosporine A (hypersensibilité à la substance active ou à un de ses excipients, association à des produits contenant de l'Hypericum perforatum (millepertuis), association avec des médicaments qui sont des substrats de la glycoprotéine P (détaillés en paragraphe 5.2 du protocole) ; risque d'aggraver une pathologie sous-jacente (cancer, lymphome, hépatite B, hépatite C, VIH, etc. ; exposition aux radiations ionisantes (examens radiologiques médicaux ou exposition professionnelle avec exposition supérieure à 20 mSv) dans les 6 mois précédents l'inclusion ; contre-indication à l'IRM (pacemaker non IRM compatible ou pompe à insuline, prothèse métallique, clip intracérébral, prothèse valvulaire cardiaque non IRM compatible, appareil dentaire ou barre de maintien derrière les dents, ainsi que les sujets claustrophobes).

L'étude est actuellement en cours avec 2 patients ayant été inclus.

Hypothèses et buts de la thèse

La TEP-IRM, en permettant une étude simultanée des trois paramètres fonctionnels rénaux que sont la perfusion, le métabolisme oxydatif et le contenu tissulaire en oxygène, est un outil fondamental pour décrire la réponse rénale à différentes interventions. La progression de l'IRC étant un enjeu mondial de santé publique, la compréhension des mécanismes qui sont responsables de cette progression est primordiale afin de pouvoir proposer des mesures correctives. Comme nous l'avons vu, la plupart des mesures de néphroprotection reposent sur des études cliniques observationnelles ou interventionnelles ayant démontré un bénéfice en terme de ralentissement du déclin de la fonction rénale alors que les facteurs confondants, concernant ce critère de jugement principal, sont nombreux. L'étude des paramètres fonctionnels rénaux en pré et post interventionnel permettrait, dans de nombreuses situations, de faire la part entre plusieurs mécanismes suspectés.

L'imputabilité des AGE dans l'effet d'une charge protéique sur l'hémodynamique et le métabolisme rénal est suggérée par plusieurs travaux, de même que le bénéfice de la ciclosporine A en pré conditionnement dans la prévention des lésions d'ischémie-reperfusion. L'imagerie fonctionnelle, et notamment, la TEP IRM, apparaît comme l'outil de choix pour étudier l'effet de ces deux mesures de néphroprotection de manière dynamique et non- invasive. Cependant, l'irradiation de la TEP, ainsi que la durée et le coût de chaque examen nécessite d'en optimiser les modalités.

Hypothèse 1- Article 1 : Notre hypothèse est qu'une charge protéique riche en AGE est responsable d'une augmentation plus importante de la perfusion, et du métabolisme oxydatif, responsable d'une diminution du contenu rénal en oxygène par rapport à une charge pauvre en AGE.

Hypothèse 2- Article 2 : Notre hypothèse est que l'*uptake* de l'acétate marqué au ^{11}C permet de l'utiliser comme marqueur de perfusion rénale au-delà d'être un marqueur de métabolisme oxydatif.

Hypothèse 3- Article 3 : Notre hypothèse est qu'un pré conditionnement par la ciclosporine A avant dilatation d'une sténose de l'artère rénale est responsable d'une prévention des lésions de reperfusion à 3 mois, caractérisée par une augmentation de la perfusion, et du métabolisme oxydatif, responsable d'une diminution du contenu rénal en oxygène.

Etude en cours- 2 sujets inclus

Résultats et discussion

1. Impact du contenu en AGE d'une charge protéique sur l'hémodynamique rénale et sur la progression de l'IRC

1.1 Introduction

La recommandation d'un régime pauvre en protéines pour les patients insuffisants rénaux chroniques repose sur l'effet d'une charge protéique en aigu sur les paramètres hémodynamiques rénaux avec notamment une élévation du débit sanguin rénal et du débit de filtration glomérulaire. Cependant, des études récentes démontrent que les charges utilisées dans les études princeps, qu'il s'agisse de charge orale en viande cuite ou de perfusion d'acides aminés, étaient en fait responsables de charge en produits avancés de glycation ou AGE. Nous avons donc voulu étudier l'impact du contenu en AGE d'une charge protéique sur le débit sanguin, le métabolisme oxydatif et le contenu tissulaire en oxygène grâce à la TEP-IRM afin de définir le rôle propre des AGE dans l'effet suspecté des protéines sur les paramètres fonctionnels rénaux.

1.2 Publication 1: AGE content of a protein load is responsible for renal performances: a pilot study- Normand et al, *Diabetes Care*, April 2018



AGE Content of a Protein Load Is Responsible for Renal Performances: A Pilot Study

<https://doi.org/10.2337/dc18-0131>

Gabrielle Normand,^{1,2,3}
Sandrine Lemoine,^{1,2,3,4} Marjorie Villien,³
Didier Lebars,^{3,4} Ines Merida,³
Zacharie Irace,³ Thomas Troalen,⁵
Nicolas Costes,³ and Laurent Juillard^{1,2,3,4}

OBJECTIVE

Chronic kidney disease is associated with higher morbidity and mortality in patients with diabetes. A low-protein diet is recommended to slow diabetic nephropathy progression because each protein load leads to renal hemodynamic variations. The aim of our study was to evaluate whether the advanced glycation end products (AGE) content of a protein load is responsible for the protein-induced renal hemodynamic variations in humans.

RESEARCH DESIGN AND METHODS

Ten healthy subjects were assigned to a high-protein (1 g/kg) low-AGE (3,000 kU AGE) versus high-AGE (30,000 kU AGE) meal. Renal perfusion, oxygen consumption, and oxygen content were measured before and 120 min after each meal.

RESULTS

Renal perfusion (3.2 ± 0.5 vs. 3.8 ± 0.4 mL/min/g ($P = 0.0002$)) and oxygen consumption (0.3 ± 0.04 vs. 0.4 ± 0.08 min⁻¹, $P = 0.005$) increased significantly after the high-AGE meal compared with the low-AGE meal.

CONCLUSIONS

Our results suggest that the AGE content of a protein load is responsible for renal hemodynamic modifications. Therefore, prevention of diabetic nephropathy progression could aim predominantly at reducing food AGE content.

Chronic kidney disease is associated with higher morbidity and mortality in patients with diabetes because of an increased risk of cardiovascular complications (1). Low-protein diets are an additional measure to slow the progression of diabetic nephropathy (2,3) because each protein load leads to renal functional reserve (RFR) mobilization, characterized by an increase of renal blood flow, followed by an increase in the glomerular filtration rate (GFR) in healthy subjects (4,5). Nevertheless, RFR repeated mobilizations, as seen in the first stages of diabetic nephropathy, lead to RFR loss, followed by diabetic nephropathy progression (6). The precise mechanisms responsible for kidney hemodynamic changes induced by a protein load remain unknown, but Uribarri and Tuttle (7) suggested that advanced glycation end products (AGE) could be responsible. Using the new positron emission tomography (PET) and MRI device (BioGraph mMR; Siemens, Berlin, Germany) to simultaneously assess renal perfusion using [¹⁵O]H₂O PET imaging, renal oxidative metabolism using [¹¹C]-acetate PET imaging, and renal oxygen content using blood oxygenation–level dependent (BOLD)–MRI, we wanted to evaluate renal performance before and 120 min after high-AGE and low-AGE protein loads.

¹Department of Nephrology and Renal Functional Explorations, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

²CarMeN: Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie & Nutrition–INSERM U1060/Lyon 1 University/Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France

³Centre d'Etude et de Recherche Multimodal et Pluridisciplinaire, MR/PET Center, Lyon, France

⁴Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

⁵Siemens Healthcare S.A.S., Saint-Denis, France

Corresponding author: Gabrielle Normand, laetitia.normand@chu-lyon.fr.

Received 17 January 2018 and accepted 10 March 2018.

Clinical trial reg. no. NCT02695251, clinicaltrials.gov.

© 2018 by the American Diabetes Association. Readers may use this article as long as the work is properly cited, the use is educational and not for profit, and the work is not altered. More information is available at <http://www.diabetesjournals.org/content/license>.

RESEARCH DESIGN AND METHODS

Study Design

The study was a single-center, prospective, randomized, cross-over designed trial, registered at clinicaltrials.gov (NCT02695251). Our study was accepted by the local ethics committee (Comité de Protection des Personnes Sud-Est II, No. 2015-52-2) on December 30, 2015, and by the French National Drugs Agency (ANSM, No. 1515451-11) on January 24, 2016, and was performed according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki. An informed signed consent was obtained for all participants after information was given.

Inclusion criteria were male sex, age between 18 and 30 years, no diabetes, no hypertension, and no chronic kidney disease. Each intervention (low- and high-AGE load) was performed on two different days, each separated by a minimum 1-week interval, in a crossover design after an overnight fast.

Our primary end point was the increase in renal perfusion assessed by PET using [^{15}O]H $_2$ O, and our secondary outcomes were oxidative metabolism assessed by PET using [^{11}C]-acetate and renal oxygen content measured by BOLD-MRI. PET and BOLD measurements were performed at baseline and 120 min after each meal.

Low- and High-AGE Diet

Patients had to follow a low-protein (0.8 g/kg/day) and low-AGE diet for 48 h before each intervention.

The high-protein (1 g/kg) high-AGE meal consisted of mixed Chicken McNuggets (McDonald's, 4 nuggets = 11 g protein, 0.83 g sodium chloride, 12 g carbohydrate, and 9.3 g lipid, >30,000 kU AGE [8]). The high-protein low-AGE meal consisted of mixed 10 min-cooked large-sized eggs (2 "caliber L" eggs = 12 g protein, 0.29 g sodium

chloride, 0.8 g carbohydrate, and 10.6 g lipid, <3,000 kU AGE per serving).

PET-MRI data were blinded for the type of intervention performed, and analyzed by G.N.

Statistical Analysis

Randomization (high vs. low AGE first) was achieved using the RAND function of an Excel file (Microsoft Excel for Mac 2011, version 14.6.3). Quantitative variables were expressed as the mean \pm SD. The Mann-Whitney test was used to compare two means. The paired *t* test or paired Wilcoxon matched signed ranked test were used for matched data analysis, depending on the sample size. Statistical significance was defined as $P < 0.05$. Statistical analysis was performed using GraphPad software (GraphPad Software, La Jolla, CA).

RESULTS

Patients Characteristics

We included 10 healthy subjects from February to June 2016, with a mean age of 22 ± 3.7 years. Renal function was normal, with a mean estimated GFR of 121 ± 13 mL/min 1.73 m 2 and no proteinuria (0.1 ± 0.1 g/L). Fasting blood glucose at inclusion was normal at 5.0 ± 0.3 g/L. Nine patients completed the study (both meals). AGE per serving was $36,144 \pm 4,030$ kU AGE for the high-AGE meal and $2,321 \pm 197$ kU AGE for the low-AGE meal ($P = 0.004$), based on tables in Uribarri et al. (8).

Renal Perfusion by PET Using [^{15}O]H $_2\text{O}$ (Nine Matched Data Sets)

Renal perfusion, assessed by PET using [^{15}O]H $_2\text{O}$, increased significantly after the high-AGE meal (3.16 ± 0.5 to 3.8 ± 0.42 mL/g/min, +27.2%; $P = 0.0002$, for

both cortices), whereas there was no significant change after the low-AGE meal (3.35 ± 0.65 to 3.38 ± 0.53 mL/g/min, +3%; $P = 0.88$) (Fig. 1).

Oxidative Metabolism by PET Using [^{11}C]-Acetate (Nine Matched Data Sets)

Oxygen consumption increased significantly after the high-AGE meal (0.30 ± 0.02 to 0.36 ± 0.08 min $^{-1}$, +20.8%; $P = 0.005$) compared with the low-AGE meal (0.30 ± 0.04 to 0.31 ± 0.07 min $^{-1}$, +0.5%; $P = 0.8$) for both cortices.

Oxygen Content by BOLD-MRI (Four Matched Data Sets)

There was no change in BOLD medullary R 2^* measurements at 120 ± 5 min compared with the baseline values after the low-AGE meal (medullary R 2^* values from 26.4 ± 2.22 to 28.8 ± 2.99 , $P = 0.12$) or the high-AGE meal (from 29.5 ± 3.32 to 32.3 ± 6.91 , $P = 0.25$).

CONCLUSIONS

Using functional imaging in vivo and in humans, this study suggests that only a high-AGE high-protein load induces a significant mobilization of RFR. These findings could represent a paradigm shift.

Renal effects of proteins have been evidenced in humans and animals (4,9) using meat meal and amino acid perfusion, but those protein loads were all rich in AGE because high-temperature heating, used for meat meal cooking and amino acid preparation, is associated with AGE generation. Those "protein loads" were, therefore, high-AGE protein loads (8).

Molecular mechanisms involved in the increase of renal blood flow and hyperfiltration after a "protein load" are currently not known, but AGE hemodynamic effect has recently been highlighted.

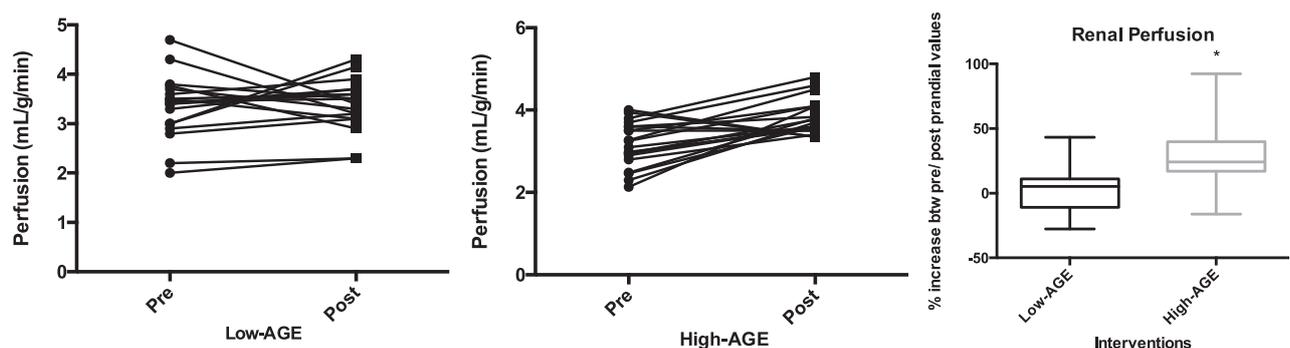


Figure 1—[^{15}O]H $_2\text{O}$ -PET measurements. Relative changes induced by a low-AGE or a high-AGE meal between (btw) baseline and postprandial values: +27.2 \pm 25% and +3 \pm 19% after the high and low-AGE meals, respectively, $P = 0.0012$.

Firstly, Uribarri et al. (10) demonstrated that a single oral AGE challenge could acutely impair brachial artery endothelial function. Secondly, Lin et al. (11) showed that methyl-glyoxal, an AGE agent, induces cyclooxygenase-2 expression in synovial cells, known to increase prostaglandin local concentration, which could explain an increase in renal blood flow, followed by RFR mobilization. Indeed, patients who eat a “high-protein” diet exhibit higher prostaglandin plasmatic concentrations, followed by RFR mobilization, whereas a pretreatment with cyclooxygenase-2 inhibitors completely blocks the protein-induced renal hemodynamic variations (12).

Our study presents some limitations. First, we decided to lead a clinical study of young healthy subjects, with the aim of reproducing initial studies' experimental conditions. This study design did not allow us to determine which AGE agent was responsible for the hemodynamic effect observed. After our study, this could be performed with specific intravenous injection of animals. Second, despite a different lipid and carbohydrates content between our low- and high-AGE loads, those two interventions bring especially a different salt content (mean difference for each subject: 3.4 ± 0.45 g). Studies have already demonstrated that lipid and carbohydrate are not responsible for RFR mobilization (13,14), whereas an acute sodium load is not responsible for acute intrarenal hemodynamic changes compared with an amino acid perfusion (15). Finally, we hypothesized that an increase in kidney oxidative metabolism would lead to a decrease in the oxygen content of kidneys. Unfortunately, postprandial breath holding (20 s), required for BOLD acquisition, was difficult, and six subjects exhibited movements that precluded precise BOLD measurements.

To our knowledge, this is the first study to support the deleterious effect of the AGE content of a protein load on renal hemodynamics. This study suggests that prevention of diabetic nephropathy progression

could aim predominantly at reducing protein AGE content more than protein.

)

Acknowledgments. The authors thank Maxime Paturel, (senior dietitian, Edouard Herriot hospital, Lyon, France); Nans Florens (Nephrology Department, Edouard Herriot hospital, Lyon, France); Gérard Gimenez (Centre d'Etude et de Recherche Multimodal et Pluridisciplinaire Director); Elise Mistretta, Jamila Lagha, Véronique Berthier, Frédéric Bonnefoi, Thibaut Lecker, and Christian Tourvieille (Centre d'Etude et de Recherche Multimodal et Pluridisciplinaire) for pertinent advice and technical assistance; Annie Varennes (Laboratoire de Biochimie, Hôpital Edouard Herriot); Monica Sigovan (Centre d'Etude et de Recherche Multimodal et Pluridisciplinaire) for providing in-house software support; Catherine Cereser, Valérie Plattner, and Cécile Riera (Hospices Civils de Lyon Research Center) for their administrative assistance and support; Carole Dhelens and Damien Salmon (Pharmacology department at Edouard Herriot Hospital, Lyon, France) for their help in building the initial project, and Jean-Jacques and Benoit Bertin for their technical support.

Duality of Interest. No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

Author Contributions. G.N., S.L., and N.C. participated in conception and design of the study and in analysis and interpretation of data, and drafted and revised the article. M.V. participated in conception and design of the study and in analysis and interpretation of data, and revised the draft of the article. D.L. participated in conception of the study, provided intellectual content of critical importance to the work described, and revised the draft of the article. I.M. and Z.I. participated in analysis and interpretation of data and provided intellectual content of critical importance to the work described. T.T. participated in conception and design of the study, mostly the MRI protocol conception part. L.J. participated in conception and design of the study and in analysis and interpretation of data, drafted and revised the article, and provided intellectual content of critical importance to the work described. G.N., S.L., M.V., and D.L. accepted the final version of the article to be published. I.M., Z.I., T.T., N.C., and L.J. gave final approval of the version to be published. G.N. is the guarantor of this work and, as such, had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

References

1. Groop PH, Thomas MC, Moran JL, et al; FinnDiane Study Group. The presence and

severity of chronic kidney disease predicts all-cause mortality in type 1 diabetes. *Diabetes* 2009;58:1651–1658

2. Pedrini MT, Levey AS, Lau J, Chalmers TC, Wang PH. The effect of dietary protein restriction on the progression of diabetic and nondiabetic renal diseases: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 1996;124:627–632

3. Klahr S. The modification of diet in renal disease study. *N Engl J Med* 1989;320:864–866

4. Hostetter TH. Human renal response to meat meal. *Am J Physiol* 1986;250:F613–F618

5. Mansy H, Patel D, Tapson JS, et al. Four methods to recruit renal functional reserve. *Nephrol Dial Transplant* 1987;2:228–232

6. Brouhard BH, LaGrone L. Effect of dietary protein restriction on functional renal reserve in diabetic nephropathy. *Am J Med* 1990;89:427–431

7. Uribarri J, Tuttle KR. Advanced glycation end products and nephrotoxicity of high-protein diets. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:1293–1299

8. Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *J Am Diet Assoc* 2010;110:911–916.e12

9. Bosch JP, Saccaggi A, Lauer A, Ronco C, Belledonne M, Glabman S. Renal functional reserve in humans. Effect of protein intake on glomerular filtration rate. *Am J Med* 1983;75:943–950

10. Uribarri J, Stirban A, Sander D, et al. Single oral challenge by advanced glycation end products acutely impairs endothelial function in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 2007;30:2579–2582

11. Lin CC, Chan CM, Huang YP, Hsu SH, Huang CL, Tsai SJ. Methylglyoxal activates NF- κ B nuclear translocation and induces COX-2 expression via a p38-dependent pathway in synovial cells. *Life Sci* 2016;149:25–33

12. Levine MM, Kirschenbaum MA, Chaudhari A, Wong MW, Bricker NS. Effect of protein on glomerular filtration rate and prostanoid synthesis in normal and uremic rats. *Am J Physiol* 1986;251:F635–F641

13. Premen AJ. Potential mechanisms mediating postprandial renal hyperemia and hyperfiltration. *FASEB J* 1988;2:131–137

14. Pelikánová T, Smrcková I, Krízová J, Stribrná J, Lánská V. Effects of insulin and lipid emulsion on renal haemodynamics and renal sodium handling in IDDM patients. *Diabetologia* 1996;39:1074–1082

15. Claris-Appiani A, Assael BM, Tirelli AS, Marra G, Cavanna G. Lack of glomerular hemodynamic stimulation after infusion of branched-chain amino acids. *Kidney Int* 1988;33:91–94

1.2 Conclusion

Notre étude suggère que le contenu en AGE d'une charge protéique est déterminant pour la mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale. Il s'agit d'une première étude d'évaluation de l'impact du contenu en AGE d'une charge protéique, sur des paramètres fonctionnels rénaux, de manière dynamique et non invasive à l'aide de la TEP-IRM. Nous avons démontré pour la première fois que 1) une charge protéique riche en AGE entraîne une augmentation de débit sanguin rénal de manière significative dès 120 minutes à compter de la fin du repas, alors qu'une charge équivalente en terme d'apport protéique mais pauvre en AGE n'entraîne pas d'augmentation de débit sanguin rénal; 2) cette augmentation de débit sanguin après une charge protéique riche en AGE s'accompagne d'une augmentation du métabolisme oxydatif rénal par rapport à une charge protéique pauvre en AGE.

Premen *et coll* ont démontré qu'une charge orale en viande cuite à 10g/kg de poids s'accompagnait d'une élévation du débit sanguin rénal puis du débit de filtration glomérulaire à partir de 60 minutes chez le chien. Laville *et coll* ont également démontré que, chez des sujets sains, une charge orale de 90g de viande cuite s'accompagnait d'une élévation de +26% du débit de filtration glomérulaire à 90 minutes (143). Cependant, les résultats des travaux de Uribarri *et coll* démontrent que la cuisson des protéines ou le processus de fabrication des solutions d'acides aminés, utilisées dans les études portant sur la réserve fonctionnelle rénale, sont en fait responsable de la génération d'une très grande quantité de produits avancés de la glycation (173).

Les mécanismes impliqués dans la mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale ne sont actuellement pas connus. Plusieurs hypothèses ont été proposées mais à chaque fois écartées en raison de résultats contradictoires et en l'absence de médiateur incriminé. Cependant, pour induire une augmentation du débit sanguin rénal et une hyperfiltration glomérulaire, le médiateur responsable doit pouvoir induire une vasodilatation de l'artériole

afférente du glomérule. L'hypothèse principale de notre travail repose sur la capacité des AGE à induire l'expression d'enzymes responsables de la synthèse de molécules vasodilatatrices. Les travaux de Lin *et coll* ont ainsi récemment démontré que le Methyl-Glyoxal, un des AGEs circulants et le plus réactif, entraînait la sur-expression de COX-2 (cyclo-oxygénase de type 2) dans des cellules synoviales (214). Cette enzyme COX-2 intervient dans la voie de synthèse des prostaglandines vasodilatatrices et son expression par les cellules de l'artériole afférente, sous l'effet du Methyl-Glyoxal, devrait s'accompagner d'une augmentation de la concentration locale en prostaglandines, responsable d'une vasodilatation de l'artériole afférente suivie d'une augmentation du débit sanguin rénal. Cette étude portait sur des cellules synoviales mais le récepteur des AGE (Receptor for AGE ou RAGE), est présent dans le rein (71), permettant la fixation des principaux AGE circulants, à savoir le Methyl-glyoxal et la Carboxymethyl-lysine au niveau rénal. La fixation de son ligand sur RAGE est responsable, au sein de la cellule, de l'activation d'une cascade inflammatoire (72), mais aussi de la libération de facteurs vasodilatateurs (214). Stahl *et coll* ont ainsi démontré que les patients soumis à une charge en protéines présentaient une augmentation des concentrations plasmatiques en prostaglandines, suivi d'une augmentation du débit de filtration glomérulaire (215). Enfin, Levine *et coll* ont mis en évidence qu'un pré- traitement par de l'aspirine ou du meclofenamate, deux inhibiteurs des cyclo-oxygénases, entraînait une inhibition de l'hyperfiltration glomérulaire induite par une charge en protéine chez des rats insuffisants rénaux (162).

Si le lien entre AGE, inflammation et insuffisance rénale chronique (176) est maintenant clairement démontré, les modifications hémodynamiques induites par les AGE n'ont été que récemment mises en évidence ; Ainsi Uribarri *et coll* ont démontré qu'une charge orale en AGE (1,800 kU) était responsable, en aigu, d'une altération de la fonction endothéliale de l'artère brachiale chez des sujets diabétiques et sains (178). La charge en

AGE utilisée était inférieure à celle pratiquée dans notre étude, mais déjà responsable d'une dysfonction endothéliale mise en évidence par la mesure de la dilatation induite par le flux. Notre charge « pauvre en AGE », inférieure à 3,000 kU, n'était pas responsable d'une élévation du DSR et du DFG à 120 minutes alors que toutes les études réalisées chez l'humain démontre que les effets d'une charge en protéine sur l'hémodynamique rénale apparaissent dès 60 minutes et se maintiennent pendant plus de 2 heures (178–180,216). Le fait que notre charge pauvre en AGE ne soit pas associée à une réponse hémodynamique peut être expliqué par les différences anatomiques et histologiques entre l'artère brachiale et la vascularisation complexe du glomérule, ainsi que par une grande variabilité inter-sujets dans la réponse aux AGE (178).

La démonstration de la mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale par les AGE alimentaires aurait nécessité de pouvoir réaliser des clairances de l'inuline pour mesurer le débit de filtration glomérulaire. Cependant, le DSR est le paramètre hémodynamique le mieux étudié dans le cadre de la réserve fonctionnelle rénale et l'augmentation du DSR après une charge protéique précède l'augmentation du DFG. Ce « raccourci » que nous avons choisi de faire, était rendu nécessaire par l'impossibilité de réaliser des clairances de l'inuline chez nos patients alors qu'ils étaient dans la TEP-IRM en post-prandial. Nos résultats démontrent cependant très clairement qu'il y a une augmentation significative du DSR après une charge en protéine riche en AGE, non visible après une charge pauvre en AGE de contenu protéique identique.

Alors que l'augmentation du DSR est classiquement décrite comme précédant l'augmentation de l'hyperfiltration glomérulaire induite par une charge en protéine, l'augmentation du métabolisme oxydatif rénal n'a jamais été décrite. En effet, le métabolisme oxydatif rénal n'est pas corrélé de manière linéaire avec le débit sanguin rénal, comme démontré en aval d'une sténose de l'artère rénale (20) en raison de la mise en jeu de

mécanismes de régulation complexe pour protéger le rein de l'ischémie (217). L'originalité de notre travail repose ainsi sur l'évaluation concomitante du DSR et du métabolisme oxydatif rénal après deux charges protéiques de contenu variable en AGE. Dans la mesure où les variations du DSR et du métabolisme oxydatif rénal présentent une grande variabilité inter- sujets et au sein du nycthémère (218), notre étude en cross-over permet de comparer de manière spécifique les effets d'une charge en protéine sur des paramètres fonctionnels rénaux en fonction d'un contenu en AGE variable. Le DSR, le métabolisme oxydatif rénal et le contenu rénal en oxygène sont fondamentaux pour évaluer et décrire la réponse rénale après différentes interventions. Le point fort de cette étude consiste en l'utilisation de la TEP-IRM, seule technique nous permettant d'évaluer ces différents paramètres fonctionnels rénaux de manière concomitante et sur rein isolé. En effet, depuis que la technique des microsphères est interdite en raison d'un risque d'irradiation trop important, les techniques TEP sont les seules permettant une étude de la perfusion et du métabolisme oxydatif rénal.

Une augmentation de la consommation en oxygène avait été démontrée, dans un modèle de rein isolé- perfusé après une perfusion d'acides aminés, mais sans explication sur le mécanisme impliqué (143). Nos résultats démontrent que l'augmentation de la consommation en oxygène est liée à une augmentation du métabolisme oxydatif via le cycle de Krebs. Nous avons fait l'hypothèse que l'augmentation du DSR s'accompagnerait d'une augmentation du métabolisme oxydatif suivie d'une baisse du contenu rénal en oxygène. Nos résultats BOLD ne confirment pas cette hypothèse possiblement en raison d'un nombre insuffisant de données récoltées. La difficulté des tenues d'apnées, nécessaire à la réalisation des séquences BOLD (20 secondes), en post- prandial, n'a permis d'analyser que 7 sets de données, ce qui ne permet pas de conclure sur ces résultats. Nos résultats sont en faveur d'une baisse du contenu en oxygène suivant la charge protéique riche en AGE mais également suivant celle pauvre en AGE, sans différence statistiquement significative entre

les deux interventions. Cette absence de différence pourrait être due aux limites de la technique BOLD qui ne mesure que le rapport oxy- hémoglobine/ désoxy- hémoglobine qui est lui même dépend de plusieurs facteurs dont la perfusion elle- même ainsi que la dissociation de l'hémoglobine. Par ailleurs, il a été démontré que l'apport hydrique en soi , comparable dans notre étude entre les 2 groupes (de l'ordre de 40 mL au cours du repas), modifiait les résultats du R2* chez des sujets soumis à un apport hydrique de 20 mL/kg (52). D'autres mécanismes de régulation pourraient effectivement intervenir au niveau du rein, comme observé en aval d'une sténose de l'artère rénale (20).

Notre étude présente plusieurs limites : 1) tout d'abord, nous avons décidé de conduire une étude clinique, portant sur des sujets sains, pour reproduire les conditions expérimentales des études princeps ayant démontré le principe de réserve fonctionnelle rénale. L'intérêt de l'étude clinique était de prendre en compte les spécificités de la physiopathologie humaine et de s'affranchir des nombreuses limites liées à l'interprétation de résultats tirés d'études animales. La reproduction du design des études princeps, en modulant le contenu en AGE de nos charges protéiques, suggère un effet propre des AGE sur différents paramètres fonctionnels rénaux. Cette étude ne permet donc pas de déterminer quel AGE est responsable de l'effet observé mais démontre que le contenu protéique seul ne permet pas de rendre compte de l'augmentation du DSR et du DFG, observés dans les études initiales. Nos résultats pourraient conduire à la réalisation d'autres études, animales, portant sur les effets propres de différents AGE (Carboxy.Méthyl Lysine ou Methyl Glyoxal par exemple), injectés en intra veineux, pour étudier leur effet spécifique.

Stirban *et coll* ont réalisé une étude clinique portant sur l'effet d'une charge en AGE sur la fonction endothéliale de sujets sains et diabétiques (178), et ont démontré l'impact des AGE sur la fonction endothéliale. Cependant, ils se sont vus opposés que l'effet observé

n'était pas lié aux AGE mais à la structure protéique « portant » les AGE. Ils ont donc conduit une 2^{ème} étude, pour laquelle la charge protéique était identique mais avec un contenu en AGE nul, et ont démontré qu'une charge protéique dénuée d'AGE n'était pas responsable d'une dysfonction endothéliale (180).

2) Par ailleurs, au-delà d'un contenu différent en lipides et en glucides, les deux interventions sont surtout responsables d'un apport différent en NaCl (différence moyenne pour chaque sujet : 3.4 ± 0.45 g). Concernant l'apport lipidique et glucidique, la preuve a été faite de l'absence de lien entre le contenu en glucide ou en lipide d'une charge protéique et la mobilisation de la réserve fonctionnelle rénale (141,219). Enfin, Claris- Appiani *et coll* ont démontré qu'une perfusion de chlorure de sodium n'était pas responsable, en aigu, de modifications hémodynamiques rénales, par rapport à une perfusion d'acides aminés (179).

3) Nous avons choisi de comparer l'effet de 2 repas (œufs entiers versus nuggets) car cela représentait la meilleure option en terme de ratio protéines/ AGE. Le jaune des œufs cuits 10 minutes, est riche en AGE mais le contenu protéique d'un œuf est réparti de manière homogène entre le jaune et la blanc (220). Notre charge pauvre en AGE n'est pas dénuée d'AGE avec un contenu allant jusqu'à 3.000 kU par portion, en fonction du poids du sujet sain. Cependant, notre charge riche en AGE est responsable d'un apport 10 fois supérieur en AGE (au moins 30.000 kU par portion en fonction du poids du sujet), ce qui nous est apparu suffisant pour comparer ces deux interventions sur la base du contenu en AGE.

4) Enfin, concernant le choix du délai entre le repas et les acquisitions TEP, et malgré une grande variabilité dans la vitesse d'absorption des sujets (178), nous avons dû déterminer un temps invariable auquel les injections d'eau et d'acétate marqués seraient réalisées. En effet, la synthèse de ces traceurs nécessite une préparation de plusieurs heures et nous ne pouvions pas déclencher la synthèse en fonction de la vidange gastrique

visualisée en IRM ou d'une mesure de DSR instantanée, ce que nous avons envisagé de faire initialement. Les temps de 120 et 135 minutes pour l'injection de l'eau et l'acétate marqués, respectivement, ont été choisis en fonction d'études antérieures ayant démontré que les concentrations plasmatiques en CML atteignaient un plateau 90 minutes après une charge en AGE (178,180), plateau qui durait au moins deux heures, sans variation significative.

Il s'agit donc, à notre connaissance, de la première étude qui suggère l'impact délétère du contenu en AGE d'une charge protéique sur l'hémodynamique et le métabolisme rénal. Notre étude remet en cause le principe d'hyperfiltration glomérulaire induite par les protéines et ouvre un champ de recherche portant sur les effets hémodynamiques et métaboliques des AGE. Nos résultats sont en faveur d'un rôle propre des AGE sur l'augmentation du DSR précédant l'hyperfiltration glomérulaire. Ces résultats suggèrent donc que la prévention de la progression de l'IRC devrait passer par une réduction du contenu alimentaire en AGE en améliorant la qualité des protéines ingérées au-delà d'une réduction de leur quantité.

2.1 L'acétate est un marqueur de perfusion rénale

2.1 Introduction

L'utilisation en pratique courante des techniques TEP est freinée par l'irradiation induite et la durée des sessions nécessaires à l'acquisition des données ainsi que par le coût. L'évaluation concomitante de la perfusion et du métabolisme oxydatif est fondamentale en raison d'une corrélation non linéaire entre ces deux paramètres comme démontré en aval d'une sténose de l'artère rénale en raison de la mise en jeu de mécanismes de protection contre l'ischémie tissulaire (20,23,48). L'utilisation d'un seul traceur afin d'obtenir la perfusion et le métabolisme oxydatif permettrait de réduire l'irradiation et la durée de la technique. L'acétate, utilisé comme reflet du métabolisme oxydatif grâce à son utilisation par le cycle de Krebs, a été validé comme marqueur de perfusion pour les études de physiologie cardiaque. La modélisation du comportement de l'acétate dans le cœur via un modèle bi-compartmental a permis de valider son utilisation comme marqueur de perfusion cardiaque (31). Comme le cœur, le rein est caractérisé par un haut niveau de métabolisme oxydatif responsable d'une consommation importante en oxygène, notamment au niveau du cortex. Le haut niveau de métabolisme oxydatif du rein et sa vascularisation parmi la plus élevée rapportée au poids, permettent de faire l'hypothèse, qu'au niveau du rein également, l'acétate pourrait être un marqueur de perfusion.

Dans notre précédente étude, l'injection quasi- simultanée, au repos, d' ^{15}O - H_2O et d' ^{11}C - acétate nous a permis de comparer les valeurs de perfusion rénale obtenues avec l' ^{15}O - H_2O et ^{11}C - acétate afin de valider l'utilisation de l'acétate comme marqueur de perfusion.

2.2 Article 2: Acetate is also a perfusion tracer for renal purpose

PET [¹¹C]Acetate is also a perfusion tracer for kidney evaluation purposes

Short title: [¹¹C]Acetate for renal perfusion

Gabrielle NORMAND, MD ^(1,2,3), Sandrine LEMOINE, MD, PhD ^(1,2,3,4), Didier LE BARS, PharmD, PhD ^(3,4), Ines MERIDA, PhD ⁽³⁾, Zacharie IRACE, PhD ⁽³⁾, Thomas TROALEN, PhD ⁽⁵⁾, Nicolas COSTES, PhD ⁽³⁾, and Laurent JUILLARD, MD, PhD ^(1,2,3,4).

(1) Department of Nephrology and Renal functional explorations, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

(2) CarMeN: Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie & Nutrition- INSERM U1060 / INRA U1397/ Université Lyon1

(3) CERMEP, MR-PET Center, Lyon, France

(4) Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

(5) Siemens Healthcare S.A.S., Saint-Denis, France

Corresponding author

Gabrielle Laetitia NORMAND,

Service de Néphrologie et Explorations fonctionnelles rénales, Pavillon P,

5, Place d'Arsonval, Hôpital Edouard HERRIOT, 69003, Lyon

Email: laetitia.normand@chu-lyon.fr

Tel: +33 4 72 11 02 51/ Fax: +33 4 72 11 10 25

Manuscript type: Research paper

Keywords: renal functional parameters, renal perfusion, renal oxidative metabolism, PET-MRI, acetate

2852 words, 2 Figures

Financial disclosure: The authors declare that no conflict of interest exists.

ABBREVIATIONS:

AIC: Akaike information criteria

AGE: Advanced Glycation End Products

CKD: Chronic Kidney Disease

GFR: Glomerular Filtration Rate

PET: Positron Emission Tomography

RBF: Renal Blood Flow

Rationale Renal positron emission tomography (PET) functional imaging allows non-invasive and dynamic measurements of functional and metabolic parameters. [^{15}O]H $_2$ O is used as a perfusion tracer, and [^{11}C]-acetate as an oxidative metabolism in this purpose, requiring two injections to assess those fundamental parameters. Yet, in cardiac physiology study, the high first-pass myocardial extraction fraction of [^{11}C]-acetate allowed to use its influx rate as a blood flow marker too. Since [^{11}C]-acetate has been characterized by a 20-25% single pass renal extraction in dogs, it could be used as a potential tracer for renal perfusion. The aim of this study was to determine whether [^{11}C]-acetate influx rate can be used as quantitative *in vivo* marker of kidney perfusion in human.

Methods In 10 healthy subjects, dynamic PET acquisitions were performed after [^{15}O]H $_2$ O and [^{11}C]-acetate injections spaced by a 15-minutes interval. As previously validated, with compartmental modeling of kinetics, renal perfusion and oxidative metabolism were estimated respectively with influx rate of [^{15}O]H $_2$ O and efflux rate of [^{11}C]-acetate. Additionally, influx rate of [^{11}C]-acetate was regressed to influx rate of [^{15}O]H $_2$ O.

Results Renal time activity curves of [^{11}C]-acetate was best fitted with a mono compartmental model compared to a bi-compartmental model ($p < 0.0001$). [^{11}C]-acetate influx rate was significantly correlated with perfusion quantified with [^{15}O]H $_2$ O ($r^2 = 0.64$, $p < 0.001$) at baseline. This regression allowed the computation of a renal [^{11}C]-acetate extraction fraction (EF), and further the computation of renal blood flow from its influx rate.

Conclusion In healthy subjects, over a wide range of renal perfusion, direct estimates of renal oxygen consumption as well as tissue perfusion can be obtained by PET with a single tracer [^{11}C]-acetate. This approach needs to be validated in CKD patients, and would be of great interest to design clinical protocol aiming at evaluating ischemic nephropathies candidate to revascularization.

INTRODUCTION:

Renal functional parameters evaluation is key to our understanding of kidney physiology, while CKD growing incidence is of great concern for health professionals because it is associated with a significant mortality (1). Simultaneous assessment of renal perfusion and renal oxidative metabolism allows a fine evaluation of kidney response in various physiological and pathological settings because those two parameters are not linearly correlated as previously described downstream a renal artery stenosis (2). With PET imaging, [^{15}O]H₂O is used for kidney perfusion evaluation (3), and [^{11}C]acetate allows to determine renal oxygen consumption through renal oxidative metabolism (4). Hence, the evaluation of those two fundamental parameters requires two injections of radiolabeled tracers leading to a significant radiation dose. Additionally, the very short half-life of ^{15}O (2 minutes) is practically extremely hard to handle in a clinical context. However, the high first-pass myocardial extraction fraction of [^{11}C]- acetate allows to use its initial uptake as a blood flow marker for cardiac purposes (5) on top of oxygen consumption evaluation. Indeed, in both animal and human subjects, [^{11}C]acetate rapidly accumulates in myocardium and subsequently clears mainly in the form of CO₂ (6). Tracer kinetic modeling of the dynamic imaging data is used to derive kinetic parameters that provide quantification of both myocardial oxidative metabolism and regional myocardial blood flow after one single injection (5). Similarly to the heart, the kidney is an organ characterized by an high levels of metabolism, particularly oxidative metabolism in the renal cortex, which allows to hypothesize that, in the kidney too, [^{11}C]- acetate could be used as a perfusion tracer. Thus, renal oxidative metabolism can be derived from [^{11}C]acetate dynamic data using arterial input function and one-tissue compartmental model (6) as demonstrated by Juillard et al in a pig study (4).

The [^{11}C]acetate is rapidly extracted by renal cells after IV injection (6). It is resorbed from glomerular filtrate by active transport in the proximal convoluted tubules (7), and has no observable urinary excretion at least during the first 30 min after tracer administration. Thus, it is a good candidate to be used as a perfusion tracer, which would be of great interest to assess both renal perfusion and oxidative metabolism with a single tracer injection. Perfusion can be computed from the kinetic influx rate K₁ parameter using the relationship $r\text{RBF} = K_1 \times 1/\text{single-pass renal extraction fraction (EF)}$, as far as the tracer EF is known. For [^{11}C]-acetate, the single-pass renal extraction fraction has been

estimated in dogs to be roughly 20 to 25% for baseline renal blood flow (6). The aim of this study was to validate the use of [^{11}C]- acetate as a renal perfusion tracer in human, using [^{15}O]H₂O as a gold standard.

METHODS

Study design

This work is an ancillary study of a previously published study (8). Inclusion criteria were male sex, age between 18 and 30 years, no diabetes, no hypertension, no chronic kidney disease defined as a GFR > 90 mL/min/1.73m² estimated by the CKD-EPI formula and/ or a proteinuria/ creatinuria index of more than 0.15 if urinary dipstick analysis showed proteinuria. The study was accepted by the local ethics committee (Comité de Protection des Personnes Sud- Est II- N°2015-52-2), on December 30th 2015, and the French National Drugs Agency (ANSM- N°1515451-11) on January 24th, 2016. It was carried out according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki. An informed signed consent was obtained for all participants after information was given.

Procedure

Each subject underwent PET imaging sessions on two different days, separated by a minimum 1-week interval, in a crossover design, following an overnight fast. During each session, subjects were given two different high protein loads to increase perfusion and metabolism, which were evaluated with PET performed at baseline before meal, and 120 minutes after each meal. Perfusion was evaluated with [¹⁵O]H₂O and oxygen consumption with [¹¹C]-acetate. Therefore each subject benefited from both [¹⁵O]H₂O and [¹¹C]acetate injections at baseline. For this study, we decided to only compare baseline perfusion values (and not post-protein loads perfusion) to increase reproducibility. PET acquisitions were performed with a PET-MRI scanner (Biograph mMR, Siemens, Germany), which allow simultaneous MRI acquisitions.

Functional imaging

PET with [¹⁵O]H₂O

For each PET measurement, 270 MBq of [¹⁵O]H₂O was injected intravenously at a constant rate over 5 seconds, manually. PET acquisition started simultaneously in list mode for three minutes. A dynamic series of images was reconstructed using an OP-OSEM-PSF (Ordinary Poisson- Ordered-subset

expectation maximization- point-spread function) method. Series consisted in eight 4-second images, four 6-second images, six 10-second images, and four 20-second images. ¹¹C-acetate- PET

For each PET measurement, 290 MBq of [¹¹C]-acetate was injected intravenously at a constant rate over 5 seconds, using an injector. From a 20 minutes dynamic acquisition, a series of ten 10-second images, ten 20-second images, two 150-second images, and two 300-second images were reconstructed using an OP-OSEM-PSF method.

TAC extraction and partial volume correction

For each acquisition, a static image was generated by summation of all dynamic frames on which three regions of interest (ROI) were manually drawn for time activity curve (TAC) extraction with IRW software 4.2 (Inveon Research Workplace, Siemens Healthineers Global, USA).

The aorta ROI was created around the aorta with the interpolation between two circles, one placed on the renal arteries bifurcation, and the second ten slices above (1 cm), on the static image, with control on the anatomical T1w image acquired at the same time of the PET acquisition. Right and left cortices ROI of the kidneys were drawn on anatomical T1W images. Time activity curves (TACs) were extracted for the aorta and each renal cortex. Partial volume correction coefficients were compute for each TAC thanks to the computation of the geometric transfer matrix (GTM) (9). Transaxial and axial resolutions used for GTM computation for simulating pulse spread function of the PET acquisitions were 5.07 x 5.033 mm for ¹⁵O acquisitions, and 4.58 x 4.48 mm for ¹¹C, determined by simulation using a SORTEO (10).

Kinetic modeling

Kinetic modeling of cortical TACs were perfomed with aorta TAC taken as input function.

With [¹⁵O]H₂O cortical renal TACs, renal blood flow (rBF) was estimated by using a one-tissue compartmental (1TC) model (11), with the K1 influx rate (K1-H₂O), including delay between aortic vascular fraction (volume of blood/ volume of kidney cortex).With [¹¹C]-acetate cortical TACS, influx rate (K1-acetate) and efflux rate (k2-acetate) were compute with a one-tissue compartmental model. A two-tissue compartmental (2TC) model was fitted to [¹¹C]-acetate. AIC (Akaike

information criteria) was used to evaluate fitting quality. AIC is an estimator of the relative quality of statistical model for a given set of data (12). The AIC represents a better fit. Modeling was performed with pmod software (PMOD Technologies Ltd, Zurich).

Evaluation of perfusion measurement with [¹¹C]-acetate

For [¹¹C]-acetate, quality of fit with 1TC and 2TC were statistically assessed. Selecting the 1TC parameters, correlation between K1-H₂O and K1-acetate were evaluated using linear regression analysis for the whole data. Bland-Altman plots were generated to evaluate methodological accuracy and to assess the limits of agreement. Extraction fraction for [¹¹C]-acetate was computed from the regression. Renal blood flow (RBF) was then evaluated with K1-acetate, and reproducibility parameters (bias, typical error and intra-class correlation) of the measurement were computed with reference to RBF estimated with [¹⁵O]H₂O. Reproducibility of RBF measured with [¹⁵O]H₂O only was also estimated between PET sessions at baseline for comparison. A p value of less than 0.05 was considered statistically significant. Statistical analysis was performed using Graph Pad software (Berkeley, CA, USA).

RESULTS

Patients Characteristics

We included 10 healthy subjects from February to July 2016. Mean age was 22.1 ± 3.7 years, mean body weight was 65.2 ± 6.8 kg with a mean BMI of 20.8 ± 1.4 kg/m², and normal renal function (mean serum creatinine was 76 ± 12.3 μ mol/L corresponding to a mean eGFR of 120.9 ± 12.9 ml/min/1.73 m²). Mean blood pressure was 127/77 mmHg.

Confirmation of a mono compartmental model

Acetate data were best fitted using a 1TC model compared to a 2TC model with a mean AIC of 37.39 for 1TC compared to 42.80 for 2TC (paired t-test, $p < 0.0001$).

Renal extraction fraction of [¹¹C]-acetate

Using only baseline data values, the relationship between K1-H₂O and K1-acetate was $K1-H_2O = 1.87 \times K1-acetate$ with a $r^2 = 0.62$ (Figure 1).

Perfusion can be derived from the relationship $RBF = K1 \times 1/(\text{single-pass renal extraction fraction})$. While single pass extraction fraction of [¹⁵O]H₂O is 1, we determined the single pass extraction fraction of acetate as being $1/1.87 = 0.534$.

Correlation between [¹⁵O]H₂O and [¹¹C]-acetate baseline perfusion

Perfusion values from acetate were then obtained using the 0.534 extraction fraction of [¹¹C]-acetate. Baseline perfusion ranged from 0.77 to 1.88 with a mean of 1.36 ± 0.28 mL/g/min using [¹¹C]-acetate data whereas it ranges from 0.66 to 2.25 with a mean of 1.36 ± 0.38 using [¹⁵O]H₂O. There was a significant correlation between renal baseline perfusion obtained from [¹¹C]-acetate data and baseline perfusion from [¹⁵O]H₂O data ($r^2 = 0.62$, $p < 0.001$). The Bland and Altman difference plot demonstrated a significant agreement between the two methods with a mean bias of 0.004 ± 0.23 , CI 95% [-0.45; 0.46] (Figure 2).

Reproducibility

For a mean bias of 0.004, the typical error of the perfusion computed from the [¹¹C]-acetate compared to [¹⁵O]H₂O was 0.17, with an ICC of 0.75. As a comparison, test-retest reproducibility of perfusion assessed with [¹⁵O]H₂O at baseline between the two sessions had a mean bias of 0.087 with a typical

error of 0.338 with an ICC of 0.26. Between session, test-retest reproducibility of perfusion measured with [^{11}C]-acetate has a typical error of 0.119 with an ICC of 0.42 (Table 1).

CONCLUSIONS

This study allowed to confirm that early renal uptake of [^{11}C]-acetate can be used to provide an indirect quantitative evaluation of renal perfusion.

We confirmed that, as opposed to cardiac studies and as previously demonstrated (4), a one-compartment model is suitable for modeling the [^{11}C]-acetate renal PET TAC, hence modeling perfusion and oxygen consumption. Indeed, the slower phase of a bi compartmental model in the heart is explained by the delayed synthesis of glutamine and acetate from a glutamate pool in the heart that does not exist in the kidney as demonstrated by Ng et al (13). In the kidney, there is no glutamate pool explaining the absence of need of a more complex design.

Same ROIs were used for [^{15}O]H₂O and [^{11}C]-acetate data analysis, therefore the value range of K1 parameter obtained from both tracers cannot be secondary to ROIs positioning. Hence, the influx difference is explained by acetate single pass extraction. The [^{15}O]H₂O is a freely diffusible tracer and therefore independent of the metabolic state of the tissue. The kinetic model of [^{15}O]H₂O is based on the assumptions that all activity is extracted by the parenchyma, extraction is very rapid, and tubular transport has not started or is insignificant at a level that does not influence the calculation of renal blood flow (14,15). The [^{11}C]-acetate has the same characteristics in the kidney, and has been used as a perfusion tracer in cardiac studies in human (5,16) and rats (17). Still, net renal uptake of [^{11}C]-acetate during the first 1 to 3 minutes after tracer injection is a reflection of both renal blood flow and first-pass extraction of acetate by renal tissue. Indeed, an estimate of actual renal blood flow can be computed from the derived K1 parameter using the relationship $\text{RBF} = \text{K1} \times 1/\text{single pass extraction fraction}$. The single-pass renal extraction fraction of acetate in dogs is roughly 20 to 25% at baseline renal blood flow (6) while the exact renal extraction fraction of acetate in humans is not known.

Due to limited resolution of the PET, partial volume effect constitutes a limitation of any PET measure and needs to be taken into account to obtain quantitative measurements. Since the resolution depends on the energy liberation of the positron of a positron emitter, images of ^{15}O labelled tracer and ^{11}C labelled tracer do not have the same resolution, and hence partial volume effect. But after correction of partial volume effect with specific characteristic of the isotope, the remaining parameter that could

account for differences between [^{15}O]H $_2$ O and [^{11}C]acetate data was renal extraction fraction of acetate. Therefore, despite a significant correlation between K1 obtained from [^{11}C]acetate and [^{15}O]H $_2$ O, the 1.87 ratio between water and acetate K1 values can only be attributed to the renal extraction fraction of [^{11}C]acetate. We were able to estimate the renal extraction fraction of [^{11}C]acetate in humans to be around 53%, as compared to 20 to 25% in dogs. This result is notable because it allows to position [^{11}C]acetate as a 1st line PET tracer for renal perfusion evaluation, providing quantitative measurements. Renal perfusion measurements obtained from [^{11}C]acetate data were in line with previously published data in healthy subjects (18), reinforcing the validation of [^{11}C]acetate as a renal perfusion tracer.

This study has some limitations. First, it has been conducted in healthy subjects while both K1 and k2 are reduced in renal disease and renal artery stenosis (6), potentially limiting the applicability of our results to CKD patients. Second, we chose to compare renal perfusion obtained from [^{15}O]H $_2$ O and [^{11}C]acetate from baseline evaluations only, because renal perfusion shows an important variability depending on study conditions. At baseline, our subjects were resting for more than 30 minutes, after an overnight fast, after a 48 hours low- protein diet to increase their comparability while post- protein loads evaluation conditions are less reproducible. Third, net renal uptake of [^{11}C]acetate during the first 1 to 3 minutes interval is dependent on tracer delivery and first- pass extraction of this tracer by the kidney, but the first-pass extraction probably varies inversely with flow rate as demonstrated in heart studies (19). We did not measure the first- pass extraction but the close correlation between net [^{11}C]acetate uptake and renal blood flow using [^{15}O]H $_2$ O, suggests that at baseline, the extraction fraction of [^{11}C]acetate does not vary enough to preclude this approach for indirectly assessing renal blood flow.

Advances in Knowledge and Implications for patient Care

We demonstrated that with a single injection of [^{11}C]acetate both renal oxidative metabolism and renal perfusion can be simultaneously assessed using a mono compartmental model, reducing patient irradiation, cost and study time and allowing a global evaluation of renal performances.

Financial disclosure

The authors declare that no conflict of interest exists.

Funding

This work was supported by a French national ‘invest for the futur’ program: LILI – Lyon Integrated Life Imaging: hybrid MR-PET ANR-11-EQPX-0026. ZI was supported by a Siemens Healthiness France collaboration program.

Acknowledgments

The authors thank Nans Florens, Elise Mistretta, Jamila Lagha, Véronique Berthier, Frédéric Bonnefoi, Thibaut Iecker, Christian Tourvieille for pertinent advice and technical assistance, Elise Greusard, Sophie Blondeel and Ludovic Lamberet for patient care and imaging; Catherine Cereser, Valérie Plattner, Cécile Riera from the Hospices Civils de Lyon Research Center for their administrative assistance and support.

Key points

In healthy subjects, over a wide range of renal perfusion, direct estimates of renal oxygen consumption can be obtained by PET with a single tracer [^{11}C]acetate.

We were able to estimate the renal extraction fraction of [^{11}C] acetate in humans to be around 53% which allows a quantitative evaluation of renal oxygen consumption after [^{11}C]acetate infusion.

We demonstrated that with a single injection of [^{11}C]acetate both renal oxidative metabolism and renal perfusion can be simultaneously assessed using a mono compartmental model, reducing patient irradiation, cost and study time and allowing a global evaluation of renal performances.

References

1. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004 Sep 23;351(13):1296–305.
2. Rognant N, Guebre-Egziabher F, Bacchetta J, Janier M, Hiba B, Langlois JB, et al. Evolution of renal oxygen content measured by BOLD MRI downstream a chronic renal artery stenosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2011 Apr;26(4):1205–10.
3. Juillard L, Janier MF, Fouque D, Lionnet M, Le Bars D, Cinotti L, et al. Renal blood flow measurement by positron emission tomography using ¹⁵O-labeled water. *Kidney Int*. 2000 Jun;57(6):2511–8.
4. Juillard L, Lemoine S, Janier MF, Barthez PY, Bonnefoi F, Laville M. Validation of renal oxidative metabolism measurement by positron-emission tomography. *Hypertension*. 2007 Jul;50(1):242–7.
5. Chan SY, Brunken RC, Phelps ME, Schelbert HR. Use of the metabolic tracer carbon-11-acetate for evaluation of regional myocardial perfusion. *J Nucl Med*. 1991 Apr;32(4):665–72.
6. Shreve P, Chiao PC, Humes HD, Schwaiger M, Gross MD. Carbon-11-acetate PET imaging in renal disease. *J Nucl Med*. 1995 Sep;36(9):1595–601.
7. Schafer JA, Williams JC. Transport of metabolic substrates by the proximal nephron. *Annu Rev Physiol*. 1985;47:103–25.
8. Normand G, Lemoine S, Villien M, Le Bars D, Merida I, Irace Z, et al. AGE Content of a Protein Load Is Responsible for Renal Performances: A Pilot Study. *Diabetes Care*. 2018;41(6):1292–4.
9. Rousset OG, Ma Y, Evans AC. Correction for partial volume effects in PET: principle and validation. *J Nucl Med*. 1998 May;39(5):904–11.
10. Lartizien C, Kuntner C, Goertzen AL, Evans AC, Reilhac A. Validation of PET-SORTEO Monte Carlo simulations for the geometries of the MicroPET R4 and Focus 220 PET scanners. *Phys Med Biol*. 2007 Aug 21;52(16):4845–62.
11. Juillard L, Janier MF, Fouque D, Lionnet M, Le Bars D, Cinotti L, et al. Renal blood flow measurement by positron emission tomography using ¹⁵O-labeled water. *Kidney Int*. 2000 Jun;57(6):2511–8.
12. Akaike H. Information Theory and an Extension of the Maximum Likelihood Principle. In: Parzen E, Tanabe K, Kitagawa G, editors. *Selected Papers of Hirotugu Akaike* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 1998 [cited 2019 Apr 20]. p. 199–213. (Springer Series in Statistics). Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1694-0_15
13. Ng CK, Huang SC, Schelbert HR, Buxton DB. Validation of a model for [¹⁻¹¹C]acetate as a tracer of cardiac oxidative metabolism. *Am J Physiol*. 1994 Apr;266(4 Pt 2):H1304-1315.
14. Szabo Z, Xia J, Mathews WB, Brown PR. Future direction of renal positron emission tomography. *Semin Nucl Med*. 2006 Jan;36(1):36–50.
15. Alpert NM, Rabito CA, Correia DJA, Babich JW, Littman BH, Tompkins RG, et al. Mapping of local renal blood flow with PET and H(²)(¹⁵O). *J Nucl Med*. 2002 Apr;43(4):470–5.
16. van den Hoff J, Burchert W, Börner AR, Fricke H, Kühnel G, Meyer GJ, et al. [¹⁻¹¹C]Acetate as a quantitative perfusion tracer in myocardial PET. *J Nucl Med*. 2001 Aug;42(8):1174–82.
17. Herrero P, Kim J, Sharp TL, Engelbach JA, Lewis JS, Gropler RJ, et al. Assessment of myocardial blood flow using ¹⁵O-water and ¹⁻¹¹C-acetate in rats with small-animal PET. *J Nucl Med*. 2006 Mar;47(3):477–85.
18. Päivärinta J, Koivuviita N, Oikonen V, Iida H, Liukko K, Manner I, et al. The renal blood flow reserve in healthy humans and patients with atherosclerotic renovascular disease measured by positron emission tomography using [¹⁵O]H₂O. *EJNMMI Res*. 2018 Jun 11;8(1):45.
19. Brown MA, Myears DW, Bergmann SR. Validity of estimates of myocardial oxidative metabolism with carbon-11 acetate and positron emission tomography despite altered patterns of substrate utilization. *J Nucl Med*. 1989 Feb;30(2):187–93.

Figures legends

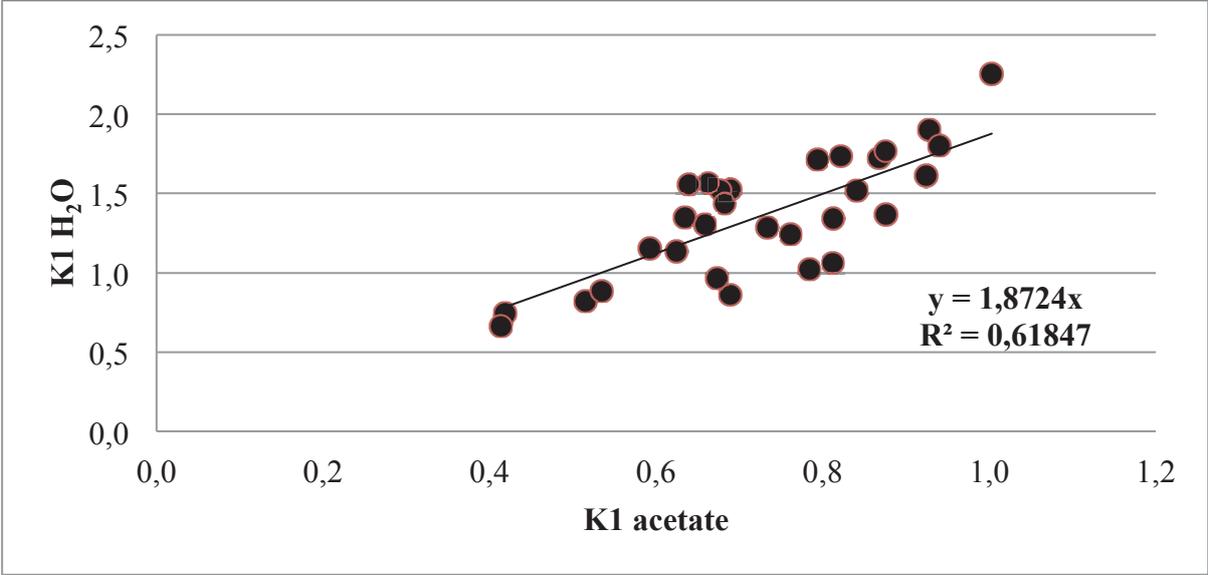
Figure 1- Correlation between ^{11}C Acetate and ^{15}O water renal baseline perfusion

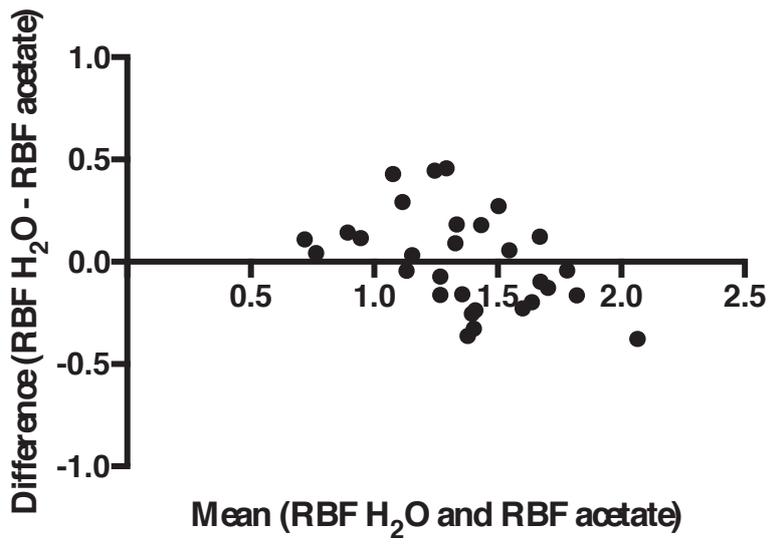
Figure 2- Bland and Altman plot. Evaluation of the agreement between $^{15}\text{O}\text{-H}_2\text{O}$ and $^{11}\text{C}\text{-Acetate}$ data sets.

Tables

Table 1: Reproducibility parameters

		Typical error	ICC
Acquisitions	Baseline		
¹⁵ O- H ₂ O	1.36 ± 0.38	0.34	0.26
¹¹ C- Acetate	1.36 ± 0.28	0.12	0.42
¹⁵ O- H ₂ O vs ¹¹ C- Acetate	-	0.17	0.75





2.3 Conclusion

Ce travail a permis de démontrer que l'acétate peut être utilisé comme marqueur de perfusion rénale, en plus d'être un marqueur de métabolisme oxydatif. La forte corrélation entre les mesures de perfusion obtenues en eau et en acétate marqués à 15 minutes d'intervalle, au repos, permet de conclure que l'acétate est un marqueur de perfusion rénale comme cela avait été montré pour le cœur. La modélisation du comportement de l'acétate dans le rein a également permis de démontrer, qu'à l'inverse du cœur, un modèle mono compartimental est suffisant en l'absence de pool de glutamate dans le rein (32). Par ailleurs, à l'inverse de l'eau qui est librement diffusible avec un coefficient d'extraction tissulaire rénal de l'ordre de 100%, l'acétate n'est extrait qu'en partie du compartiment vasculaire à chaque passage. Ce coefficient d'extraction est connu chez le chien, de l'ordre de 20 à 25% (33) mais inconnu chez l'homme. Or la détermination de la perfusion rénale de manière quantitative nécessite de connaître ce coefficient ($rRBF = K1 \times 1/\text{single-pass renal extraction fraction of acetate}$) (33). La corrélation entre les valeurs d'acétate et d'eau a permis d'extraire un coefficient de 0.534 (1/1.87) qui correspond au coefficient d'extraction tissulaire rénale d'acétate après correction de l'ensemble des facteurs confondants et notamment après correction de l'effet de volume partiel. La correction de l'effet de volume partiel a été réalisée pour chaque passage et chaque traceur afin d'être sûr de contrôler ce facteur confondant. Après correction de l'effet de volume partiel, le rapport de 1/1.87 entre les valeurs obtenues en $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$ et en $^{11}\text{C-acetate}$ est donc lié au coefficient d'extraction rénal de l'acétate qui n'était jusqu'alors pas connu. La connaissance de ce coefficient permet d'obtenir une évaluation quantitative de la perfusion rénale à partir des données d' $^{11}\text{C-acetate}$ afin de favoriser le recours à cette technique en pratique clinique. Cette étude a des limites : les valeurs obtenues ne l'ont été que chez des sujets sains alors que les valeurs de $K1$ et $k2$ sont réduites en cas d'insuffisance rénale chronique (33). Par ailleurs, nous n'avons

pas mesuré le coefficient d'extraction tissulaire de l'acétate mais l'avons déduit après avoir contrôlé l'ensemble des facteurs confondants : les ROI étaient les mêmes entre les études en $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$ et en $^{11}\text{C-acetate}$, et les temps d'étude étaient proches, seulement espacés de 15 min chez des sujets au repos, à jeun, limitant le risque de modification de la perfusion rénale entre les deux acquisitions. Enfin, la correction de l'effet de volume partiel a été effectuée pour chaque passage et chaque traceur afin de s'assurer que la différence observée ne pouvait être liée qu'à la différence d'extraction tissulaire du traceur.

En conclusion, nous avons démontré que l' $^{11}\text{C-acetate}$ était un marqueur de perfusion rénale. Une seule injection d' $^{11}\text{C-acetate}$ permet d'obtenir deux informations fondamentales pour décrire la réponse rénale à différentes interventions : la perfusion et le métabolisme oxydatif, afin de réduire l'irradiation, le coût et le temps de cet examen et favoriser son utilisation en pratique clinique.

Références bibliographiques

1. Bankir L, Bouby N, Trinh-Trang-Tan MM. Renal circulation. Organization of the medullary circulation: functional implications. *Nephrology*. 1984;
2. Kriz W, Sakai T. Morphological aspects of glomerular function. *Nephrology*. 1988;
3. Thureau K, Schnermann. The juxtaglomerular apparatus. *Kidney International*. 1982;
4. Cotran RS. New roles for endothelium in inflammation and immunity. *American Journal of Pathology*. 1987;
5. Courtoy PJ, Timpl R, Farqhar MG. Comparative distribution of laminin, type IV collagen and fibronectin in the rat glomerulus. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1982;
6. Drenckhahn D, Schnitter H, Nobiling R, Kriz W. Ultrastructural organization of contractile proteins in rat glomerular mesangial cells. *American Journal of Pathology*. 1990;
7. Mancilla-Jimenez R, Bellon B, Kuhn J, Belair MF, Rouchon M, Druet P, et al. Phagocytosis of heat-aggregated immunoglobulines by mesangial cells. An immunoperoxidase and acid phosphatase study. *Laboratory Investigations*. 1982;
8. Arendshorst WJ, Gottschalk CV. Glomerular ultrafiltration dynamics: historical perspective. *American Journal of Physiology*. 1985;
9. Hall JE. Regulation of renal hemodynamics. *Cardiovascular Physiology*. 1982;
10. Robertson CR, Deen W, Troy JL, Brenner BM. Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat. *American Journal of Physiology*. 1972;
11. Brenner BM, Baylis C, Deen W. Transport of molecules across renal glomerular capillaries. *Physiol Rev*. 1976;
12. Briggs J. Simple steady state model for feedback control of glomerular filtration rate. *Kidney International*. 1982;
13. Harrison-Bernard LM. The renal renin-angiotensin system. *Adv Physiol Educ*. 2009 Dec 1;33(4):270–4.
14. Dworkin LD, Ichikawa I, Brenner BM. Hormonal modulation of glomerular function. *American Journal of Physiology*. 1983;
15. Schor N, Ichikawa I, Brenner BM. Mechanisms of action of various hormones and vasoactive substances on glomerular ultrafiltration in the rat. *Kidney International*. 1981;
16. Henrich WL, Berl T, McDonald KM, Anderson RJ, Schrier RW. Angiotensin II, renal nerves, and prostaglandins in renal hemodynamics during hemorrhage. *American Journal of Physiology*. 1978;
17. Juillard L, Lemoine S, Janier MF, Barthez PY, Bonnefoi F, Laville M. Validation of renal oxidative metabolism measurement by positron-emission tomography. *Hypertension*. 2007 Jul;50(1):242–7.
18. Lemoine S, Papillard M, Belloi A, Rognant N, Fouque D, Laville M, et al. Renal perfusion: noninvasive measurement with multidetector CT versus fluorescent microspheres in a pig model. *Radiology*. 2011 Aug;260(2):414–20.
19. Juillard L, Janier MF, Fouque D, Lionnet M, Le Bars D, Cinotti L, et al. Renal blood flow measurement by positron emission tomography using 15O-labeled water. *Kidney Int*. 2000 Jun;57(6):2511–8.
20. Rognant N, Guebre-Egziabher F, Bacchetta J, Janier M, Hiba B, Langlois JB, et al. Evolution of renal oxygen content measured by BOLD MRI downstream a chronic renal artery stenosis. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2011 Apr;26(4):1205–10.
21. Juillard L, Janier MF, Fouque D, Cinotti L, Maakel N, Le Bars D, et al. Dynamic renal blood flow measurement by positron emission tomography in patients with CRF. *Am J Kidney*

- Dis Off J Natl Kidney Found. 2002 Nov;40(5):947–54.
22. Juillard L, Lerman LO, Kruger DG, Haas JA, Rucker BC, Polzin JA, et al. Blood oxygen level-dependent measurement of acute intra-renal ischemia. *Kidney Int.* 2004 Mar;65(3):944–50.
 23. Evans RG, Gardiner BS, Smith DW, O'Connor PM. Intrarenal oxygenation: unique challenges and the biophysical basis of homeostasis. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008 Nov;295(5):F1259-1270.
 24. Brezis M, Rosen S. Hypoxia of the renal medulla--its implications for disease. *N Engl J Med.* 1995 Mar 9;332(10):647–55.
 25. Kudomi N, Koivuviita N, Liukko KE, Oikonen VJ, Tolvanen T, Iida H, et al. Parametric renal blood flow imaging using [15O]H₂O and PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2009 Apr;36(4):683–91.
 26. Alpert NM, Rabito CA, Correia DJA, Babich JW, Littman BH, Tompkins RG, et al. Mapping of local renal blood flow with PET and H(2)(15)O. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* 2002 Apr;43(4):470–5.
 27. Soltoff SP. ATP and the regulation of renal cell function. *Annu Rev Physiol.* 1986;48:9–31.
 28. Lassen UV, Thaysen JH. Correlation between sodium transport and oxygen consumption in isolated renal tissue. *Biochim Biophys Acta.* 1961 Mar 4;47:616–8.
 29. Kiil F, Aukland K, Refsum HE. Renal sodium transport and oxygen consumption. *Am J Physiol.* 1961 Sep;201:511–6.
 30. Kiil F, Aukland K, Refsum HE. Renal sodium transport and oxygen consumption. *Am J Physiol.* 1961 Sep;201:511–6.
 31. Chan SY, Brunken RC, Phelps ME, Schelbert HR. Use of the metabolic tracer carbon-11-acetate for evaluation of regional myocardial perfusion. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* 1991 Apr;32(4):665–72.
 32. Ng CK, Huang SC, Schelbert HR, Buxton DB. Validation of a model for [1-11C]acetate as a tracer of cardiac oxidative metabolism. *Am J Physiol.* 1994 Apr;266(4 Pt 2):H1304-1315.
 33. Shreve P, Chiao PC, Humes HD, Schwaiger M, Gross MD. Carbon-11-acetate PET imaging in renal disease. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* 1995 Sep;36(9):1595–601.
 34. Li L-P, Tan H, Thacker JM, Li W, Zhou Y, Kohn O, et al. Evaluation of Renal Blood Flow in Chronic Kidney Disease Using Arterial Spin Labeling Perfusion Magnetic Resonance Imaging. *Kidney Int Rep.* 2017 Jan;2(1):36–43.
 35. Martirosian P, Klose U, Mader I, Schick F. FAIR true-FISP perfusion imaging of the kidneys. *Magn Reson Med.* 2004 Feb;51(2):353–61.
 36. Prasad PV, Kim D, Kaiser AM, Chavez D, Gladstone S, Li W, et al. Noninvasive comprehensive characterization of renal artery stenosis by combination of STAR angiography and EPISTAR perfusion imaging. *Magn Reson Med.* 1997 Nov;38(5):776–87.
 37. Odudu A, Francis ST, McIntyre CW. MRI for the assessment of organ perfusion in patients with chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2012 Nov;21(6):647–54.
 38. Ritt M, Janka R, Schneider MP, Martirosian P, Hornegger J, Bautz W, et al. Measurement of kidney perfusion by magnetic resonance imaging: comparison of MRI with arterial spin labeling to para-aminohippuric acid plasma clearance in male subjects with metabolic syndrome. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2010 Apr;25(4):1126–33.
 39. Artz NS, Wentland AL, Sadowski EA, Djamali A, Grist TM, Seo S, et al. Comparing Kidney Perfusion Using Noncontrast Arterial Spin Labeling MRI and Microsphere Methods in an Interventional Swine Model. *Invest Radiol.* 2011 Feb;46(2):124–31.
 40. Miyata T, de Strihou C van Y. Diabetic nephropathy: a disorder of oxygen metabolism? *Nat Rev Nephrol.* 2010 Feb;6(2):83–95.
 41. Takiyama Y, Haneda M. Hypoxia in diabetic kidneys. *BioMed Res Int.* 2014;2014:837421.

42. Prasad PV, Li L-P, Thacker JM, Li W, Hack B, Kohn O, et al. Cortical Perfusion and Tubular Function as Evaluated by Magnetic Resonance Imaging Correlates with Annual Loss in Renal Function in Moderate Chronic Kidney Disease. *Am J Nephrol*. 2019;49(2):114–24.
43. Sugiyama K, Inoue T, Kozawa E, Ishikawa M, Shimada A, Kobayashi N, et al. Reduced oxygenation but not fibrosis defined by functional magnetic resonance imaging predicts the long-term progression of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2018 Nov 12;
44. Rognant N, Lemoine S, Laville M, Juillard L. [Evaluation of renal oxygen content by BOLD MRI]. *Nephrol Ther*. 2012 Jul;8(4):212–5.
45. Simon-Zoula SC, Hofmann L, Giger A, Vogt B, Vock P, Frey FJ, et al. Non-invasive monitoring of renal oxygenation using BOLD-MRI: a reproducibility study. *NMR Biomed*. 2006 Feb;19(1):84–9.
46. Piskunowicz M, Hofmann L, Zuercher E, Bassi I, Milani B, Stuber M, et al. A new technique with high reproducibility to estimate renal oxygenation using BOLD-MRI in chronic kidney disease. *Magn Reson Imaging*. 2015 Apr;33(3):253–61.
47. Pedersen M, Dissing TH, Mørkenborg J, Stødkilde-Jørgensen H, Hansen LH, Pedersen LB, et al. Validation of quantitative BOLD MRI measurements in kidney: application to unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int*. 2005 Jun;67(6):2305–12.
- 48
.
- Brezis M, Rosen S. Hypoxia of the renal medulla--its implications for disease. *N Engl J Med*. 1995 Mar 9;332(10):647–55.
49. Gloviczki ML, Glockner JF, Lerman LO, McKusick MA, Misra S, Grande JP, et al. Preserved oxygenation despite reduced blood flow in poststenotic kidneys in human atherosclerotic renal artery stenosis. *Hypertens Dallas Tex 1979*. 2010 Apr;55(4):961–6.
50. Zhang JL, Morrell G, Rusinek H, Warner L, Vivier P-H, Cheung AK, et al. Measurement of renal tissue oxygenation with blood oxygen level-dependent MRI and oxygen transit modeling. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2014 Mar 15;306(6):F579–587.
51. Pruijm M, Mendichovszky IA, Liss P, Van der Niepen P, Textor SC, Lerman LO, et al. Renal blood oxygenation level-dependent magnetic resonance imaging to measure renal tissue oxygenation: a statement paper and systematic review. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2018 Sep 1;33(suppl_2):ii22–8.
52. Prasad PV, Epstein FH. Changes in renal medullary pO₂ during water diuresis as evaluated by blood oxygenation level-dependent magnetic resonance imaging: effects of aging and cyclooxygenase inhibition. *Kidney Int*. 1999 Jan;55(1):294–8.
53. Ebrahimi B, Gloviczki M, Woollard JR, Crane JA, Textor SC, Lerman LO. Compartmental analysis of renal BOLD MRI data: introduction and validation. *Invest Radiol*. 2012 Mar;47(3):175–82.
- 54
.
- Journée Mondiale du Rein [Internet]. [cited 2016 Oct 20]. Available from: <http://www.fondation-du-rein.org/journee-mondiale-du-rein.html>
55. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004 Sep 23;351(13):1296–305.
56. Perlman RL, Finkelstein FO, Liu L, Roys E, Kiser M, Eisele G, et al. Quality of life in chronic kidney disease (CKD): a cross-sectional analysis in the Renal Research Institute-CKD study. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2005 Apr;45(4):658–66.
57. de Vries EF, Rabelink TJ, van den Hout WB. Modelling the Cost-Effectiveness of Delaying End-Stage Renal Disease. *Nephron*. 2016;133(2):89–97.
58. Appel LJ, Wright JT, Greene T, Agodoa LY, Astor BC, Bakris GL, et al. Intensive blood-pressure control in hypertensive chronic kidney disease. *N Engl J Med*. 2010 Sep 2;363(10):918–

- 29.
59. Peterson JC, Adler S, Burkart JM, Greene T, Hebert LA, Hunsicker LG, et al. Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease. The Modification of Diet in Renal Disease Study. *Ann Intern Med.* 1995 Nov 15;123(10):754–62.
60. Ku E, Gassman J, Appel LJ, Smogorzewski M, Sarnak MJ, Glidden DV, et al. BP Control and Long-Term Risk of ESRD and Mortality. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2017;28(2):671–7.
61. SPRINT Research Group, Wright JT, Williamson JD, Whelton PK, Snyder JK, Sink KM, et al. A Randomized Trial of Intensive versus Standard Blood-Pressure Control. *N Engl J Med.* 2015 Nov 26;373(22):2103–16.
62. Williams B, Mancia G, Spiering W, Rosei EA, Azizi M, Burnier M, et al. [2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension]. *Kardiol Pol.* 2019;77(2):71–159.
63. Zucchelli P, Zuccala A. Mechanisms of progression, the role of vascular injury/ sclerosis in prevention of progressive chronic renal failure. Oxford University Press. 1993;
64. Tracy RE, Velez-Duran M, Heigle T, Oalman MC. Two variants of nephrosclerosis separately related to age and blood pressure. *Am J Pathol.* 1988 May;131(2):270–82.
65. Helmchen U, wenzel U. Benign and malignant nephrosclerosis and renovascular disease. 1994;
66. Cortes P, Riser BL, Yee J, Narins RG. Mechanical strain of glomerular mesangial cells in the pathogenesis of glomerulosclerosis: clinical implications. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 1999 Jun;14(6):1351–4.
67. Shankland SJ, Ly H, Thai K, Scholey JW. Increased glomerular capillary pressure alters glomerular cytokine expression. *Circ Res.* 1994 Nov;75(5):844–53.
68. Yasuda T, Kondo S, Homma T, Harris RC. Regulation of extracellular matrix by mechanical stress in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest.* 1996 Nov 1;98(9):1991–2000.
69. Eitner F, Bücher E, van Roeyen C, Kunter U, Rong S, Seikrit C, et al. PDGF-C is a proinflammatory cytokine that mediates renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2008 Feb;19(2):281–9.
70. Gaedeke J, Noble NA, Border WA. Curcumin blocks multiple sites of the TGF-beta signaling cascade in renal cells. *Kidney Int.* 2004 Jul;66(1):112–20.
71. Brewster UC, Perazella MA. The renin-angiotensin-aldosterone system and the kidney: effects on kidney disease. *Am J Med.* 2004 Feb 15;116(4):263–72.
72. al AK et. Effect of ramipril, nifedipine, and moxonidine on glomerular morphology and podocyte structure in experimental renal failure. - PubMed - NCBI [Internet]. [cited 2019 Apr 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Effect+of+ramipril%2C+nifedipine%2C+and+moxonidine+on+glomerular+morphology+and+podocyte+structure+in+experimental+renal+failure>
73. Hill GS, Heudes D, Jacquot C, Gauthier E, Bariéty J. Morphometric evidence for impairment of renal autoregulation in advanced essential hypertension. *Kidney Int.* 2006 Mar;69(5):823–31.
74. Hill GS, Heudes D, Bariéty J. Morphometric study of arterioles and glomeruli in the aging kidney suggests focal loss of autoregulation. *Kidney Int.* 2003 Mar;63(3):1027–36.
75. Marcantoni C, Fogo AB. A perspective on arterionephrosclerosis: from pathology to potential pathogenesis. *J Nephrol.* 2007 Oct;20(5):518–24.
76. Burton C, Harris KP. The role of proteinuria in the progression of chronic renal failure. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1996 Jun;27(6):765–75.
77. Eddy AA, McCulloch L, Liu E, Adams J. A relationship between proteinuria and acute tubulointerstitial disease in rats with experimental nephrotic syndrome. *Am J Pathol.* 1991 May;138(5):1111–23.
78. Benigni A, Corna D, Zoja C, Longaretti L, Gagliardini E, Perico N, et al. Targeted deletion of angiotensin II type 1A receptor does not protect mice from progressive nephropathy of overload

proteinuria. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2004 Oct;15(10):2666–74.

79. Hirschberg R, Wang S. Proteinuria and growth factors in the development of tubulointerstitial injury and scarring in kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2005 Jan;14(1):43–52.

80. Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI). K/DOQI clinical practice guidelines on hypertension and antihypertensive agents in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2004 May;43(5 Suppl 1):S1-290.

81. Sarafidis PA, Khosla N, Bakris GL. Antihypertensive therapy in the presence of proteinuria. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2007 Jan;49(1):12–26.

82. Wang Y, Chen J, Chen L, Tay YC, Rangan GK, Harris DC. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in proximal tubule cells by urinary protein. *J Am Soc Nephrol JASN*. 1997 Oct;8(10):1537–45.

83. Hebert LA, Agarwal G, Sedmak DD, Mahan JD, Becker W, Nagaraja HN. Proximal tubular epithelial hyperplasia in patients with chronic glomerular proteinuria. *Kidney Int*. 2000 May;57(5):1962–7.

84. Birn H, Fyfe JC, Jacobsen C, Mounier F, Verroust PJ, Orskov H, et al. Cubilin is an albumin binding protein important for renal tubular albumin reabsorption. *J Clin Invest*. 2000 May;105(10):1353–61.

85. Arici M, Chana R, Lewington A, Brown J, Brunskill NJ. Stimulation of proximal tubular cell apoptosis by albumin-bound fatty acids mediated by peroxisome proliferator activated receptor-gamma. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2003 Jan;14(1):17–27.

86. Troyanov S, Wall CA, Miller JA, Scholey JW, Cattran DC, Toronto Glomerulonephritis Registry Group. Idiopathic membranous nephropathy: definition and relevance of a partial remission. *Kidney Int*. 2004 Sep;66(3):1199–205.

87. ONTARGET Investigators, Yusuf S, Teo KK, Pogue J, Dyal L, Copland I, et al. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med*. 2008 Apr 10;358(15):1547–59.

88

Anderson AH, Yang W, Townsend RR, Pan Q, Chertow GM, Kusek JW, et al. Time-updated systolic blood pressure and the progression of chronic kidney disease: a cohort study. *Ann Intern Med*. 2015 Feb 17;162(4):258–65.

89. Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, Landa M, Maschio G, de Jong PE, et al. Progression of chronic kidney disease: the role of blood pressure control, proteinuria, and angiotensin-converting enzyme inhibition: a patient-level meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2003 Aug 19;139(4):244–52.

90. Remuzzi A, Peticucci E, Ruggenti P, Mosconi L, Limonta M, Remuzzi G. Angiotensin converting enzyme inhibition improves glomerular size-selectivity in IgA nephropathy. *Kidney*

Int. 1991 Jun;39(6):1267–73.

91. Remuzzi A, Puntorieri S, Battaglia C, Bertani T, Remuzzi G. Angiotensin converting enzyme inhibition ameliorates glomerular filtration of macromolecules and water and lessens glomerular injury in the rat. *J Clin Invest.* 1990 Feb;85(2):541–9.
92. Gansevoort RT, de Zeeuw D, de Jong PE. Dissociation between the course of the hemodynamic and antiproteinuric effects of angiotensin I converting enzyme inhibition. *Kidney Int.* 1993 Sep;44(3):579–84.
93. Heeg JE, de Jong PE, van der Hem GK, de Zeeuw D. Angiotensin II does not acutely reverse the reduction of proteinuria by long-term ACE inhibition. *Kidney Int.* 1991 Oct;40(4):734–41.
94. Ziyadeh FN, Wolf G. Pathogenesis of the podocytopathy and proteinuria in diabetic glomerulopathy. *Curr Diabetes Rev.* 2008 Feb;4(1):39–45.
95. Langham RG, Kelly DJ, Cox AJ, Thomson NM, Holthöfer H, Zaoui P, et al. Proteinuria and the expression of the podocyte slit diaphragm protein, nephrin, in diabetic nephropathy: effects of angiotensin converting enzyme inhibition. *Diabetologia.* 2002 Nov;45(11):1572–6.
96. Ong AC, Fine LG. Loss of glomerular function and tubulointerstitial fibrosis: cause or effect? *Kidney Int.* 1994 Feb;45(2):345–51.
97. Nath KA. Tubulointerstitial changes as a major determinant in the progression of renal damage. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1992 Jul;20(1):1–17.
98. D’Amico G. Influence of clinical and histological features on actuarial renal survival in adult patients with idiopathic IgA nephropathy, membranous nephropathy, and membranoproliferative glomerulonephritis: survey of the recent literature. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1992 Oct;20(4):315–23.
99. Alexopoulos E, Seron D, Hartley RB, Cameron JS. Lupus nephritis: correlation of interstitial cells with glomerular function. *Kidney Int.* 1990 Jan;37(1):100–9.
100. Bajema IM, Hagen EC, Hermans J, Noël LH, Waldherr R, Ferrario F, et al. Kidney biopsy as a predictor for renal outcome in ANCA-associated necrotizing glomerulonephritis. *Kidney Int.* 1999 Nov;56(5):1751–8.

101.

Meyer TW. Tubular injury in glomerular disease. *Kidney Int.* 2003 Feb;63(2):774–87.

102. Zeisberg M, Neilson EG. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2010 Nov;21(11):1819–34.
103. Loghman-Adham M. Role of phosphate retention in the progression of renal failure. *J Lab Clin Med.* 1993 Jul;122(1):16–26.
104. Lan HY, Paterson DJ, Atkins RC. Initiation and evolution of interstitial leukocytic infiltration in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int.* 1991 Sep;40(3):425–33.
105. Nath KA. The tubulointerstitium in progressive renal disease. *Kidney Int.* 1998 Sep;54(3):992–4.

106. Liu Y. Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics. *Kidney Int.* 2006 Jan;69(2):213–7.
107. Mahajan D, Wang Y, Qin X, Wang Y, Zheng G, Wang YM, et al. CD4+CD25+ regulatory T cells protect against injury in an innate murine model of chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2006 Oct;17(10):2731–41.
108. Sakai N, Wada T, Yokoyama H, Lipp M, Ueha S, Matsushima K, et al. Secondary lymphoid tissue chemokine (SLC/CCL21)/CCR7 signaling regulates fibrocytes in renal fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Sep 19;103(38):14098–103.
109. Kie J-H, Kapturczak MH, Traylor A, Agarwal A, Hill-Kapturczak N. Heme oxygenase-1 deficiency promotes epithelial-mesenchymal transition and renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2008 Sep;19(9):1681–91.
110. Yang L, Besschetnova TY, Brooks CR, Shah JV, Bonventre JV. Epithelial cell cycle arrest in G2/M mediates kidney fibrosis after injury. *Nat Med.* 2010 May;16(5):535–43, 1p following 143.
111. Ruiz-Ortega M, Rupérez M, Esteban V, Rodríguez-Vita J, Sánchez-López E, Carvajal G, et al. Angiotensin II: a key factor in the inflammatory and fibrotic response in kidney diseases. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2006 Jan;21(1):16–20.
112. Crowley SD, Vasievich MP, Ruiz P, Gould SK, Parsons KK, Pazmino AK, et al. Glomerular type 1 angiotensin receptors augment kidney injury and inflammation in murine autoimmune nephritis. *J Clin Invest.* 2009 Apr;119(4):943–53.
113. Aros C, Remuzzi G. The renin-angiotensin system in progression, remission and regression of chronic nephropathies. *J Hypertens Suppl Off J Int Soc Hypertens.* 2002 Jun;20(3):S45-53.
114. Kaimori J-Y, Isaka Y, Hatanaka M, Yamamoto S, Ichimaru N, Fujikawa A, et al. Diffusion Tensor Imaging MRI With Spin-Echo Sequence and Long-Duration Measurement for Evaluation of Renal Fibrosis in a Rat Fibrosis Model. *Transplant Proc.* 2017 Feb;49(1):145–52.
115. Hueper K, Schmidbauer M, Thorenz A, Bräsen JH, Gutberlet M, Mengel M, et al. Longitudinal evaluation of perfusion changes in acute and chronic renal allograft rejection using arterial spin labeling in translational mouse models. *J Magn Reson Imaging JMRI.* 2017;46(6):1664–72.
116. Berchtold L, Friedli I, Crowe LA, Martinez C, Moll S, Hadaya K, et al. Validation of the corticomedullary difference in magnetic resonance imaging-derived apparent diffusion coefficient for kidney fibrosis detection: a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2019 Jan 4;
117. Stevens PE, Levin A, Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group Members. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice

guideline. *Ann Intern Med.* 2013 Jun 4;158(11):825–30.

118. Lawes CMM, Vander Hoorn S, Rodgers A, International Society of Hypertension. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet Lond Engl.* 2008 May 3;371(9623):1513–8.

119. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R, Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet Lond Engl.* 2002 Dec 14;360(9349):1903–13.

120. Lloyd-Jones DM, Hong Y, Labarthe D, Mozaffarian D, Appel LJ, Van Horn L, et al. Defining and setting national goals for cardiovascular health promotion and disease reduction: the American Heart Association’s strategic Impact Goal through 2020 and beyond. *Circulation.* 2010 Feb 2;121(4):586–613.

121. Appel LJ, Brands MW, Daniels SR, Karanja N, Elmer PJ, Sacks FM, et al. Dietary approaches to prevent and treat hypertension: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertens Dallas Tex 1979.* 2006 Feb;47(2):296–308.

122. He FJ, MacGregor GA. Importance of salt in determining blood pressure in children: meta-analysis of controlled trials. *Hypertens Dallas Tex 1979.* 2006 Nov;48(5):861–9.

123. Whelton PK, Appel LJ, Espeland MA, Applegate WB, Ettinger WH, Kostis JB, et al. Sodium reduction and weight loss in the treatment of hypertension in older persons: a randomized controlled trial of nonpharmacologic interventions in the elderly (TONE). TONE Collaborative Research Group. *JAMA.* 1998 Mar 18;279(11):839–46.

124. Graudal NA, Hubeck-Graudal T, Jurgens G. Effects of low sodium diet versus high sodium diet on blood pressure, renin, aldosterone, catecholamines, cholesterol, and triglyceride. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 09;4:CD004022.

125. Mozaffarian D, Fahimi S, Singh GM, Micha R, Khatibzadeh S, Engell RE, et al. Global sodium consumption and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med.* 2014 Aug 14;371(7):624–34.

126. Vollmer WM, Sacks FM, Ard J, Appel LJ, Bray GA, Simons-Morton DG, et al. Effects of diet and sodium intake on blood pressure: subgroup analysis of the DASH-sodium trial. *Ann Intern Med.* 2001 Dec 18;135(12):1019–28.

127. Johnson RJ, Herrera-Acosta J, Schreiner GF, Rodriguez-Iturbe B. Subtle acquired renal injury as a mechanism of salt-sensitive hypertension. *N Engl J Med.* 2002 Mar 21;346(12):913–23.

128. Eljovich F, Weinberger MH, Anderson CAM, Appel LJ, Bursztyrn M, Cook NR, et al. Salt Sensitivity of Blood Pressure: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Hypertens Dallas Tex 1979.* 2016;68(3):e7–46.

129. Slagman MCJ, Waanders F, Hemmelder MH, Woittiez A-J, Janssen WMT, Lambers Heerspink HJ, et al. Moderate dietary sodium restriction added to angiotensin converting enzyme inhibition compared with dual blockade in lowering proteinuria and blood pressure: randomised controlled trial. *BMJ.* 2011 Jul 26;343:d4366.

130. Wright JA, Cavanaugh KL. Dietary sodium in chronic kidney disease: a comprehensive approach. *Semin Dial.* 2010 Aug;23(4):415–21.

131. Read “Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate” at NAP.edu [Internet]. [cited 2019 Mar 27]. Available from: <https://www.nap.edu/read/10925/chapter/1>

132. Dahl LK. Salt and hypertension. *Am J Clin Nutr.* 1972 Feb;25(2):231–44.

133. Schor N, Ichikawa I, Brenner BM. Glomerular adaptations to chronic dietary salt restriction or excess. *American Journal of Physiology.* 1980;

134. Tucker BJ, Blantz RC. Mechanism of altered glomerular hemodynamics during chronic sodium depletion. *American Journal of Physiology.* 1983;

135. Claris-Appiani A, Assael BM, Tirelli AS, Marra G, Cavanna G. Lack of glomerular hemodynamic stimulation after infusion of branched-chain amino acids. *Kidney Int.* 1988 Jan;33(1):91–4.
136. Hahn D, Hodson EM, Fouque D. Low protein diets for non-diabetic adults with chronic kidney disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018 04;10:CD001892.
137. Effects of dietary protein restriction on the progression of moderate renal disease in the Modification of Diet in Renal Disease Study. *J Am Soc Nephrol JASN.* 1996 Dec;7(12):2616–26.
138. Bosch JP, Saccaggi A, Lauer A, Ronco C, Belledonne M, Glabman S. Renal functional reserve in humans. Effect of protein intake on glomerular filtration rate. *Am J Med.* 1983 Dec;75(6):943–50.
139. Kalantar-Zadeh K, Fouque D. Nutritional Management of Chronic Kidney Disease. *N Engl J Med.* 2017 Nov 2;377(18):1765–76.
140. Smith HW, Shannon J. A. J N. The excretion of Urine in the dog. The effects of xylose and sucrose upon the glomerular and urea clearances. *Am J Physiol.* 1932;(101):639.
141. Premen AJ. Potential mechanisms mediating postprandial renal hyperemia and hyperfiltration. *FASEB J.* 1988 Feb 1;2(2):131–7.
142. Meyer TW, Ichikawa I, Zatz R, Brenner BM. The renal hemodynamic response to amino acid infusion in the rat. *Trans Assoc Am Physicians.* 1983;96:76–83.
143. Brezis M, Silva P, Epstein FH. Amino acids induce renal vasodilatation in isolated perfused kidney: coupling to oxidative metabolism. *Am J Physiol.* 1984 Dec;247(6 Pt 2):H999-1004.
144. Laville M, Hadj-Aissa A, Pozet N, Le Bras JH, Labeeuw M, Zech P. Restrictions on use of creatinine clearance for measurement of renal functional reserve. *Nephron.* 1989;51(2):233–6.
145. Kaufman JM, Siegel NJ, Hayslett JP. Functional and hemodynamic adaptation to progressive renal ablation. *Circ Res.* 1975 Feb;36(2):286–93.
146. Ronco C, Brendolan A, Bragantini L, Chiaramonte S, Fabris A, Feriani M, et al. Renal functional reserve in pregnancy. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 1988;3(2):157–61.
147. Baylis C. The determinants of renal hemodynamics in pregnancy. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1987 Apr;9(4):260–4.
148. Olson JL, Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM, Venkatachalam MA. Altered glomerular permselectivity and progressive sclerosis following extreme ablation of renal mass. *Kidney Int.* 1982 Aug;22(2):112–26.
149. Bouby N, Trinh-Trang-Tan MM, Laouari D, Kleinknecht C, Grünfeld JP, Kriz W, et al. Role of the urinary concentrating process in the renal effects of high protein intake. *Kidney Int.* 1988 Jul;34(1):4–12.
150. Williams AJ, Baker F, Walls J. Effect of varying quantity and quality of dietary protein intake in experimental renal disease in rats. *Nephron.* 1987;46(1):83–90.
151. Goraya N, Simoni J, Jo C, Wesson DE. Dietary acid reduction with fruits and vegetables or bicarbonate attenuates kidney injury in patients with a moderately reduced glomerular filtration rate due to hypertensive nephropathy. *Kidney Int.* 2012 Jan;81(1):86–93.
152. Garneata L, Mircescu G. Effect of low-protein diet supplemented with keto acids on progression of chronic kidney disease. *J Ren Nutr Off J Counc Ren Nutr Natl Kidney Found.* 2013 May;23(3):210–3.
153. Premen AJ. Nature of the renal hemodynamic action of amino acids in dogs. *Am J Physiol.* 1989 Apr;256(4 Pt 2):F516-523.
154. Premen AJ. Protein-mediated elevations in renal hemodynamics: existence of a hepato-renal axis? *Med Hypotheses.* 1986 Mar;19(3):295–309.
155. Brouhard BH, LaGrone LF, Richards GE, Travis LB. Somatostatin limits rise in glomerular filtration rate after a protein meal. *J Pediatr.* 1987 May;110(5):729–34.

156. Premen AJ. Autoregulation of renal hemodynamics is not impaired by a “physiologic” dose of glucagon. *Regul Pept.* 1988 May;21(1–2):57–67.
157. Poulsen EU, Frøkiaer J, Jørgensen TM, Pedersen EB, Rehling M. Renal functional reserve in pigs: renal haemodynamics, renal tubular function and salt and water homeostatic hormones during amino acid and dopamine stimulation. *Clin Physiol Oxf Engl.* 1997 Jan;17(1):57–69.
158. Calam J, Gordon D, Peart WS, Taylor SA, Unwin RJ. Renal effects of gastrin C-terminal tetrapeptide (as pentagastrin) and cholecystokinin octapeptide in conscious rabbit and man. *Br J Pharmacol.* 1987 Jun;91(2):307–14.
159. Farrington K, El Nahas AM, Hilson AJ, Gornacz G, Bloom SR, Moorhead JF. Gut hormones and glomerular hyperfiltration. *Lancet Lond Engl.* 1984 Mar 17;1(8377):636.
160. Seney FD, Wright FS. Dietary protein suppresses feedback control of glomerular filtration in rats. *J Clin Invest.* 1985 Feb;75(2):558–68.
161. Seney FD, Persson EG, Wright FS. Modification of tubuloglomerular feedback signal by dietary protein. *Am J Physiol.* 1987 Jan;252(1 Pt 2):F83–90.
162. Levine MM, Kirschenbaum MA, Chaudhari A, Wong MW, Bricker NS. Effect of protein on glomerular filtration rate and prostanoid synthesis in normal and uremic rats. *Am J Physiol.* 1986 Oct;251(4 Pt 2):F635–641.
163. Ruilope LM, Rodicio J, Garcia Robles R, Sancho J, Miranda B, Granger JP, et al. Influence of a low sodium diet on the renal response to amino acid infusions in humans. *Kidney Int.* 1987 Apr;31(4):992–9.
164. Bhardwaj R, Moore PK. The effect of arginine and nitric oxide on resistance blood vessels of the perfused rat kidney. *Br J Pharmacol.* 1989 Jul;97(3):739–44.
165. Rosenberg ME, Kren SM, Hostetter TH. Effect of dietary protein on the renin-angiotensin system in subtotaly nephrectomized rats. *Kidney Int.* 1990 Aug;38(2):240–8.
166. King AJ, Troy JL, Anderson S, Neuringer JR, Gunning M, Brenner BM. Nitric oxide: a potential mediator of amino acid-induced renal hyperemia and hyperfiltration. *J Am Soc Nephrol JASN.* 1991 Jun;1(12):1271–7.
167. Amiel C, Blanchet F, Friedlander G, Nitenberg A. [The functional renal reserve]. *Néphrologie.* 1991;12(2):55–61.
168. Brouhard BH, LaGrone L. Effect of dietary protein restriction on functional renal reserve in diabetic nephropathy. *Am J Med.* 1990 Oct;89(4):427–31.
169. Klahr S, Buerkert J, Purkerson ML. Role of dietary factors in the progression of chronic renal disease. *Kidney Int.* 1983 Nov;24(5):579–87.
170. Nezu U, Kamiyama H, Kondo Y, Sakuma M, Morimoto T, Ueda S. Effect of low-protein diet on kidney function in diabetic nephropathy: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ Open.* 2013;3(5).
171. Klahr S. The modification of diet in renal disease study. *N Engl J Med.* 1989 Mar 30;320(13):864–6.
172. Uribarri J, Tuttle KR. Advanced glycation end products and nephrotoxicity of high-protein diets. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2006 Nov;1(6):1293–9.
173. Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *J Am Diet Assoc.* 2010 Jun;110(6):911–916.e12.
174. Cai W, Ramdas M, Zhu L, Chen X, Striker GE, Vlassara H. Oral advanced glycation endproducts (AGEs) promote insulin resistance and diabetes by depleting the antioxidant defenses AGE receptor-1 and sirtuin 1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Sep 25;109(39):15888–93.
175. Uribarri J, Cai W, Peppas M, Goodman S, Ferrucci L, Striker G, et al. Circulating glycotoxins and dietary advanced glycation endproducts: two links to inflammatory response, oxidative stress, and aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2007 Apr;62(4):427–33.
176. Vlassara H, Torreggiani M, Post JB, Zheng F, Uribarri J, Striker GE. Role of

- oxidants/inflammation in declining renal function in chronic kidney disease and normal aging. *Kidney Int Suppl.* 2009 Dec;(114):S3-11.
177. Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, et al. Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Jun 10;94(12):6474-9.
178. Uribarri J, Stirban A, Sander D, Cai W, Negrean M, Buenting CE, et al. Single oral challenge by advanced glycation end products acutely impairs endothelial function in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care.* 2007 Oct;30(10):2579-82.
179. Negrean M, Stirban A, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Götting C, et al. Effects of low- and high-advanced glycation endproduct meals on macro- and microvascular endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr.* 2007 May;85(5):1236-43.
180. Stirban A, Kotsi P, Franke K, Strijowski U, Cai W, Götting C, et al. Acute macrovascular dysfunction in patients with type 2 diabetes induced by ingestion of advanced glycated β -lactoglobulins. *Diabetes Care.* 2013 May;36(5):1278-82.
181. Uribarri J, Peppia M, Cai W, Goldberg T, Lu M, He C, et al. Restriction of dietary glycotoxins reduces excessive advanced glycation end products in renal failure patients. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2003 Mar;14(3):728-31.
182. Vlassara H, Uribarri J, Cai W, Goodman S, Pyzik R, Post J, et al. Effects of sevelamer on HbA1c, inflammation, and advanced glycation end products in diabetic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2012 Jun;7(6):934-42.
183. Yubero-Serrano EM, Woodward M, Poretzky L, Vlassara H, Striker GE, AGE-less Study Group. Effects of sevelamer carbonate on advanced glycation end products and antioxidant/pro-oxidant status in patients with diabetic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2015 May 7;10(5):759-66.
184. Cai W, He JC, Zhu L, Chen X, Wallenstein S, Striker GE, et al. Reduced Oxidant Stress and Extended Lifespan in Mice Exposed to a Low Glycotoxin Diet. *Am J Pathol.* 2007 Jun;170(6):1893-902.
185. Debout A, Foucher Y, Trébern-Launay K, Legendre C, Kreis H, Mourad G, et al. Each additional hour of cold ischemia time significantly increases the risk of graft failure and mortality following renal transplantation. *Kidney Int.* 2015 Feb;87(2):343-9.
186. Stokes KY, Abdih HK, Kelly CJ, Redmond HP, Bouchier-Hayes DJ. Thermotolerance attenuates ischemia-reperfusion induced renal injury and increased expression of ICAM-1. *Transplantation.* 1996 Oct 27;62(8):1143-9.
187. Peters TG, Shaver TR, Ames JE, Santiago-Delpin EA, Jones KW, Blanton JW. Cold ischemia and outcome in 17,937 cadaveric kidney transplants. *Transplantation.* 1995 Jan 27;59(2):191-6.
188. Bryan CF, Luger AM, Martinez J, Muruve N, Nelson PW, Pierce GE, et al. Cold ischemia time: an independent predictor of increased HLA class I antibody production after rejection of a primary cadaveric renal allograft. *Transplantation.* 2001 Apr 15;71(7):875-9.
189. Labarrere CA, Pitts D, Nelson DR, Faulk WP. Vascular tissue plasminogen activator and the development of coronary artery disease in heart-transplant recipients. *N Engl J Med.* 1995 Oct 26;333(17):1111-6.
190. Chandraker A, Takada M, Nadeau KC, Peach R, Tilney NL, Sayegh MH. CD28-b7 blockade in organ dysfunction secondary to cold ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int.* 1997 Dec;52(6):1678-84.
191. Abuelo JG. Normotensive ischemic acute renal failure. *N Engl J Med.* 2007 Aug 23;357(8):797-805.
192. Bucaloiu ID, Kirchner HL, Norfolk ER, Hartle JE, Perkins RM. Increased risk of death and de novo chronic kidney disease following reversible acute kidney injury. *Kidney Int.* 2012

Mar;81(5):477–85.

193. Bagshaw SM. Short- and long-term survival after acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2008 Jul;23(7):2126–8.
194. Safian RD, Textor SC. Renal-artery stenosis. *N Engl J Med*. 2001 Feb 8;344(6):431–42.
195. Textor SC, McKusick MA. Renal Artery Stenosis. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2001 Jun;3(3):187–94.
196. Gibson CM, Pinto DS, Murphy SA, Morrow DA, Hobbach HP, Wiviott SD, et al. Association of creatinine and creatinine clearance on presentation in acute myocardial infarction with subsequent mortality. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Nov 5;42(9):1535–43.
197. Ritchie J, Alderson HV, Kalra PA. Where now in the management of renal artery stenosis? Implications of the ASTRAL and CORAL trials. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2014 Nov;23(6):525–32.
198. ASTRAL Investigators, Wheatley K, Ives N, Gray R, Kalra PA, Moss JG, et al. Revascularization versus medical therapy for renal-artery stenosis. *N Engl J Med*. 2009 Nov 12;361(20):1953–62.
199. Bax L, Woittiez A-JJ, Kouwenberg HJ, Mali WPTM, Buskens E, Beek FJA, et al. Stent placement in patients with atherosclerotic renal artery stenosis and impaired renal function: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2009 Jun 16;150(12):840–8, W150-151.
200. Cooper CJ, Murphy TP, Cutlip DE, Jamerson K, Henrich W, Reid DM, et al. Stenting and medical therapy for atherosclerotic renal-artery stenosis. *N Engl J Med*. 2014 Jan 2;370(1):13–22.
201. Kako K, Kato M, Matsuoka T, Mustapha A. Depression of membrane-bound Na⁺-K⁺-ATPase activity induced by free radicals and by ischemia of kidney. *Am J Physiol*. 1988 Feb;254(2 Pt 1):C330-337.
202. Tani M, Neely JR. Role of intracellular Na⁺ in Ca²⁺ overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat hearts. Possible involvement of H⁺-Na⁺ and Na⁺-Ca²⁺ exchange. *Circ Res*. 1989 Oct;65(4):1045–56.
203. Chappell JB, Crofts AR. CALCIUM ION ACCUMULATION AND VOLUME CHANGES OF ISOLATED LIVER MITOCHONDRIA. CALCIUM ION-INDUCED SWELLING. *Biochem J*. 1965 May;95:378–86.
204. Pfeiffer DR, Gunter TE, Eliseev R, Broekemeier KM, Gunter KK. Release of Ca²⁺ from mitochondria via the saturable mechanisms and the permeability transition. *IUBMB Life*. 2001 Nov;52(3–5):205–12.
205. Hunter DR, Haworth RA. The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria. I. The protective mechanisms. *Arch Biochem Biophys*. 1979 Jul;195(2):453–9.
206. Crompton M, Costi A, Hayat L. Evidence for the presence of a reversible Ca²⁺-dependent pore activated by oxidative stress in heart mitochondria. *Biochem J*. 1987 Aug 1;245(3):915–8.
207. Di Lisa F, Bernardi P. A CaPful of mechanisms regulating the mitochondrial permeability transition. *J Mol Cell Cardiol*. 2009 Jun;46(6):775–80.
208. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J*. 1999 Jul 15;341 (Pt 2):233–49.
209. Halestrap AP, McStay GP, Clarke SJ. The permeability transition pore complex: another view. *Biochimie*. 2002 Mar;84(2–3):153–66.
210. Lemoine S, Pillot B, Rognant N, Augeul L, Rayberin M, Varennes A, et al. Postconditioning with cyclosporine a reduces early renal dysfunction by inhibiting mitochondrial permeability transition. *Transplantation*. 2015 Apr;99(4):717–23.
211. Eirin A, Li Z, Zhang X, Krier JD, Woollard JR, Zhu X-Y, et al. A mitochondrial permeability transition pore inhibitor improves renal outcomes after revascularization in experimental atherosclerotic renal artery stenosis. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2012 Nov;60(5):1242–9.
212. Herrmann SMS, Saad A, Eirin A, Woollard J, Tang H, McKusick MA, et al. Differences in

- GFR and Tissue Oxygenation, and Interactions between Stenotic and Contralateral Kidneys in Unilateral Atherosclerotic Renovascular Disease. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2016 Mar 7;11(3):458–69.
213. Cung T-T, Morel O, Cayla G, Rioufol G, Garcia-Dorado D, Angoulvant D, et al. Cyclosporine before PCI in Patients with Acute Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2015 Sep 10;373(11):1021–31.
214. Lin C-C, Chan C-M, Huang Y-P, Hsu S-H, Huang C-L, Tsai S-J. Methylglyoxal Activates NF- κ B Nuclear Translocation and Induces COX-2 Expression via a p38-Dependent Pathway in Synovial Cells. *Life Sci*. 2016 Feb 17;
215. Stahl RA, Kudelka S, Helmchen U. High protein intake stimulates glomerular prostaglandin formation in remnant kidneys. *Am J Physiol*. 1987 Jun;252(6 Pt 2):F1088-1094.
216. Stirban A, Negrean M, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Götting C, et al. Benfotiamine Prevents Macro- and Microvascular Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress Following a Meal Rich in Advanced Glycation End Products in Individuals With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2006 Sep 1;29(9):2064–71.
217. Layton AT. Recent advances in renal hypoxia: insights from bench experiments and computer simulations. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2016 Jul 1;311(1):F162-165.
218. Chasis H, Ranges HA, Goldring W, Smith HW. THE CONTROL OF RENAL BLOOD FLOW AND GLOMERULAR FILTRATION IN NORMAL MAN. *J Clin Invest*. 1938 Sep;17(5):683–97.
219. Pelikánová T, Smrcková I, Krízová J, Stríbrná J, Lánská V. Effects of insulin and lipid emulsion on renal haemodynamics and renal sodium handling in IDDM patients. *Diabetologia*. 1996 Sep;39(9):1074–82.
220. INRA - Composition en nutriments de l'oeuf : protéines [Internet]. [cited 2016 Dec 30]. Available from: <http://www.inra.fr/Grand-public/Alimentation-et-sante/Tous-les-dossiers/L-oeuf/Composition-en-nutriments-de-l-oeuf-proteines>

CONCLUSION GENERALE

La prévention de la progression de l'IRC dans le monde représente un enjeu de santé publique en raison de la fréquence de survenue de cette maladie en population générale, de l'ordre de 10%. Les mesures de néphroprotection qui ont pour but de ralentir la progression de la maladie sont insuffisamment comprises car insuffisamment étudiées en raison de mécanismes d'action difficilement évaluables en routine. L'imagerie fonctionnelle, et plus particulièrement la TEP-IRM, en permettant une évaluation concomitante de 3 paramètres fonctionnels rénaux fondamentaux pour décrire complètement la réponse rénale à différentes interventions, est un outil de choix pour évaluer ces mesures. En effet, la perfusion, le métabolisme oxydatif et le contenu tissulaire en oxygène n'étant pas corrélés de manière linéaire, il est capital de les décrire de manière concomitante. L'impact des mesures de néphroprotection sur le ralentissement du déclin de fonction rénale est un critère de jugement accepté pour évaluer ces mesures. Cependant ce critère semble insuffisant car il laisse la place à des approximations comme nous l'avons démontré concernant l'impact du contenu en AGE d'une charge protéique sur les paramètres fonctionnels rénaux. La TEP-IRM s'impose ainsi comme un outil nécessaire pour comprendre le mécanisme par lequel ces mesures de néphroprotection sont bénéfiques et, *in fine*, les rendre plus performantes pour prévenir la progression de la maladie rénale chronique.

Mes travaux de thèse se sont attachés à démontrer le potentiel de la technique TEP-IRM pour l'évaluation et l'optimisation de deux mesures de néphroprotection. La TEP-IRM nous a ainsi permis de souligner l'importance du contenu en AGE d'une charge protéique sur la perfusion et le métabolisme oxydatif rénal. Dans le cadre des régimes pauvres en protéine, il semble ainsi justifié de repenser nos conseils diététiques afin d'encourager une

alimentation pauvre en AGE au-delà d'une alimentation pauvre en protéines afin de ralentir la progression de l'insuffisance rénale chronique.

De la même manière, la prévention des lésions d'ischémie-reperfusion cardiaques et rénales par un pré conditionnement à la ciclosporine A a été démontrée chez la souris mais ce bénéfice chez l'homme n'a pas encore pu être démontré. Le timing d'injection et la dose de ciclosporine A à injecter afin de bloquer l'ouverture du pore de transition de la mitochondrie au moment de la reperfusion semblent déterminants afin de protéger le rein des lésions de reperfusion. L'étude CICLOSAAR qui est actuellement en cours a pour but d'étudier, grâce à la TEP-IRM, le bénéfice de la CsA perfusée, en continu, une heure avant la reperfusion, sur les paramètres fonctionnels rénaux, de manière non invasive, chez l'homme. L'étude concomitante de la perfusion, du métabolisme et du contenu tissulaire en oxygène sur rein séparé devrait nous permettre d'améliorer notre compréhension des mécanismes physiopathologiques à l'œuvre après dilatation d'une sténose de l'artère rénale afin d'optimiser la prise en charge de cette cause fréquente d'hypertension artérielle et d'insuffisance rénale chronique.

Dans un second temps, nous avons démontré que l'acétate pouvait être utilisé comme un marqueur de perfusion au-delà d'être un marqueur de métabolisme oxydatif. Nos travaux devraient permettre de renforcer l'applicabilité clinique des techniques TEP en permettant d'obtenir deux informations à l'issue d'une seule injection de traceur : perfusion (K1) et métabolisme oxydatif (k2) pour réduire la durée, le coût et l'irradiation d'un examen. La corrélation entre les mesures obtenues après l'injection d'eau marquée par rapport à celles obtenues en acétate marqué nous a permis d'isoler le coefficient d'extraction rénal de l'acétate, qui n'était jusque-là pas connu. La connaissance de ce coefficient permet d'obtenir une évaluation quantitative de la perfusion rénale à l'issue de l'injection d'acétate, ce qui est fondamental pour promouvoir l'applicabilité clinique de cette technique.

La TEP-IRM est donc un outil fondamental pour étudier les mécanismes qui sous-tendent le bénéfice des mesures de néphroprotection proposées aux patients insuffisants rénaux chroniques afin d'améliorer leur efficacité pour ralentir la progression de la maladie. L'amélioration de la faisabilité de cette technique, par une réduction du coût, de la durée et de l'irradiation grâce à l'utilisation d'un seul traceur pour obtenir la perfusion et le métabolisme oxydatif, devrait permettre de développer l'utilisation de la TEP-IRM pour l'évaluation fonctionnelle rénale en pratique clinique.